



ЖУРНАЛ
БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

ЭКОЛОГИЯ

JOURNAL
OF THE BELARUSIAN STATE UNIVERSITY

ECOLOGY

Издается с сентября 2017 г.
(до 2017 г. – «Экологический вестник»)
Выходит 1 раз в квартал

Published since September, 2017
(until 2017 – «Ecologicheskij Vestnik»)
Issued once a quarter

4

2018

МИНСК
БГУ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор	МАСКЕВИЧ С. А. – доктор физико-математических наук, профессор; Белорусский государственный университет, Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Минск, Беларусь. E-mail: direktor@iseu.by
Заместитель главного редактора	ПОЗНЯК С. С. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор; Белорусский государственный университет, Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Минск, Беларусь. E-mail: pazniak@iseu.by
Ответственный секретарь	ЛЫСУХО Н. А. – кандидат технических наук, доцент; Белорусский государственный университет, Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Минск, Беларусь. E-mail: nlysukha@mail.ru
<i>Батян А. Н.</i>	Белорусский государственный университет, Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Минск, Беларусь.
<i>Герменчук М. Г.</i>	ГНТУ «Центр по ядерной и радиационной безопасности» МЧС Республики Беларусь, Минск, Беларусь.
<i>Голубев А. П.</i>	Белорусский государственный университет, Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Минск, Беларусь.
<i>Головатый С. Е.</i>	Белорусский государственный университет, Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Минск, Беларусь.
<i>Гричик В. В.</i>	Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.
<i>Дардынская И. В.</i>	Центр всемирного здоровья «Великие озера», Чикаго, США.
<i>Зафранская М. М.</i>	Белорусский государственный университет, Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Минск, Беларусь.
<i>Кильчевский А. В.</i>	Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь.
<i>Коровин Ю. А.</i>	Обнинский институт атомной энергетики – Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Обнинск, Россия.
<i>Ленгфельдер Э.</i>	Радиологический институт здоровья и окружающей среды имени Отто Хуга, Мюнхен, Германия.
<i>Либератос Г.</i>	Афинский технический университет, Афины, Греция.
<i>Логинов В. Ф.</i>	Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь.
<i>Медведев С. В.</i>	ГНУ «Объединенный институт проблем информатики» Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь.
<i>Степанов С. А.</i>	Международный независимый эколого-политологический университет, Москва, Россия.
<i>Стожаров А. Н.</i>	Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь.
<i>Тарутин И. Г.</i>	ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова», Минск, Беларусь.
<i>Шишко Я.</i>	Варшавский университет сельского хозяйства, Варшава, Польша.

EDITORIAL BOARD

Editor-in-chief	MASKEVICH S. A. , Doctor of Physics and Mathematics, Professor; Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute, Minsk, Belarus. E-mail: direktor@iseu.by
Deputy editor-in-chief	POZNYAK S. S. , Doctor of Agricultural Sciences, Professor; Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute, Minsk, Belarus. E-mail: pazniak@iseu.by
Executive secretary	LYSUKHA N. A. , PhD (engineering), Associate Professor; Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute, Minsk, Belarus. E-mail: nlysukha@mail.ru
<i>Batyan A. N.</i>	Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute, Minsk, Belarus.
<i>Hermenchuk M. G.</i>	State Scientific and Technical Institution «Center for Nuclear and Radiation Safety» of the Ministry of Emergency Situations of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus.
<i>Golubev A. P.</i>	Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute, Minsk, Belarus.
<i>Golovaty S. E.</i>	Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute, Minsk, Belarus.
<i>Grichik V. V.</i>	Belarusian State University, Minsk, Belarus
<i>Dardynskaya I. V.</i>	Great Lakes Center for Occupational and Environmental Safety and Health, Chicago, USA.
<i>Zafranskaya M. M.</i>	Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute, Minsk, Belarus.
<i>Kilchevsky A. V.</i>	National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
<i>Korovin Y. A.</i>	Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia.
<i>Lengfelder E.</i>	Otto Hug Radiological Institute for Health and Environment, Munich, Germany.
<i>Lyberatos G.</i>	Athens Technical University, Athens, Greece.
<i>Loginov V. F.</i>	National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
<i>Medvedev S. V.</i>	The United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
<i>Stepanov S. A.</i>	International Independent Ecological and Political University, Moscow, Russia.
<i>Stozharov A. N.</i>	Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus.
<i>Tarutin I. G.</i>	N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Belarus.
<i>Szyszko J.</i>	Warsaw University of Life Sciences, Warsaw, Poland

СОЦИАЛЬНО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ УСТОЙЧИВОГО РАЗВИТИЯ

SOCIAL AND ENVIRONMENTAL PROBLEMS OF SUSTAINABLE DEVELOPMENT

УДК 316.334.56

УРБАНИЗИРОВАННОЕ ПРОСТРАНСТВО: СОЦИАЛЬНЫЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БЕЗОПАСНОСТИ ИГРОВЫХ ПЛОЩАДОК ДЛЯ ДЕТЕЙ И МОЛОДЕЖИ

Т. Н. ШУШУНОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный педагогический университет имени Максима Танка,
ул. Советская, 18/1, 220050, г. Минск, Беларусь

Представлены результаты социологического исследования с использованием методов визуальной социологии по изучению соответствия детских игровых площадок г. Минска ориентации на самосохранительное поведение, которое осуществлялось в рамках изучения дружелюбности городской среды к детям. На сегодняшний день площадки для детей, построенные по типовым проектам, во многом не отвечают критериям современного открытого городского пространства, дружелюбного к детям и молодежи. В то время как ситуация игровой деятельности в рамках города есть показатель его пространственных возможностей, то с точки зрения организации – это условия для игр, обеспечение безопасности, минимальная защита от болезней и ограничение нездорового образа жизни.

Ключевые слова: город; городское пространство; детская игровая площадка; самосохранительное поведение; дружелюбность городской среды; визуальная социология.

Образец цитирования:

Шушунова Т. Н. Урбанизированное пространство: социальные и экологические аспекты безопасности игровых площадок для детей и молодежи // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 4–11.

For citation:

Shushunova T. N. Urbanization space: social and ecological aspects of safety of playgrounds for children and youth. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 4–11 (in Russ.).

Авторы:

Татьяна Николаевна Шушунова – кандидат социологических наук, доцент кафедры социально-гуманитарных дисциплин.

Authors:

Tatyana N. Shushunova, PhD (sociology), associate professor of the department of social and humanitarian disciplines.
Shushunova_tatiana_bspu@mail.ru

URBANIZATION SPACE: SOCIAL AND ECOLOGICAL ASPECTS OF SAFETY OF PLAYGROUNDS FOR CHILDREN AND YOUTH

T. N. SHUSHUNOVA^a

*^aBelarusian State Pedagogical University named after Maxim Tank,
Soviet street, 18/1, 220050, Minsk, Belarus*

The results of a sociological study using the methods of visual sociology to study the compliance of children's playgrounds in Minsk with an orientation towards self-preservation behavior, which was carried out in the context of studying the friendliness of the urban environment to children, are presented. Today, playgrounds for children built according to standard designs do not in many respects meet the criteria of a modern open urban space friendly to children and young people, while the situation of play activities within the city is an indicator of its spatial possibilities in terms of organizing conditions for games, ensuring safety, minimal protection against disease and restricting unhealthy lifestyles.

Keywords: city; urban space; children's playground; self-preserving behavior; friendliness of the urban environment; visual sociology.

Введение

Город является привлекательным местом проживания для всех тех, кому важно разностороннее развитие личности, широкие возможности для осуществления деятельности и включенности в культурную жизнь. Городская среда как условие повседневной жизни является конкретной предметно-пространственной и социальной обстановкой, которая окружает человека на городских улицах, в общественных местах, на работе и дома. Это все то, что составляет общий фон, на котором, при участии всего множества составляющих его элементов, протекает повседневная жизнь людей в урбанизированном пространстве, а также совершаются все городские процессы [10]. Учитывая возможности города: удобную и доступную инфраструктуру, эстетическое разнообразие, огромное количество рабочих мест, парки и места развлечений и т. д., не вызывает сомнений, что именно город делает человека счастливее и здоровее. Это обусловлено заботой в обеспечении сохранения здоровья населения и теми возможностями, которые город предоставляет всем, кто выбирает ориентацию на здоровый образ жизни. Современный город является самым популярным местом проживания населения Беларуси, что подтверждено статистическими показателями. На 2018 г. в Беларуси численность городского населения составила 7 412,1 тыс. чел. [7]. Прогноз американского экономиста Э. Глейзера, что «по мере того как человечество богатеет, все больше людей будет выбирать место жительства по критериям не только производительности, но и удовольствий», воспринимается реалистично, благодаря действительным возможностям городской среды [1]. Опросы общественного мнения об удовлетворенностью жизни подтверждают рост ее продолжительности с учетом доли населения, проживающего в городах.

Но вместе с тем существует альтернативная точка зрения о том, что город вреден для здоровья человека своей нездоровой экологией, высокой плотностью населения, быстрым ритмом жизни, порождающим тревожность, страх и агрессию, а также шумом, нехваткой солнечного света и многими другими негативными факторами. Городское пространство само по себе как структурированная жизненная среда удовлетворяет потребность человечества в красоте, порядке и потенциальных возможностях. Однако без человеческого фактора, который вступает в социальные взаимодействия, координирует поступки и поведение, обеспечивает контакты и сплоченность людей в рамках социальных групп, создает локальные городские сообщества не может в полной мере претендовать на самодостаточность. Извлекая преимущества из городского образа жизни не теряя при этом своего физического и душевного здоровья, необходимо путем рационального и сбалансированного управления городским пространством создавать особую дружественную среду к различным категориям населения. Следует способствовать взаимному общению и взаимообмену, посредством которого как сам город, так и живущие в нем люди могли бы развиваться, укреплять свое здоровье и повышать уровень качества жизни.

Социологическое изучение вопросов, связанных с дружественностью городской среды, было актуализировано, с одной стороны, запросом государства, направленного на регулирование демографического процесса Беларуси, который в настоящий момент имеет все проблемы развитого, урбанизированного, стареющего и сокращающегося общества. Естественная убыль населения не полностью уравновешивается рождаемостью, поэтому остро стоит вопрос сохранения и воспроизводства демографического потенциала. С учетом этих проблем разработана Государственная программа «Здоровье народа и демографическая безопасность Республики Беларусь» на 2016–2020 годы, которой

предусматривается создание условий для улучшения здоровья населения с охватом всех этапов жизни, широкой информированности населения о факторах риска, угрожающих здоровью, пропаганды здорового образа жизни, формирования у населения самосохранительного поведения, развития и укрепления семейных ценностей, повышения престижа родительства, улучшения воспроизводства населения, сокращения уровня смертности, прежде всего в трудоспособном возрасте, увеличения ожидаемой продолжительности жизни, повышения качества и доступности услуг системы здравоохранения [2].

С другой стороны, существование проблем микроуровня также обусловило стремление исследователей уделять внимание вопросу дружелюбия городской среды. Это возможности комфортной досуговой сферы жизни в рамках города, организации городских пространств, проблемы безопасности как важной части индивидуального развития человека и составляющей его самочувствия. Особенно, что касается экологической безопасности, связанной с минимизацией последствий деградации окружающей среды, а также безопасности здоровья, основной целью которой является обеспечение минимальной защиты от болезней и ограничения нездорового образа жизни. Остро стоит вопрос личной (физической) безопасности, которая направлена на оборону от различных форм и проявлений насилия, и общественной (социальной), направленной на защиту от потери собственной идентичности и различных форм девиации в общественной жизни.

Само понятие дружественная городская среда еще не осмыслено в полной мере научным сообществом, чтобы можно было выйти на единое определение. Однако оно часто используется в работах отечественных исследователей, работающих в рамках социологии города, социологии детства, социологии молодежи и т. д. В числу таких исследователей следует отнести А. Г. Филипову, Н. Э. Ракитину, осмысливающих городскую доброжелательность к детям; Е. В. Лебедеву, которая анализирует детей и молодежь в рамках города; Е. А. Симонову, Л. Н. Банникову, изучающих городскую среду мегаполиса, дружественную детям и т. д.

В рамках изучения дружественности городской среды к детям и молодежи на базе Белорусского государственного университета при поддержке БРФФИ было проведено социологическое исследование по изучению соответствия детских игровых площадок ориентации на самосохранительное поведение. В данном случае оно выступает и определяется как форма социального поведения, которая включает сознательные действия индивида по сохранению своего здоровья в биологическом, психологическом и социальном аспектах [8], отражает реальные действия по отношению к социально значимым объектам, а также к здоровью, реализует внутренние побуждения человека. Опираясь на потребность в самосохранении, данный вид поведения имеет многослойный характер. В отношении детей мы не можем говорить о сознательном выборе самосохранительного поведения в силу возраста последних, принимая во внимание их начальный этап социализации. Однако то, как они ведут себя в игровом контексте, что касается окружающей среды, безопасности, рисков, выстраивания отношений, самопрезентации и т. д., может нам сказать о существовании потенциала самосохранительного поведения, которое на этом этапе является подражанием родительской модели поведения в отношении здоровья. Отдых для ребенка, если вывести за скобки сон как естественное восстановление биологического организма, – это прежде всего ситуация игры, к которой дети предрасположены больше всего. А игра есть воспроизведение поведения или его элементов в силу личного интереса и удовольствия. Доктор Пол Кидуэлл в своей книге, посвященной психологии города, утверждает, что игра является физической или мыслительной деятельностью, которая предпринимается исключительно ради удовольствия или забавы. В этом ее смысл, и других целей у нее нет. Без возможности играть – самим или с друзьями – дети неправильно развиваются [3]. Труд и игра являются фундаментальными категориями, без которых невозможно представить себе людей. Люди всегда трудились и всегда играли. Для взрослых игра является способом уйти от действительности как один из возможных вариантов. Понятие игры многозначное и взрослые игры, в отличие от детских, обладают внутренней двусубъектностью: субъект не только ориентирован на свой замысел (воображение), но одновременно удерживает реальную действительность и свое смысловое поле. Для детей же – игра является возможностью раскрыть способности, показать свое отношение к миру и к окружающим. В игре формируются познавательные процессы и реализуются коммуникативные навыки. Игра способна моделировать взаимоотношения взрослых, устанавливать взаимоотношения с другими людьми и самое главное – принимать на себя определенную социальную роль в контексте игры. Ситуация игровой деятельности в рамках города есть показатель его пространственных возможностей (организации условий для игр и обеспечения безопасности). Детские площадки на улицах города, прилегающие к жилым комплексам, как раз та территория, которая определена как место для детских игр. Их наличие является видимым показателем проявления заботы о детях со стороны города, попыткой упорядочить детские игры в четкие пространственные рамки, что маркируется как дружелюбие городской среды к детям и молодежи.

По тому, как ребенок осуществляет свою свободную игровую деятельность в рамках открытого пространства, можно видеть его личное отношение к своему здоровью, а то, какие условия для этой игры созданы со стороны города, рассматривается в качестве факторов внешней среды, что соответствует конкретной рассматриваемой ситуации, опосредующей самосохранительное поведение ребенка. Следует отметить, что процесс воспитания и передача навыков самосохранительного поведения в семье во многом недоступны наблюдению. Однако на детских площадках, в рамках которых детям предлагается играть, можно исследовать методами визуальной социологии, различные проявления общественной жизни, межличностный характер взаимоотношений, совокупность поступков и действий в коллективе. Все вышеизложенное можно не только увидеть, но и сфотографировать. Поэтому цифровая фотография в визуальной социологии выступает наиболее доступным средством исследования по технике создания и методе анализа.

Методы и материалы исследования

Метод визуальной социологии идентичен методу сбора первичной социологической информации контент-анализу, только он используется на визуальном материале, поскольку фотография по сути является квазитекстом. Метод анализа фотографий, являясь видом метода анализа документов, также имеет качественный и количественный подходы.

В данном случае мы будем использовать социологическую фотографию в качестве первичной социологической информации. Ее отличительная особенность заключается в том, что она, несмотря на свою возможную эстетическую ценность, выполняет четкие функции: информативно-документальные, эвристические, пояснительные, а также передает определенные послания. Если еще не так давно фотография считалась лишь иллюстративным подтверждением текстовой информации, то в визуальную эпоху она обретает статус самостоятельности. П. Штомпка отмечает: «Использование анализа имеющихся фотографий и самостоятельное фотографирование как исследовательские методы («хороший социологический глаз») – обязательная компетенция социолога». Основанием является то, что зрение сейчас играет большую роль в повседневной жизни [9].

Проблемная ситуация заключается в том, что на сегодняшний день площадки для детей, построенные по типовым проектам советского периода, во многом не отвечают критериям современного открытого городского пространства дружественного к детям и молодежи. Их внешний вид и наполняемость отвечают критерию безопасности. Так, в сопроводительных документах по эксплуатации детских игровых площадок даны четкие параметры, описаны возможные материалы и необходимые размеры, а также рекомендации, что было бы хорошо сделать. Однако не обязательно для создания детской игровой площадки, например, иметь прорезиненный коврик в месте, где ребенок скатывается с горки. Детские игровые площадки выступают как одно из средств достижения определенных качеств детской развивающей среды и направлены на создание атмосферы, благоприятной развитию детей, культивированию многообразных форм игровой деятельности, созданию пространства, способствующего развитию свободной игры.

Таким образом, объектом исследования является детская игровая площадка. Выборочная совокупность снимков при достаточно узком объекте составила 60 цифровых фотографий. В качестве выбора категорий изображений мы отталкивались от факторов внешней среды самосохранительного поведения, которые влияют на игровой процесс в рамках детской площадки. Нами использовался теоретический материал исследователей-урбанистов из Санкт-Петербурга, а именно, проект SAGA – «Сага о городе. Трансформация общественных пространств», которые за основу изучения городской среды взяли четыре принципа – по первым буквам названия: «S» – smart (умные), «A» – attractive (привлекательные), «G» – green (зеленые), «A» – accessible (доступные) [4].

Применительно к конкретному объекту – детским площадкам – мы можем проинтерпретировать предложенные четыре принципа следующим образом:

1. «Умные» – способствующие развитию ребенка, его умению решать сложные задачи, а не просто обеспечивать двигательную активность. В то же время они должны обеспечивать его безопасность посредством совместного решения задач, обуславливающих социальное взаимодействие. Создавать объекты для игр XXI в., а не пользоваться наследием советской эпохи.
2. «Привлекательные» – соответствующие по цвету, качеству материалов, новизне и степени сложности различным возрастам детей.
3. «Зеленые» – расположенные в зеленой зоне, вне стоянки машин, облагороженные кустами, деревьями,
4. «Доступные» – любой желающий может воспользоваться данной площадкой для игр.

На основании выделенных категорий изображения были выбраны (на основе логики и здравого смысла) единицы счета, по три на каждую категорию, которые имели цель наиболее полно раскрыть смысл каждой из предварительно отмеченных.

Так, категория «Умная» детская игровая площадка имела единицы счета:

- Позволяющие решать сложные задачи (лабиринты, веревочные лестницы, счеты и т. д.).
- Позволяющая совершенствовать физическую форму (турники, перекладины, спортивные горки).
- Имеющие оригинальное (логичное), новое архитектурное решение.

Категория «Привлекательная» детская игровая площадка:

- Яркий насыщенный цвет.
- Единое стилевое решение.
- Интересна для детей разных возрастов, а не только дошкольников.

Категория «Зеленая» детская игровая площадка:

- Расположена в зеленой зоне (окружена деревьями, растительностью).
- Создана из природных материалов (частично или полностью).
- Находится в отдалении стоянки машин жильцов дома.

Критерий «Доступная» детская игровая площадка:

- Создана для всех детей без исключения (не только жильцов дома).
- Характеризуется безбарьерной средой (той, которая создает наиболее легкие и безопасные условия для наибольшего числа людей).
- Безопасная для свободной игры детей (имеет ограждения, специальное покрытие).

Результаты исследования и их обсуждение

Рассмотренные детские игровые площадки г. Минска методом визуальной социологии в подавляющем своем большинстве не отвечают критерию «Умные». В 80 % они не позволяют решать сложные интересные задачи, используя при этом свои физические возможности. Особенно это касается детей школьного возраста. Только 65 % детских площадок имеют на своей территории турник или железную лестницу, образца 80-х годов. Невольно подтверждая мысль о том, что спорт – это не увлекательное совершенствование своих физических возможностей посредством игры, а монотонный труд с использованием не всегда удобных и понятных железных конструкций. И только 16 % детских площадок могут похвастаться воплощением оригинальной архитектурной мысли, все остальные больше напоминают шаблон «горка–песочница–качели», где порой каждый элемент может отличаться по времени создания (рис.1).



Рис. 1. «Умная» детская игровая площадка

Fig. 1. Smart children's playground

По категории «Привлекательные» можно с уверенностью сказать, что большая часть (80 %) детских площадок имеет яркий по цвету внешний вид. Краска новая, цвета насыщенные, вид скорее ухоженный, чем нет. Но есть другая проблема – это стилевое решение. Стил присутствует только у 27 % детских игровых площадок. Красота – это важный фактор формирования личности ребенка. Речь идет

о специфической человеческой способности эстетического восприятия явлений, фактов, событий объективного мира, предполагающей развитое творческое воображение. З. Фрейд подчеркивал: «Мы оказываемся вынужденными признать, что та бесполезная вещь, которую мы так высоко ценим в культуре, называется красотой» [6]. К сожалению, на детских игровых площадках города дети вынуждены довольствоваться осколками чуждой им эпохи и организовывать свою свободную игру в пространстве материальных объектов, которые утратили свою актуальность и привлекательность. То же самое можно сказать о предназначении детской игровой площадки. Если сейчас так остро стоит вопрос о том, что дети мало проводят времени на свежем воздухе, занятые совместной подвижной игрой, предпочитая свою комнату и свои гаджеты, то почему не создавать места для младших и средних школьников, которые могли бы также, наряду с детьми садового возраста, находить себе занятие и заодно присматривать за младшими. Только треть детских игровых площадок имеет разноплановое наполнение своего пространства (рис. 2).



Рис. 2. «Привлекательная» детская игровая площадка

Fig. 2. Attractive children's playground

По критерию «Зеленые» Минск позиционирует себя как заинтересованный в озеленении город. Его администрация понимает важность минимизации отрицательных последствий урбанизации, особенно в спальных районах, изобилующих плотной застройкой. С этой целью осуществляются проекты по озеленению города, заключаются соглашения с жилищно-коммунальным хозяйством направленные на то, чтобы сделать город комфортным для проживания, дружелюбным к людям. По результатам исследования визуальных образов существует четкая связь озеленения детской игровой площадки с постройкой жилого массива. Так, более 80 % рассмотренных детских игровых площадок были расположены в местах, где природа присутствует в виде деревьев и кустарников, поскольку это были уже обжитые районы со своей историей. В отличие от молодых районов, где объекты детских площадок частично созданы с привлечением природных элементов, но в своем окружении пока не имеют зеленых насаждений. В зависимости от времени создания района расположение детской площадки тем ближе к машинам, чем старше район. В некоторых случаях машины претендуют на место детских площадок. Это само по себе есть показатель уровня дружелюбности города и к жильцам, у которых нет места для машины, и детям, чье пространство для свободной игры невольно сокращается (рис. 3).

И последняя категория, которая была выделена в качестве задачи исследования – «Доступные» детские игровые площадки – это один из самых учтенных аспектов городской жизни детей. Практически все пространства для свободной игры, созданные в жилых районах города, не ограничивают доступ для всех желающих присоединиться к ней. Не ограничивают доступ к игре барьеры, которые в большинстве случаев отсутствуют на детских игровых площадках. Чего нельзя сказать о безопасности. Только 18 % из всех рассмотренных детских площадок имело ограждение в виде небольшого забора или специальной разделительной дорожки. Подавляющее большинство площадок были настолько доступные, что не только не имели ограждений, но находились вблизи от пешеходного тротуара или даже пересекались с ним, не говоря уже о близком расположении машин (рис. 4).



Рис. 3. «Зеленая» детская игровая площадка

Fig. 3. Green children's playground



Рис. 4. «Доступная» детская игровая площадка

Fig. 4. Accessible children's playground

Заключение

На основании проделанной работы методом визуальной социологии были рассмотрены детские игровые площадки г. Минска на соответствие их таким критериям, как «Умные», «Привлекательные», «Зеленые» и «Доступные». Ни одна детская площадка, из имеющихся и изображенных на фотографиях, не имеет в себе воплощение всех 4-х характеристик. Есть положительные шаги в направлении создания новых оригинальных доступных и умных детских площадок, которые начинают строить по новым

проектам, но, как правило, в коммерческих жилищных комплексах. А в старых жилых районах или в новых, но социально-ориентированных, детские игровые площадки имеют хотя и яркий вид, но уступают в функциональности и новизне, часто не соответствуют разнообразному возрасту детей и создаются без учета и использования природных материалов. Дихотомия «озеленение – близость машин» существует как в новых, так и в старых районах с той лишь разницей, что в старых преобладает зелень и прилегающие к детским площадкам стоянки машин, а в новых, нет ни зелени, ни машин. Поэтому, с одной стороны, встает вопрос социального неравенства даже в отношении такого простого примера, как детская игровая площадка. Неравные условия детей на момент открытой игры в пространстве города не может не сказаться на критерии дружелюбности. Если приравнять рассмотренные критерии (умные, привлекательные, зеленые и доступные) к фактору социальной среды самосохранительного поведения, то мы отметим, что проведение своего свободного времени на площадке в окружении машин с минимальным количеством неинтересных для современных детей объектов, порой без деревьев и других зеленых насаждений, с турниками из советского прошлого и минимальным дизайном, не является примером позитивного самосохранительного поведения ребенка или подростка. Причина вышеозначенного – отсутствие условий. Ориентировать свою модель поведения по направлению к здоровью можно в рамках детской игровой площадки, если она экологична, безопасна, что позволяет ребенку развиваться, физически совершенствоваться в процессе игры, удовлетворяет потребностям своего возраста и имеет привлекательный внешний вид. В противном случае дети будут выбирать не открытую свободную игру на свежем воздухе, общаясь друг с другом, а альтернативную – домашнюю, компьютерную, сетевую. И если детей садовского возраста еще можно заинтересовать горкой и качелями, то для современной молодежи там, к сожалению, больше нет привлекательных занятий, которые бы отвечали критериям самосохранительного поведения.

Библиографические ссылки

1. Глейзер Э. Триумф города. Как наше величайшее изобретение делает нас богаче, умнее, экологичнее, здоровее и счастливее. М., 2014.
2. Государственная программа «Здоровье народа и демографическая безопасность Республики Беларусь» на 2016 – 2020 годы [Электронный ресурс]. URL: <http://www.government.by/upload/docs/filecdf0f8a76b95e004.PDF> (дата обращения: 01.11.2018).
3. Кидуэлл П. Психология города. М., 2018.
4. Проект САГА [Электронный ресурс]. URL: <http://www.saga.leontief-centre.ru/> (дата обращения: 01.11.2018).
5. Филипова А. Г., Ракитина Н. Э. Городская «доброжелательность» к детям: от неравенства к соучаствующему проектированию городской среды (на материалах городов юга Дальнего Востока) : монография. Владивосток, 2017.
6. Фрейд З. Болезнь культуры. М., 2014.
7. Численность населения Беларуси на 1 января 2018г. [Электронный ресурс]. URL: http://www.belstat.gov.by/ofitsialnaya-statistika/ssrd-mvf_2/natsionalnaya-stranitsa-svodnyh-dannyh/naselenie_6/chislennost-naseleniya1_yan_poobl/ (дата обращения: 01.11.2018).
8. Шушунова Т. Н. Самосохранительное поведение студенческой молодежи: социологический анализ (на примере минских вузов). Минск, 2010.
9. Штомпка П. Визуальная социология. Фотография как метод исследования. М., 2007.
10. Яровая В. А. Влияние архитектуры городской среды на психологию поведения человека // Вестник ХДАДМ. 2009. № 5.

References

1. Glazer E. [Triumph of the city. As our greatest invention makes us richer, smarter, greener, healthier and happier]. Moscow, 2014 (in Russ.).
2. The state program «Health of the people and the demographic security of the Republic of Belarus» for 2016–2020 [Electronic resource]. URL: <http://www.government.by/upload/docs/filecdf0f8a76b95e004.PDF> (date of access: 01.11.2018).
3. Kidwell P. Psychology of the city. M., 2018 (in Russ.).
4. Project SAGA. [Electronic resource]. URL: <http://www.saga.leontief-centre.ru/> (date of access: 01.11.2018).
5. Filipova A. G., Rakitina N. E. [Urban «benevolence» to children: from inequality to participatory design of the urban environment (on materials of cities in the south of the Far East)]: monograph. Vladivostok, 2017 (in Russ.).
6. Freud Z. [Illness culture]. Moscow, 2014 (in Russ.).
7. The population of Belarus on January 1, 2018. [Electronic resource]. URL: http://www.belstat.gov.by/ofitsialnaya-statistika/ssrd-mvf_2/natsionalnaya-stranitsa-svodnyhdannyh/naselenie_6/chislennost-naseleniya1_yan_poobl/ (date of access: 11.01.2018) (in Russ.).
8. Shushunova T. N. [Self-preservation behavior of student youth: a sociological analysis (on the example of Minsk universities)]. Minsk, 2010 (in Russ.).
9. Sztompka P. [Visual sociology. Photography as a research method]. Moscow, 2007 (in Russ.).
10. Spring V. A. [Influence of the architecture of the urban environment on the psychology of human behavior]. *Vestnik KhDADM*. 2009. No 5 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 26.10.2018
Received by editorial board 26.10.2018

ИЗУЧЕНИЕ

И РЕАБИЛИТАЦИЯ ЭКОСИСТЕМ

THE STUDY

AND REHABILITATION OF ECOSYSTEMS

УДК 502.3.351.15(476)

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ И ТЕРРИТОРИАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФАКТОРА ТЕХНОГЕНЕЗА

А. И. КАЛАШНИКОВА¹⁾, М. Г. ЯСОВЕЕВ¹⁾

*¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова, ул. Долгобродская, 23/1, 220070,
г. Минск, Беларусь*

Изучение трансформации природной среды, находящейся в условиях техногенного воздействия, является важным для обеспечения устойчивого развития территории. Рассмотрены объекты среднemasштабного ландшафтного картографирования (ПТК) в рангах родов, подродов и видов. Определены ведущие критерии выделения основных рангов природных и природно-антропогенных ландшафтов. Представлены результаты геоэкологического анализа трансформации ландшафтов в районах с высокой интенсивностью техногенного воздействия дополнительной оценочной категории геоэкологических условий по техногенным факторам – «крайне неблагоприятные». Показано, что при выявлении геоэкологических ситуаций и разработке мероприятий по их улучшению или предупреждению картографический метод анализа дает возможность с высокой степенью точности передать пространственные особенности экологической обстановки, зависящие от техногенных трансформаций природной среды.

Образец цитирования:

Калашникова А. И., Ясовеев М. Г. Критерии оценки и территориальная дифференциация геоэкологических условий под воздействием фактора техногенеза // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 12–19.

For citation:

Kalashnikava A. I., Yasoveev M. G. Criteria of evaluation and territorial differentiation of geoecological conditions under the influence of the factor of technogenesis. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 12–19 (in Russ.).

Авторы:

Анна Ивановна Калашникова – преподаватель кафедры общей экологии, биологии и экологической генетики.

Марат Гумерович Ясовеев – доктор геолого-минералогических наук, профессор кафедры общей экологии, биологии и экологической генетики.

Authors:

Hanna I. Kalashnikava, lecturer of the department of general ecology, biology and ecological genetics.

annaand@tut.by

Marat G. Yasoveev, doctor of science (geological and mineralogical), professor of the department of general ecology, biology and ecological genetics.

jasoveev.marat2016@yandex.ru

Ключевые слова: критерии оценки геоэкологических условий; территориальная дифференциация; фактор техногенеза; природные ландшафты; природно-антропогенные ландшафты; оценочные критерии эколого-геологических условий.

CRITERIA OF EVALUATION AND TERRITORIAL DIFFERENTIATION OF GEOECOLOGICAL CONDITIONS UNDER THE INFLUENCE OF THE FACTOR OF TECHNOGENESIS

A. I. KALASHNIKA^{a)}, M. G. YASOVEEV^{a)}

*^{a)}Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus
Corresponding author: A. I. Kalashnikava (annaand@tut.by)*

The study of the transformation of the natural environment under the conditions of anthropogenic impact is important for the sustainable development of the territory. The objects of medium-scale landscape mapping – natural territorial complex – in the ranks of the genera, subgenera and species are considered. The leading criteria for identifying the main ranks of natural and natural-anthropogenic landscapes are defined. The results of the geoecological analysis of the transformation of landscapes in areas with a high intensity of anthropogenic impact of the additional assessment category of geoecological conditions according to anthropogenic factors – «extremely unfavorable» are presented. It is shown that when identifying geo-ecological situations and developing measures for their improvement or prevention, the cartographic method of analysis makes it possible with a high degree of accuracy to convey the spatial features of the ecological situation, depending on the man-made transformations of the natural environment.

Key words: criteria for the assessment of geo-ecological conditions; territorial differentiation; a factor of technogenesis; natural landscapes; natural-anthropogenic landscapes; estimated criteria of ecological-geological conditions.

Введение

В условиях увеличивающихся информационных потоков о состоянии природной среды, значительно усложнения теоретических и методологических проблем все более возрастает роль геоэкологического картографирования. Сущность геоэкологического картографирования состоит в системном анализе результатов геоэкологических исследований, определении ведущих факторов устойчивости природной среды, выборе оценочных критериев геоэкологических условий, изучении техногенных трансформаций природной среды, оценке геоэкологических параметров территории. Целевым назначением карт природных ландшафтов является отображение особенностей ландшафтной дифференциации территории. Их составление предусматривает решение следующих задач:

- выбор классификационных единиц среднемасштабного ландшафтного картографирования;
- уточнение критериев их выделения с учетом эколого-геологического аспекта исследований;
- анализ взаимообусловленности природных компонентов в пределах рассматриваемых полигонов;
- типологию природных территориальных комплексов (ПТК).

Составление карт природных ландшафтов выполняется на основе классификации ПТК, разработанной белорусскими учеными-ландшафтоведами [1]. Методические подходы к выделению ПТК несколько отличаются от традиционных в связи с геоэкологическим характером ландшафтного картографирования.

Объектами среднемасштабного ландшафтного картографирования являются ПТК в рангах родов, подродов и видов. Ведущим критерием выделения рода ландшафтов служат генетические особенности и время формирования территории. Г. И. Марцинкевич установлено [1], что в области эрозионно-аккумулятивной деятельности плейстоценовых оледенений развиты холмисто-моренно-озерные ландшафты, сформированные поозерским ледником. С образованиями сожского ледникового покрова связаны холмисто-моренно-эрозионные и камово-моренно-эрозионные ПТК. Исключение составляют нерасчлененные комплексы, сочетающие разновозрастные элементы, например, речные долины, объединяющие современную пойму, и участки локальных террас голоценового возраста. Нерасчлененные комплексы с преобладанием болот различаются как возрастом, так и условиями формирования, что обусловлено распространением в пределах болотных массивов минеральных

островов. Роды ландшафтов отличаются между собой степенью дренированности, типом почв, растительными формациями [2].

Материалы и методы исследования

В основе получения необходимой информации для построения геоэкологической карты, карты природно-антропогенных ландшафтов лежит геоэкологический подход, который заключается в поэтапном решении проблем с помощью представления о системах как о комплексе взаимодействующих систем разных порядков, изучение их с помощью исследования взаимодействий изучаемой системы с окружающей средой, а затем частей системы друг с другом.

Начальным технологическим этапом построения геоэкологической карты является выбор оценочных критериев геоэкологических условий. Как правило, в качестве ведущих показателей геоэкологических условий оценивается состояние трех природных сред: верхних слоев литосферы, почв, поверхностных и подземных вод. Анализируются сведения о вещественном составе грунтов, типах почв, растительном покрове, степени суммарного загрязнения почв, изменении УГВ (уровня грунтовых вод) и другие характеристики территории ландшафта. Принимаются во внимание и косвенные данные: интенсивность водообмена, защищенность подземных вод, коэффициент освоенности ландшафтов и др. Комплексный анализ этих сведений позволяет оценить экологическое состояние ландшафта, выделив при этом территории с различной благоприятностью геоэкологической обстановки, что позволяет произвести районирование изученной территории с выделением зон различной интенсивности проявления техногенных процессов [5].

Назначение и содержание геоэкологических карт определяются, прежде всего, масштабом картографирования и объектами геоэкологического анализа. Составление таких карт осуществляется на трех уровнях: 1) региональном (масштаб 1:500 000 и мельче), 2) локальном (масштаб 1:200 000–1:100 000) и 3) детальном (масштаб 1:50 000–1:25 000). Мелкомасштабные геоэкологические карты составляются для стабильных в геоэкологическом плане ландшафтов, где влияние деятельности человека относительно невелико и преобладают устойчивые территории. Они также могут составляться для крупных регионов как обзорные карты. Основное назначение таких карт – выявление основных факторов и критериев, характеризующих изменение геологического строения под влиянием антропогенных процессов, определение общей геоэкологической обстановки. Среднемасштабные геоэкологические карты составляются для районов интенсивного освоения с достаточно широким развитием техногенных процессов. Крупномасштабные геоэкологические карты составляются для районов, где ландшафты подвержены значительной дестабилизации.

Результаты и обсуждения

Ландшафтное картографирование в геоэкологических целях при выделении ПТК в ранге рода предполагает учет структурно-геологических особенностей региона. При этом устанавливаются соотношения ландшафтов с рельефом ложа антропогенных отложений: приуроченность к возвышенным, равнинным и пониженным (ложбинообразным) участкам погребенного рельефа. Названные признаки являются дополнительной информацией о вертикальной структуре ПТК и отражены в их названии. Кроме того, рельеф доантропогенной поверхности во многом определяет направленность и напряженность транзитных потоков техногенных загрязнений, достигающих максимальных значений в ПТК, соответствующих древним понижениям и ложбинам. Выделены основные и дополнительные критерии определения природных ландшафтов (табл. 1).

Таблица 1

Критерии выделения природных ландшафтов

Table 1

Criteria for the selection of natural landscapes

Единицы классификации ландшафтов	Критерии выделения		Показатели границ
	основные	дополнительные	
Класс	Крупные морфоструктурные особенности территории	Спектр ландшафтных зон	Изменение макрорельефа
Тип	Макроклиматические условия	Растительный покров	Смена типа климата
Подтип	Состав растительных сообществ	Мезоклимат	Смена эдификаторов фитоценозов
Группа родов	Вертикальная дифференциация дневной поверхности	Не используются	Изменение доминирующих абсолютных отметок
Род	Время формирования и генетическая категория дневной поверхности	Соотношение с палеорельефом, степень дренированности, тип почв, растительные формации	Смена генетических комплексов антропогенных отложений
Подрод	Литология поверхностных отложений	Не используются	Смена литологических разностей
Вид	Мезоформы рельефа	Вид почв, группы растительных ассоциаций	Изменение типа мезорельефа

Ведущим критерием выделения подрода ландшафтов является литология поверхностных отложений [1]. Данный компонент контролирует в пределах ПТК особенности рельефа, гранулометрический состав почв, распределение растительных сообществ, а также оказывает влияние на степень и характер освоенности территории, определяет естественную защищенность почвогрунтов и подземных вод. В связи с этим картографирование подродов ландшафтов безусловно важно при экологической оценке природной среды.

Основным признаком выделения вида ландшафтов служат особенности мезорельефа, дополнительными – виды почв и группы растительных ассоциаций [1]. На карте природных ландшафтов виды ПТК несут основную смысловую нагрузку.

Легенда к картам природных ландшафтов строится на базе матричного метода с учетом классификационного ранжирования ландшафтных единиц, их соподчиненности и взаимосвязи.

В результате длительного хозяйственного и промышленного использования территории природная среда Беларуси подверглась достаточной антропогенной трансформации, что привело к смене природных ландшафтов на природно-антропогенные и техногенные. Эти и другие факторы также оказывают негативное влияние на функционирование и рост природно-хозяйственных и социально-экономических систем. Комплексный анализ карт природных ландшафтов и картосхем источников антропогенного воздействия позволяет охарактеризовать современное состояние ПТК и составить карты природно-антропогенных ландшафтов (ПАЛ) территории. Согласно определению Г. И. Марцинкевич [3], природно-антропогенные ландшафты – техногенные модификации ПТК, сформировавшиеся под влиянием хозяйственной деятельности человека. Их картографирование предполагает решение следующих задач [5]:

- определение структуры земельных угодий в каждом из ландшафтных выделов;
- типизацию ПТК по преобладающим видам антропогенного воздействия;
- типизацию ПТК по направленности хозяйственного использования территории;
- составление классификации природно-антропогенных ландшафтов;
- разработку легенды к искомой картографической модели.

Классификация природно-антропогенных ландшафтов определяется с учетом основных теоретических и методических подходов к их картографированию, разработанных Д. Л. Армандом, А. Г. Исаченко, Г. И. Марцинкевич и др. Предлагаемый вариант классификации имеет некоторые особенности, обусловленные масштабом и прикладной геоэкологической направленностью проводимых исследований [4]. Иерархический ряд выделенных типологических комплексов характеризуется многоступенчатостью. Его построение выполняется с использованием общепризнанных основных (класс – тип – род – вид) и промежуточных (подкласс – подрод – группа видов) классификационных единиц регионального уровня.

Выделение высших единиц классификации природно-антропогенных ландшафтов (табл. 2) проводится по природным характеристикам территориальных комплексов – макроклимату (класс), составу растительных сообществ (подкласс), времени формирования и генетической категории дневной поверхности (тип). Данная позиция продиктована тем, что природно-антропогенные ландшафты возникли на основе ПТК и природная

основа в их пределах не утратила своей ведущей роли. Их структура, качество во многом определяются природными предпосылками, подчиняются природным закономерностям.

Таблица 2

Критерии выделения природно-антропогенных ландшафтов

Table 2

Criteria for the selection of natural and man-made landscapes

Единицы классификации ландшафтов	Критерии выделения		Показатели границ
	основные	дополнительные	
Класс	Макроклиматические условия	Растительный покров	Смена типа климата
Подкласс	Состав растительных сообществ	Мезоклимат	Смена эдификаторов фитоценоза
Тип	Время формирования и генетическая категория дневной поверхности	Тип почв, растительные формации	Смена генетических комплексов антропогенных отложений
Род	Направленность хозяйственного использования природных ресурсов	Не используются	Изменение специализации хозяйственной деятельности
Подрод	Вид хозяйственной деятельности	Не используются	Изменение структуры земельных площадей
Группа видов	Литология поверхностных отложений	Не используются	Смена литологических разностей
Вид	Мезоформы рельефа	Вид почв, группы растительных ассоциаций	Изменение типа мезорельефа

В качестве критериев обособления следующих по рангу единиц классификации (родов и подродов) использованы направленность и виды хозяйственной деятельности в пределах ландшафтных контуров. Основанием для их определения служат количественные показатели, отражающие структуру земельных угодий. Различаются сельскохозяйственные, сельскохозяйственно-лесные, лесные, рекреационные, природоохранные ландшафты.

Следующие единицы классификации – группа видов и вид (табл. 2). Поскольку все современные ландшафты в сущности – природно-антропогенные комплексы, правомерно совмещение критериев выделения единиц низших классификационных рангов для природных и природно-антропогенных ландшафтов. Основными их признаками являются литология четвертичных отложений и мезоформы рельефа, дополнительными – виды почв, группы естественных растительных ассоциаций. Данные категории отражают природные предпосылки развития того или иного вида хозяйственной деятельности в пределах рассматриваемых ПТК. Каждому из подродов природно-антропогенных ландшафтов свойствен свой спектр наиболее типичных групп видов. Так, пахотные комплексы формируются, как правило, на пологоволнистых и мелкохолмистых участках с дерново-подзолистыми почвами, подстилаемыми моренными и лессовыми супесчано-суглинистыми отложениями. Лесохозяйственные угодья занимают крупнохолмистые или плоские территории с дерново-подзолистыми почвами на песчаных отложениях. Луговые комплексы тяготеют к плоским поймам с дерновыми и дерновыми заболоченными почвами на аллювиальных отложениях. В то же время группы видов и виды природно-антропогенных ландшафтов являются непосредственным объектом воздействия техногенных факторов.

Выбор оценочных критериев геоэкологических условий производится исходя из представления о природной среде как сфере обитания человека и объекте его хозяйственной деятельности. Это предопределяет рассмотрение в качестве ведущих показателей геоэкологических условий состояние трех природных сред: атмосферного воздуха, почв, поверхностных и подземных вод. Для их оценки используются сведения о вещественном составе грунтов, типах почв, растительном покрове, степени суммарного загрязнения почв, изменении уровня грунтовых вод, плотности загрязнения цезием-137 и другие характеристики, полученные путем непосредственных измерений и наблюдений, а также косвенные данные: интенсивность водообмена, защищенность подземных вод, коэффициент освоенности ландшафтов и др. (табл. 3). Комплексный анализ этих сведений позволяет оценить экологическое состояние природной среды, выделив при этом территории с благоприятной, умеренно благоприятной и неблагоприятной геоэкологической обстановкой. Исследования белорусских ученых в пределах Минской городской агломерации свидетельствуют о целесообразности выделения в районах с высокой интенсивностью техногенного воздействия дополнительной оценочной категории геоэкологических условий по техногенным факторам – «крайне неблагоприятные» (табл. 3). Характер экологического состояния природной среды несет на карте главную смысловую нагрузку и отражается цветовым фоном.

Таблица 3

Основные оценочные критерии эколого-геологических условий

Table 3

Basic evaluation criteria of ecological and geological conditions

Техногенное воздействие															
Природные условия															
Экологическая обстановка	Доминирующие ландшафты	Вещественный состав грунтов	Экзогенные процессы		Интенсивность водообмена и класс водной миграции	Защищенность грунтовых вод	Почвы	Растительный покров	Тип хозяйственного воздействия	Коэффициент освоения ландшафтов	Модуль техногенной нагрузки, тыс. т/км² в год	Химическое загрязнение почв	Устойчивое изменение УГВ, м	Плотность загрязнения цезием-137, Ки/км²	Плотность загрязнения цезием-90, Ки/км²
			тип	по-раженность, %											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Благоприятная	Лессовый и вторично-моренный слабосхолмленные холмисто-моренно-эрозийный мелко и среднехолмистый	Супеси, суглинки	Плоскостной смыв	Около 5	Средняя, Н, Н-Fe	Защищенные, условно защищенные	Автоморфные	Широколиственные зелено-мошно-кисличные и сосновые лишайничково-кустарничковые леса	Лесной, сельскохозяйственный луговой	0,1...0,8	> 1	Ниже ПДК	< 0,5	< 1	< 0,15
	Умеренно-благотная	Супеси, суглинки, лессы	Линейная эрозия	5...25	Высокая, Н	Условно защищенные, слабо защищенные	Автоморфные, реже полугидроморфные	Широколиственные-мошно-зелено-мошно-кисличные леса	Сельскохозяйственный лесной лесопосаждений и пахотномелиорированной лесной	0,8...1,5	1...5	1...10 ПДК	0,5...1,5	1...5	0,15...0,5

Окончание таблицы 3

Ending table 3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Умеренно благоприятная	Холмисто-моренно эрозионный крупно и грядово-холмистый, лессовый крупно- и средне-холмистый	Супеси, суглинки, лессы	Линейная эрозия	5...25	Высокая, Н	Условно защищенные, слабо защищенные	Автоморфные, реже полугидроморфные	Широколиственно-сосново-еловые зелено-мощные кисличные леса	Сельскохозяйственно-лесной лесополосой и пахотномелиорированно-лесной	0,8...1,5	1...5	1...10 ПДК	0,5...1,5	1...5	0,15...0,5
Неблагоприятная	Вторичный водноледниковый плоский и пологоволнистый, моренно-зандровый и аллювиальный-террасированный плоский	Пески, торф	Заболочивание, русловая эрозия	> 25	Замедленная, Н, Н-Fe	Слабо защищенные, незащищенные	Полугидроморфные, гидроморфные	Сосновые кустарничко-зелено-мощные леса, злаковые гидро-мезофитные луга, низинные разнотравно-злаково- и гипново-осоковые болота	Сельскохозяйственный пахотномелиорированный, селитебный, горнотехнический	1,5...2,0	5...10	10...32	1,5...3	5...15	0,5...2,0
Крайне неблагоприятная									Селитебный, горнотехнический	> 2,0	> 10	> 32	> 3	> 15	> 2,0

Основным объектом среднemasштабного геоэкологического картографирования являются геоэкологические районы – территории, отличающиеся общностью генезиса, времени образования и однотипным техногенным воздействием [6]. Районы, в свою очередь, подразделяются на геоэкологические подрайоны, объединяющие территории ландшафтов с идентичными природными условиями (мезоформами рельефа, составом почвогрунтов, типами почв), сходной структурой земельных угодий и одинаковым экологическим состоянием природной среды (ПС).

Заключение

Таким образом, комплексный анализ на основе разработанных оценочных критериев основных природных характеристик каждого из геоэкологических подрайонов позволяет определить степень экологической благоприятности ПС. Экогеоинформация включает также анализ геоэкологических ситуаций – пространственных закономерностей развития неблагоприятных свойств ПС под воздействием техногенных факторов. При этом под геоэкологической ситуацией понимается особое свойство ПС, возникающее в результате техногенных изменений природных характеристик территории и является неблагоприятным (в различной степени) для жизни человека и хозяйственной деятельности. При выявлении геоэкологических ситуаций и разработке мероприятий по их улучшению или предупреждению картографический метод анализа дает возможность с высокой степенью точности передать пространственные особенности экологической обстановки, зависящие от техногенных трансформаций ПС.

Библиографические ссылки

1. Исаченко А. Г., Шляпников А. Г. Ландшафты. М., 1989.
2. Ковалев А. А., Губин В. Н., Денисов Ю. Ю. Геоэкологическое картографирование. Минск, 1998.
3. Марцинкевич Г. И. Ландшафтоведение. Минск, 2007.
4. Ясовеев М. Г., Шершнев О. В., Андрукович А. И. Основы инженерной геоэкологии. Минск, 2013.
5. Ясовеев М. Г., Андрухович А. И. Оценка основных подходов и методов геоэкологического исследования природно-техногенных систем // Экологический вестник. 2013. № 3 (25). С. 5–13.
6. Ясовеев М. Г., Андрухович А. И. Пространственный анализ геоэкологической устойчивости ландшафтов // *Magilëŭski meridyany*. 2013. Т. 13, № 1–2 (20–21). С. 14–19.

References

1. Isachenko A. G., Shlyapnikov A. A. [Landscapes]. M., 1989 (in Russ.).
2. Kovalev A. A., Gubin V. N., Denisov Yu. Yu. [Geoeological mapping]. Minsk, 1998 (in Russ.).
3. Marcinkevich G. I. [Landscape science]. Minsk, 2007 (in Russ.).
4. Yasoveev M. G., Shershnev O. V., Andrukovich A. I. [Fundamentals of engineering geoeology]. Minsk, 2013 (in Russ.).
5. Yasoveev M. G., Andrukovich A. I. [Evaluation of the main approaches and methods of geoeological studies of natural-technological systems]. *Ecological Herald*. 2013. No. 3 (25). P. 5–13 (in Russ.).
6. Yasoveev M. G., Andrukovich A. I. [Spatial analysis of geoeological stability of landscapes]. *Magilëŭskij meridian*. 2013. B. 13, No. 1–2 (20–21). P. 14–19 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 14.11.2018
Received by editorial board 14.11.2018

УДК 591.134.6:591.65:595.371.13/15(476)

РАЗМЕРНО-ВЕСОВЫЕ ЗАВИСИМОСТИ НАТИВНЫХ И ЧУЖЕРОДНЫХ ВИДОВ АМФИПОД (AMPHIPODA, CRUSTACEA) НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

А. И. МАКАРЕНКО¹⁾

¹⁾Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Установлено соотношение между сырой и сухой массой, а также определена зависимость этих показателей от длины тела для чужеродных *Echinogammarus ischnus* (Stebbing, 1899), *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932), *Chelicorophium curvispinum* (G. O. Sars, 1895), *Chelicorophium robustum* (G. O. Sars, 1895), *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841), *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), *Obesogammarus crassus* (G. O. Sars, 1894), *Obesogammarus obesus* (G. O. Sars, 1896), *Pontogammarus robustoides* (G. O. Sars, 1894) и аборигенных *Gammarus lacustris* Sars, 1863, *Gammarus varsoviensis* Jazdzewski, 1975 видов разноногих ракообразных (Amphipoda) из водоемов и водотоков Беларуси. Проведенное сравнение свидетельствует, что полученные уравнения для чужеродных видов не показали существенных отличий от приводимых в литературных источниках для популяций из исходного ареала. Уравнения для аборигенных видов отличаются между собой, а также отличаются и от литературных данных, что требует дальнейшего анализа.

Ключевые слова: амфиподы; ракообразные; нативные виды; чужеродные виды; сырая масса; сухая масса; уравнения связи.

Благодарность. Автор выражает искреннюю признательность сотруднику Научно-практического центра Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам В. В. Вежновцу. Работа (частично) поддержана грантом БРФФИ № Б18М-094.

DEPENDING ON SIZE AND WEIGHT OF NATIVE AND ALIEN SPECIES OF AMPHIPODS (AMPHIPODA, CRUSTACEA) ON THE TERRITORY OF BELARUS

A. I. MAKARANKA^a

^aScientific and Practical Center of the National Academy of Sciences for Bioresources,
Academicheskaya street, 27, 220072, Minsk, Belarus

The ratio between the raw and dry mass and the dependence of these parameters on the length of the body for foreign *Echinogammarus ischnus* (Stebbing, 1899), *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932), *Chelicorophium curvispinum* (G. O. Sars, 1895), *Chelicorophium robustum* (G. O. Sars, 1895), *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841), *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), *Obesogammarus crassus* (G. O. Sars, 1894), *Obesogammarus obesus* (G. O. Sars, 1896), *Pontogammarus robustoides* (G. O. Sars, 1894) and native *Gammarus lacustris* Sars, 1863, *Gammarus varsoviensis* Jazdzewski, 1975 species of amphibious crustaceans (Amphipoda) from water bodies and streams of Belarus. The comparison showed that the obtained equations for alien species did not show significant differences from those presented in the literature for populations from the original range. The equations for native species differ from each other, and also differ from the literature data, which requires further analysis.

Образец цитирования:

Макаренко А. И. Размерно-весовые зависимости нативных и чужеродных видов амфипод (Amphipoda, Crustacea) на территории Беларуси // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 20–28.

For citation:

Makaranka A. I. Depending on size and weight of native and alien species of amphipods (Amphipoda, Crustacea) on the territory of Belarus. *State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 20–28 (in Russ.).

Авторы:

Андрей Игоревич Макаренко – магистр биологических наук, научный сотрудник.

Authors:

Andrei I. Makaranka, master of biological sciences, researcher. amakarenko198989@mail.ru

Key words: amphipods; crustaceans; native species; alien species; raw mass; dry mass; coupling equations.

Acknowledgment. The author expresses sincere gratitude to V. Vezhnovets, a staff member of the Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources. The work was (partially) supported by the grant of Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research No. B18M-094.

Введение

Зависимость веса от длины тела является одной из важных характеристик вида, позволяющая рассчитывать биомассу и другие продукционные показатели в том или ином местообитании. Кроме того, размерно-весовые зависимости вне исторического ареала для чужеродных видов могут служить характеристикой состояния популяций в новых условиях.

К настоящему времени в водоемах Беларуси зарегистрировано 9 чужеродных видов [1] и 6 аборигенных видов разноногих ракообразных [1; 2]. К чужеродным относятся: *Echinogammarus ischnus* (Stebbing, 1899), *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932) (syn. *Chaetogammarus ischnus major* Cărausu, 1943), *Chelicorophium curvispinum* (G. O. Sars, 1895), *Chelicorophium robustum* (G. O. Sars, 1895), *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841), *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), *Obesogammarus crassus* (G. O. Sars, 1894), *Obesogammarus obesus* (G. O. Sars, 1896) и *Pontogammarus robustoides* (G. O. Sars, 1894) [1]. Из шести нативных видов 2 являются реликтовыми – *Pallaseopsis quadrispinosa* (G. O. Sars, 1867) (syn. *Pallasiola quadrispinosa* Sars, 1867) и *Monoporeia affinis* (Lindström, 1855), они относятся к холодолюбивой фауне [2]. Остальные виды считаются аборигенными: *Stygobromus ambulans* (F. Müller, 1846) (syn. *Synurella ambulans* (Müller, 1846)), *Gammarus lacustris* Sars, 1863, *Gammarus pulex* (Linnaeus, 1758) и *Gammarus varsoviensis* Jazdzewski, 1975 [1–3]. Так как *G. varsoviensis* выделен нами впервые из *G. lacustris* по морфологическим критериям, приведенным в относительно недавно литературе [4], то относительно его не имеется сведений о размерно-весовых соотношениях. Учитывая, что ранее проведенные литературные сведения по *G. lacustris* [4] относятся к этим двум близкородственным видам, следует ожидать изменений в уравнениях для этого вида. В связи с отсутствием *G. pulex* в наших сборах для этого вида были использованы литературные материалы. *S. anibulans* [2; 3] относится к редким видам, населяет в основном холодные воды и встречается в природниковых водоемах, ручьях с родниковым питанием, то есть занимает специфические местообитания, которые нами не изучались.

Цель: установить размерно-весовые характеристики нативных и чужеродных видов амфипод в условиях белорусских лотических и лентических экосистем.

Материалы и методы исследования

В летний период 2011–2017 гг. обследованы речные бассейны Днепра, Припяти, Немана, Западной Двины и Западного Буга. Наряду с крупными водотоками и водоемами включались притоки второстепенного значения и мелиоративные системы, имеющие прямую или косвенную связь с ними.

При отборе проб амфипод использовались следующие способы: гидробиологическим сачком по стандарту ISO 7828 (в прибрежной зоне 5–10 м вдоль береговой линии, на глубине 0,2–0,7 м); ручной сбор материала с различного рода погруженных твердых субстратов со стороны дна или в расщелинах (камней, коряг, моллюсков, комьев грунта и др.); лов тралом салазочного типа для качественных сборов с больших глубин или на достаточно удаленных от береговой линии местах. На гравийно-булыжниковом субстрате, а также на мелководьях с плотными грунтами; отбор проб производился дночерпателем Петерсена с площадью облова 1/40 м².

Образцы исследуемого материала помещали в герметичные пластиковые емкости, после чего производилась их предварительная фиксация 70 %-ным раствором этилового спирта.

Отобранные пробы обрабатывали в лабораторных условиях с помощью бинокулярного микроскопа МБС-10 при увеличении от х8 до х56, доработанного автором согласно запатентованному образцу [5; 6]. Таксономическая идентификация чужеродных видов проводилась при помощи изданий «Определитель фауны Черного и Азовского морей» [7], а также (нативных) «A key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany» [8].

Общая длина амфипод особей измерялась по методике, предложенной А. А. Асочаковым, определяющей расстояние вдоль дорзальной стороны тела – от дистального конца рострума до основания тельсона [9]. Автором данной работы использовался оригинальный метод, не описанный ранее в литературе [10], который позволяет проводить измерения на ПЭВМ, без выпрямления тела пинцетом или создания криволинейного шаблона измеряемого объекта [9].

При определении сырого веса гаммарид освобождали от наружной воды путем обсушивания на фильтровальной бумаге до полного исчезновения следов влаги. Сухая масса определялась прямым

взвешиванием особей после высушивания в течении суток при температуре 60 °С [11; 12]. Как сырая, так и сухая массы определялись на торсионных весах WT-50 и WT-500 с точностью до десятых долей миллиграмма, а также на аналитических весах Item PA214C.

Статистическая обработка осуществлялась с помощью Microsoft Office Excel и пакета статистического анализа Statistica.

Результаты исследований и их обсуждение

Связь между линейными размерами тела животных (L) и его весом заключена в уравнении (1), имеющим следующий вид [13]:

$$W = qL^b. \quad (1)$$

В результате взвешивания и измерения длины особей *G. varsoviensis* и *G. lacustris* были получены данные, которые позволили вычислить значения коэффициентов q и b в уравнении зависимости между длиной (L), сырой (W) и сухой (w) массой тела [13].

Канонический анализ Стьюдента по выявлению различий между сырой и сухой массами ($t_{1,89} = 1,65$; $p \leq 0,05$) самцов ($n = 107$) и самок ($n = 105$) для *G. varsoviensis* различий не выявил. Следовательно, все значения были объединены и общие уравнения приняли вид (рис. 1):

$$W = 0,0079 \pm 0,0007 L^{2,9259 \pm 0,0401} \quad (r^2 = 0,86 \pm 0,05; p \leq 0,05);$$

$$w = 0,0048 \pm 0,0009 L^{2,5309 \pm 0,0676} \quad (r^2 = 0,94 \pm 0,02; p \leq 0,05).$$

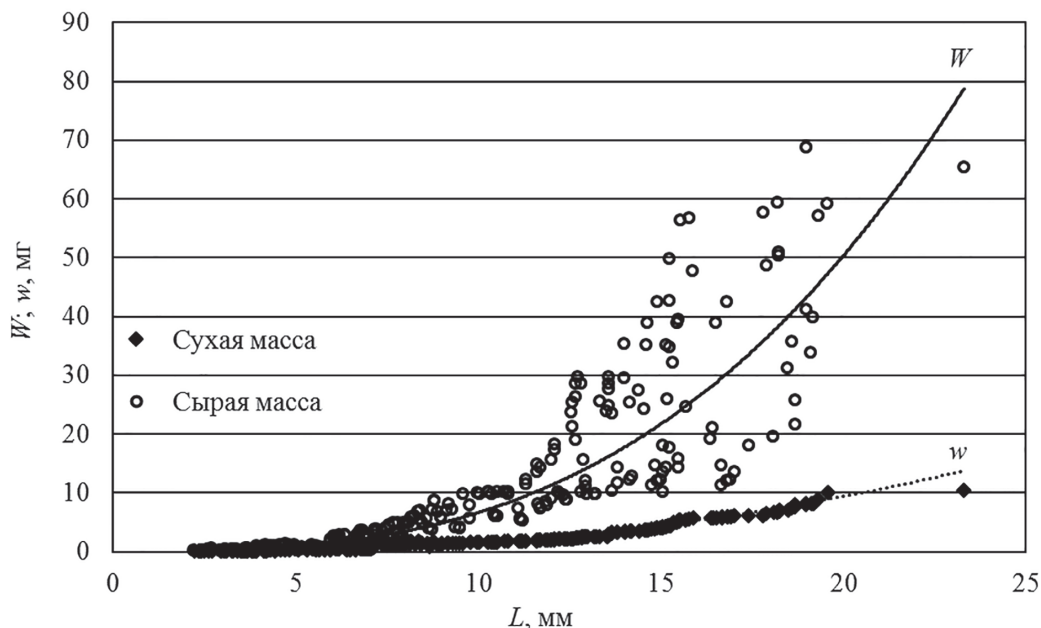


Рис. 1. Зависимость между длиной массы тела особей *G. varsoviensis*

Fig. 1. Dependence between the length of body weight of individuals of *G. varsoviensis*

Литературных сведений по размерно-весовым соотношениям для данного вида не найдено. Таким образом, для *G. varsoviensis* была установлена зависимость сырой и сухой массы от длины тела впервые, что позволяет в дальнейшем рассчитывать величины биомассы и продукции этого вида.

Аналогичные сравнения для самцов ($n = 108$) и самок ($n = 150$) *G. lacustris* выявили значимые статистические различия между сырой ($t_{1,98} = 3,78$; $p \leq 0,05$) и сухой массой ($t_{1,98} = 4,78$; $p \leq 0,05$) тела. В связи с этим полученные данные были разделены по половой принадлежности и использовались в отдельных уравнениях регрессии (рис. 2):

$$\text{Самцы: } W = 0,0698 \pm 0,0059 L^{2,3110 \pm 0,0308} \quad (r^2 = 0,98 \pm 0,02; p \leq 0,05);$$

$$\text{Самцы: } w = 0,0319 \pm 0,0015 L^{2,1088 \pm 0,0184} \quad (r^2 = 0,98 \pm 0,01; p \leq 0,05).$$

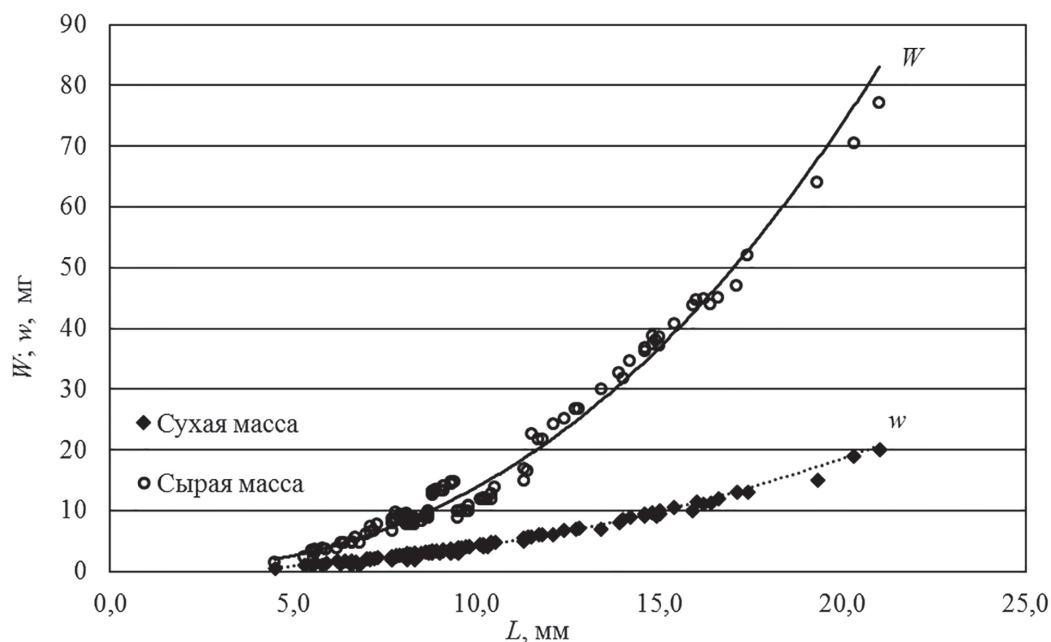


Рис. 2. Зависимость между длиной и массой тела у самцов *G. lacustris*

Fig. 2. Dependence between length and body weight in males *G. lacustris*

У самок коэффициент q немного выше, а b ниже (рис. 3):

$$\text{Самки: } W = 0,0959 \pm 0,0026 L^{2,1955 \pm 0,0118} \quad (r^2 = 0,99 \pm 0,01; p \leq 0,05);$$

$$\text{Самки: } w = 0,0284 \pm 0,0012 L^{2,1357 \pm 0,0156} \quad (r^2 = 0,99 \pm 0,01; p \leq 0,05).$$

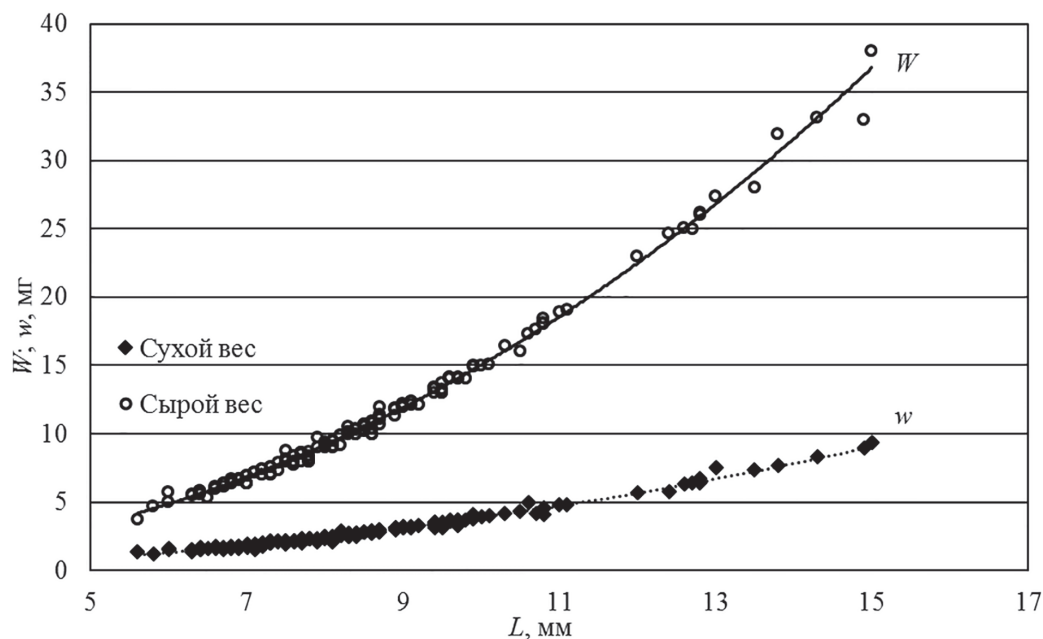


Рис. 3. Зависимость между длиной и массой тела у самок *G. lacustris*

Fig. 3. Dependence between length and body weight in females of *G. lacustris*

Обобщенное уравнение зависимостей сырой и сухой массы от длины для всего размерного диапазона встреченных особей *G. lacustris* имеют следующий вид (рис. 4):

$$W = 0,0819 \pm 0,0032 \cdot L^{2,2553 \pm 0,0152} \quad (r^2 = 0,96 \pm 0,02; p \leq 0,05);$$

$$w = 0,0279 \pm 0,0015 \cdot L^{2,1088 \pm 0,0184} \quad (r^2 = 0,98 \pm 0,02; p \leq 0,05).$$

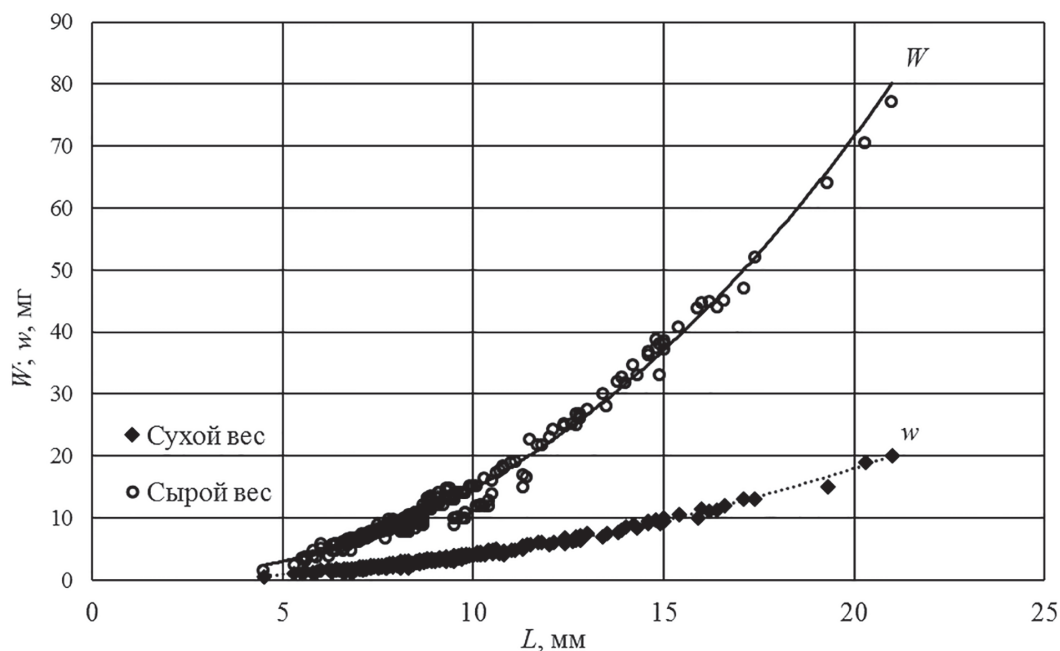


Рис. 4. Общая зависимость между длиной и массой тела *G. lacustris*

Fig. 4. General relationship between length and body weight *G. lacustris*

У отечественных исследователей [14; 15] для оз. Лядские (Беловежская пуца) и ручья Теплый (Камчатка) приводятся данные по половозрелым самкам камчатской популяции. По сырой массе тела самок из оз. Лядские зависимость описывалась уравнением: $W = 0,040L^{2,7}$, для сухой – $w = 0,009L^{2,68}$. Для особей камчатской популяции приводятся следующие уравнения: $W = 0,046 \cdot L^{2,68}$ и $w = 0,006 \cdot L^{2,76}$. Приведенные уравнения из разных и далеко отстоящих местообитаний практически совпадают между собой, но отличаются от полученных нами данных. По нашим обобщенным данным, коэффициент степени несколько понижен, возможно из-за несовпадения размерного диапазона исследуемых особей.

У *G. lacustris* из оз. Шира¹, различий по полу не выявлено, поэтому авторы приводят обобщенное уравнение с коэффициентом q , равным 0,086, и $e - 2,13$ по сырому весу, 0,024 и 1,99 по сухому весу соответственно, что ближе к полученным нами зависимостям. Предполагается, что данное обстоятельство обусловливается выборкой только из одного водоема (Хакасия)²⁻³. В основном небольшие отличия вызваны различным температурным режимом сравниваемых водоемов [16; 17].

Учитывая близкое родство *G. varsoviensis* и *G. lacustris* и их недавнее разделение, нами проведено сравнение собственных данных по этим видам. Между ними имеются достоверные различия по сырой ($t_{1,96} = 2,75$; $p \leq 0,05$) и сухой ($t_{1,96} = 2,45$; $p \leq 0,05$) массе тела при одинаковых размерных группах.

Для *G. pulex* мы не располагали собственными данными, поэтому были использованы сведения по размерам тела животных из английской р. Глиме, протекающей в графстве Оксфордшир, которые представлены нижеприведенными уравнениями:

$$\text{Самцы: } w = 2,51 \pm 0,40 \cdot L^{2,59 \pm 0,19} \quad (r^2 = 0,86 \pm 0,06; p \leq 0,05);$$

$$\text{Самки: } w = 2,48 \pm 1,24 \cdot L^{2,64 \pm 0,62} \quad (r^2 = 0,70 \pm 0,07; p \leq 0,05);$$

$$\text{Ювенильные: } w = 2,51 \pm 0,16 \cdot L^{2,50 \pm 0,16} \quad (r^2 = 0,87 \pm 0,11; p \leq 0,05) \text{ [15].}$$

При установлении размерно-весовых характеристик представителей чужеродных видов амфипод проведена оценка на наличие возможных различий между массами самцов и самок. Во всех случаях статистически значимых различий для сырой ($t_{1,97-3,18} = 0,47-1,81$; $p \leq 0,05$) и сухой ($t_{1,97-3,18} = 0,28-2,53$; $p \leq 0,05$) массы не наблюдалось, данные по разнополым особям были объединены в один массив.

¹Емельянова А. Ю. Некоторые аспекты экологии и питания бокоплава *Gammarus lacustris* Sars из озера Шира (Хакасия) : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.18; Инс-т биофиз. СО РАН. Борок, 2003. 21 с.

²Курина Е. М. Чужеродные виды донных сообществ Куйбышевского и Саратовского водохранилищ: состав, распространение и биология массовых видов : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.10; ИЭВБ РАН. Астрахань, 2014. 24 с.

³ Чужеродные виды в экосистемах южных внутренних морей Евразии : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.18; ИО РАН. Москва, 2009. 57 с.

Соотношения между длиной, сырой и сухой массой особей *C. curvispinum*, *C. robustum*, *E. ischnus*, *E. trichiatus*, *D. villosus*, *D. haemobaphes*, *O. crassus*, *O. obesus* и *P. robustoides*, а также суммарная зависимость (рис. 5) для всех представителей чужеродных видов амфиподофауны Беларуси представлены в табл. 1.

Таблица 1

Коэффициенты и статистические показатели в уравнениях связи между сырой $W = aL^b$, сухой $w = aL^b$ массой тела чужеродных видов амфипод и длиной тела по собственным и литературным данным

Table 1

Coefficients and statistical indicators in the equations of connection between the raw $W = aL^b$, dry $w = aL^b$, the body weight of alien species of amphipods and body length according to their own and literary data

Вид	n	Масса, мг	Коэффициенты уравнения		Статистические показатели	
			$a \pm \Delta_a$	$b \pm \Delta_b$	$r^2 \pm \Delta_r^2$	p
<i>C. curvispinum</i>	300	<i>W</i>	0,0198±0,0004	2,5891±0,0309	0,91±0,03	≤0,05
		<i>w</i>	0,0089±0,0012	2,4762±0,0388	0,92±0,02	≤0,05
<i>C. robustum</i>	74	<i>W</i>	0,0245±0,0046	2,8338±0,0662	0,97±0,01	≤0,05
		<i>w</i>	0,0115±0,0014	2,4362±0,0348	0,95±0,02	≤0,05
<i>C. robustum</i> [19]	—	<i>W</i>	0,0292	2,739	0,98	≤0,05
		<i>w</i>	0,0140	2,339	0,98	≤0,05
<i>E. ischnus</i>	302	<i>W</i>	0,0152±0,0015	2,6733±0,0487	0,90±0,04	≤0,05
		<i>w</i>	0,0039±0,0018	2,7502±0,0331	0,96±0,01	≤0,05
<i>E. ischnus</i> [20]	—	<i>W</i>	0,0130	2,0300	0,99	≤0,05
<i>E. trichiatus</i>	242	<i>W</i>	0,0438±0,0052	2,6079±0,0613	0,98±0,01	≤0,05
		<i>w</i>	0,0199±0,0015	2,4119±0,0342	0,98±0,01	≤0,05
<i>D. villosus</i>	268	<i>W</i>	0,1106±0,0095	2,2644±0,0216	0,98±0,01	≤0,05
		<i>w</i>	0,0312±0,0019	2,2044±0,0251	0,96±0,02	≤0,05
<i>D. haemobaphes</i>	419	<i>W</i>	0,0811±0,0049	2,4331±0,0213	0,96±0,02	≤0,05
		<i>w</i>	0,0320±0,0092	2,2246±0,0201	0,97±0,02	≤0,05
<i>O. crassus</i>	340	<i>W</i>	0,0329±0,0019	2,8328±0,0307	0,94±0,03	≤0,05
		<i>w</i>	0,0110±0,0009	2,5525±0,0149	0,98±0,01	≤0,05
<i>O. crassus</i> [21]	520	<i>W</i>	0,0350	2,7100±0,0170	0,98	≤0,05
<i>O. crassus</i> [22]	—	<i>W</i>	0,0310	2,7400±0,0510	0,98	≤0,05
<i>O. obesus</i>	122	<i>W</i>	0,0200±0,0042	2,4710±0,0653	0,92±0,05	≤0,05
		<i>w</i>	0,0084±0,0012	2,2226±0,0499	0,97±0,02	≤0,05
<i>O. obesus</i> [20]	—	<i>W</i>	0,0190	2,3500±0,0200	0,99	≤0,05
<i>P. robustoides</i>	12	<i>W</i>	0,0616±0,0133	2,5890±0,1385	0,98±0,01	≤0,05
		<i>w</i>	0,0241±0,0168	2,5278±0,1454	0,96±0,02	≤0,05
<i>P. robustoides</i> [20]	—	<i>W</i>	0,0700	2,4800±0,1200	0,99	≤0,05
Общее	2079	<i>W</i>	0,0833±0,0028	2,3649±0,0126	0,90±0,03	≤0,05
		<i>w</i>	0,0179±0,0006	2,4208±0,0126	0,92±0,01	≤0,05
Общее [20]	—	<i>W</i>	0,08	2,44	—	—

Коэффициенты приведенных уравнений схожи или незначительно отличаются от литературных данных. Размерно-весовые показатели *C. robustum*, приведенные для р. Ингулец и оз. Белое [16], *E. ischnus*, *O. obesus* и *P. robustoides* для подогретых вод Трипольской ГРЭС [17], *O. crassus* из Каховского, Киевского [18] и Запорожского водохранилища [2] не показали существенных отличий.

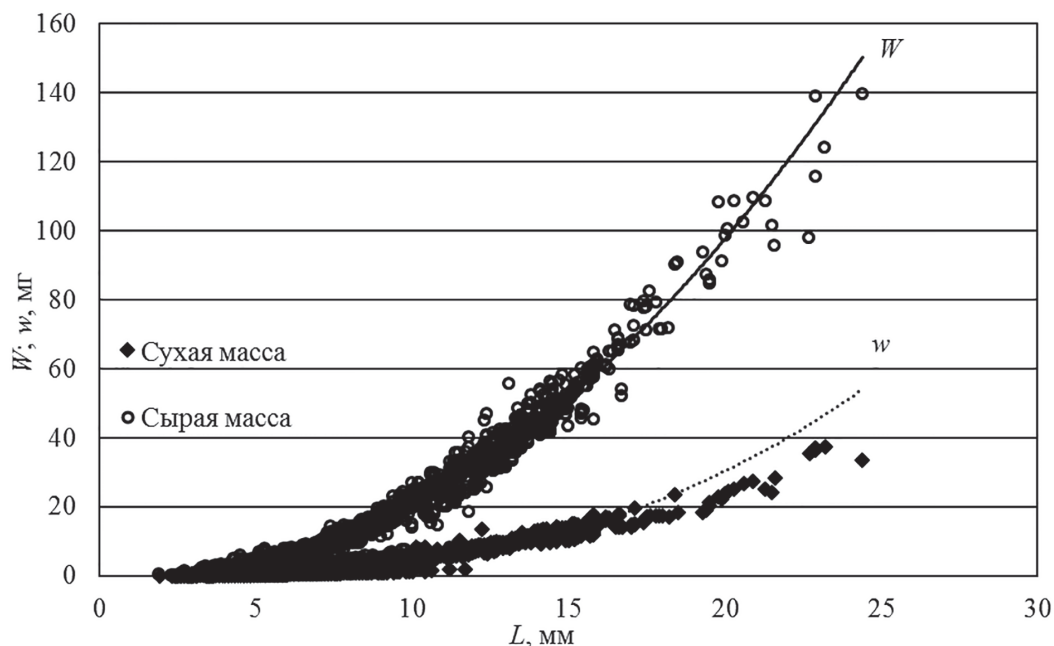


Рис. 5. Общая зависимость между длиной и массой тела чужеродных видов амфипод

Fig. 5. The general relationship between length and body weight of alien species of amphipods

Суммарное уравнение размерно-весовых характеристик чужеродных видов амфипод (рис. 5) незначительно отличается от приводимого в литературе (см. табл. 1). Следует отметить, что ожидалось иные результаты для различных популяций рачков из более прогретых вод рек и водохранилищ, поскольку воздействие [19–20] более высокой температуры приводит к уменьшению размеров тела особей амфипод [21].

Соотношение между сырой и сухой массой тела представителей популяции чужеродных видов амфиподофауны Беларуси *C. curvispinum*, *C. robustum*, *E. ischnus*, *E. trichiatus*, *D. villosus*, *D. haemobaphes*, *O. crassus*, *O. obesus*, *P. robustoides*, а также суммарная зависимость для перечисленных видов представлена в табл. 2.

Таблица 2

Коэффициенты и статистические показатели в уравнениях связи между сухой (w) и сырой (W) массой тела чужеродных видов амфипод и их линейными размерами, $w = aW + b$

Table 2

Coefficients and statistical indices in the equations of connection between dry (w) and raw (W) body weight of alien species of amphipods and their linear dimensions, $w = aW + b$

Вид	n	Коэффициенты уравнения		Статистические показатели	
		$a \pm \Delta_a$	$b \pm \Delta_b$	$r^2 \pm \Delta_r^2$	p
<i>C. curvispinum</i>	300	$0,3467 \pm 0,0178$	$0,0412 \pm 0,0048$	$0,89 \pm 0,04$	$\leq 0,05$
<i>C. robustum</i>	74	$0,2066 \pm 0,0253$	$0,0776 \pm 0,0142$	$0,95 \pm 0,03$	$\leq 0,05$
<i>C. robustum</i> [19]	—	0,1980	0,0500	0,98	$\leq 0,05$
<i>E. ischnus</i>	302	$0,2902 \pm 0,0476$	$0,0239 \pm 0,0080$	$0,91 \pm 0,02$	$\leq 0,05$
<i>E. trichiatus</i>	242	$0,2428 \pm 0,0378$	$1,0639 \pm 0,0231$	$0,95 \pm 0,01$	$\leq 0,05$
<i>D. villosus</i>	268	$0,2433 \pm 0,0172$	$-0,0189 \pm 0,0094$	$0,91 \pm 0,02$	$\leq 0,05$
<i>D. haemobaphes</i>	419	$0,2242 \pm 0,0293$	$0,3712 \pm 0,0147$	$0,96 \pm 0,02$	$\leq 0,05$
<i>O. crassus</i>	340	$0,1528 \pm 0,0211$	$0,3156 \pm 0,0151$	$0,94 \pm 0,03$	$\leq 0,05$
<i>O. obesus</i>	122	$0,2169 \pm 0,0394$	$0,0907 \pm 0,0089$	$0,95 \pm 0,02$	$\leq 0,05$
<i>P. robustoides</i>	12	$0,3163 \pm 0,0356$	$0,3636 \pm 0,0632$	$0,93 \pm 0,04$	$\leq 0,05$
Общее	2079	$0,2455 \pm 0,0087$	$0,0212 \pm 0,0016$	$0,96 \pm 0,01$	$\leq 0,05$

Анализ результатов по соотношениям между сырой и сухой массой тела для чужеродных видов, а также сравнение с другими регионами не представляется возможным из-за недостаточности литературных данных по этим видам. Имеющиеся сведения для *C. robustum* из р. Ингулец и оз. Белое [17], не отличаются от полученных нами.

Заключение

Впервые для 9 чужеродных и 3 аборигенных видов разноногих ракообразных, обитающих на территории Беларуси, рассчитаны связи линейных и весовых параметров. Полученные данные не показали существенных отличий коэффициентов в уравнениях от приводимых в литературных источниках для их естественного ареала.

Для двух аборигенных видов *G. varsoviensis* и *G. lacustris* из водоемов Беларуси впервые установлены зависимости сырой и сухой массы от длины тела. Между этими видами имеются достоверные различия по сырой ($t_{1,96} = 2,75$; $p \leq 0,05$) и сухой ($t_{1,96} = 2,45$; $p \leq 0,05$) массе тела. Полученные уравнения этих близкородственных видов отличаются между собой, а также отличаются от литературных данных, что требует дальнейшего анализа в водоемах Беларуси.

Библиографические ссылки

1. Семенченко В. П., Вежновец В. В., Липинская Т. П. Чужеродные виды понто-каспийских амфипод (Crustacea, Amphipoda) в бассейне реки Днепр (Беларусь) // Рос. журн. биол. инвазий. 2013. № 3. С. 88–97.
2. Суценья Л. М., Семенченко В. П., Вежновец В. В. Биология и продукция ледниковых реликтовых ракообразных. Минск, 1986.
3. Гигиняк Ю. Г., Мороз М. Д. Экологические и биотопические особенности реликтовой амфиподы *Synurella ambulans* из родников Беларуси // Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2000. Т. 44, № 5. С. 81–83.
4. Jazdzewski K. Remarks on *Gammarus lacustris* G. O. Sars, 1863, with description of *Gammarus varsoviensis* n. sp. (Crustacea, Amphipoda) // Bijdragen tot de dierkunde. 1975. Vol. 45, № 1. P. 71–86.
5. Осветительная установка для микроскопа бинокулярного стереоскопического : полез. модель BY 10705 / А. И. Макаренко, В. В. Вежновец, Т. В. Макаренко; опубл. 30.06.2015.
6. Светодиодное устройство освещения микроскопической техники с изменяемым спектром свечения : полез. модель BY 10668 / А. И. Макаренко, Т. В. Макаренко; опубл. 30.06.2015.
7. Определитель фауны Черного и Азовского морей : в 3 т. / под общ. ред. Ф. М. Мордухай-Болтовского. Киев, 1969. Т. 2 : Свободноживущие беспозвоночные.
8. Eggers T., Martens A. A key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany // Lauterbornia. 2001. № 4. P. 1–68.
9. Асочаков А. А. К методике измерения длины тела амфипод // Гидробиол. журнал. 1993. Т. 29, № 2. С. 90–94.
10. Способ определения длины криволинейного биологического микрообъекта : пат. BY 21556 / А. И. Макаренко, В. В. Вежновец; опубл. 28.02.2018.
11. Berezina N. A. Invasions of alien amphipods (Amphipoda: Gammaridea) in aquatic ecosystems of North-Western Russia: pathways and consequences // Hydrobiologia. 2007. Vol. 590, issue. 1. P. 15–29. DOI: 10.1007/s10750-007-0753-z
12. Остапеня А. П., Лебедева Л. И., Павлютин А. П. Биомасса и способы ее выражения // Методы определения продукции водных животных. Минск, 1968. С. 20–44.
13. Винберг Г. Г., Печень Г. А. Рост, скорость развития и плодовитость в зависимости от условий среды // Методы определения продукции водных животных. Минск, 1968. С. 45–77.
14. Михалевич Т. В. Размерно-весовая характеристика *Gammarus lacustris* Sars (Crustacea, Amphipoda) из разных зон обитания // Вопросы экспериментальной зоологии: труды науч. конф. (25 дек. 1981 г.). Минск, 1983. С. 18–22.
15. Gee J. H. R. Population dynamics and morphometrics of *Gammarus pulex* L.: evidence of seasonal food limitation in a freshwater detritivore // Freshwat. Biol. 1988. Vol. 19, issue 3. P. 333–343.
16. Борткевич Л. В., Хмелева Н. Н., Садовская Н. И. Экологическая характеристика, калорийность и продукция *Corophium robustum* G.O. Sars (Amphipoda, Corophiidae) из низовий Днепра // Гидробиол. журнал. 1984. Т. 20, № 2. С. 89–94.
17. Кутницкая Л. А. Эколого-физиологические особенности бокоплава *Dikerogammarus haemobaphes* (Eich.) в районе сброса подогретых вод Трипольской ГРЭС // Гидробиол. журнал. 1980. Т. 16, № 2. С. 90–94.
18. Ковальчук Т. В. Соотношение веса и линейных размеров бокоплавов *Pontogammarus maeoticus* (Sow.) и *P. crassus* (G. O. Sars) // Гидробиол. журнал. 1972. Т. 8, № 2. С. 76–77.
19. Журавель П. А., Золотарева В. И. Размерно-весовая характеристика бокоплава *Pontogammarus crassus* (Grimm) Martinov из Запорожского водохранилища // Гидробиол. журнал. 1972. Т. 8, № 4. С. 80–82.
20. Хмелева Н. Н., Голубев А. П. Продукция кормовых и промысловых ракообразных (генеративная и экзувальная). Минск, 1985.
21. Иоффе Ц. И. Обогащение кормовой базы для рыб в водохранилищах СССР путем акклиматизации беспозвоночных // Известия гос. НИИ озерного и речного рыб. хоз-ва. 1974. Т. 100. С. 3–226.

References

1. Semenchenko V. P., Vezhnovec V. V., Lipinskaya T. P. [Alien species of the Ponto-Caspian amphipods (Crustacea, Amphipoda) in the Dnipro river basin (Belarus)]. *Russian J. of Biological Invasions*. 2013, No. 3, P. 88–97 (in Russ.).
2. Sushchenya L. M., Semenchenko, V. P., Vezhnovets V. V. [Biology and production of glacial relic crustaceans]. Minsk, 1986. (in Russ.).

3. Giginyak Yu. G., Moroz M. D. [Ecological and biotopic features of the relict amphipod *Synurella ambulans* from the springs of Belarus]. *Reports of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2000. Vol. 44, No. 5, P. 81–83 (in Russ.).
4. Jazdzewski K. Remarks on *Gammarus lacustris* G.O. Sars, 1863, with description of *Gammarus varsoviensis* n. sp. (Crustacea, Amphipoda). *Bijdragen tot de dierkunde*. 1975. Vol. 45. No. 1. P. 71–86.
5. [Lighting system for a binocular stereoscopic microscope]: utilitu model 10705 BY / A. I. Makarenko, V. V. Vezhnovets; publ. 30.06.2015 (in Russ.).
6. [LED lighting device for microscopic technology with variable spectrum of luminescence]: utilitu model 10668 BY / A. I. Makarenko, T. V. Makarenko; publ. 30.06.2015 (in Russ.).
7. Mordukhai-Boltovskii F. M. (ed.). *The determinant of the fauna of the Black and Azov Seas*. Vol. 2. Kiev, 1969. (in Russ.).
8. Eggers T., Martens F. A key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany. *Lauterbornia*. 2001. No. 2. P. 1–68.
9. Asochakov A. A. [To the method of measuring the length of the amphipod body]. *Hydrobiological J.* 1993. Vol. 29, No. 2. P. 90–94 (in Russ.).
10. [Method for determining the length of a curvilinear biological microobject]: pat. 20140604 BY / A. I. Makarenko, V. V. Vezhnovets; publ. 28.02.2018 (in Russ.).
11. Berezina N. A. Invasions of alien amphipods (Amphipoda: Gammaridea) in aquatic ecosystems of North-Western Russia: pathways and consequences. *Hydrobiologia*. 2007. Vol. 590, issue 1. P. 15–29. DOI:10.1007/s10750-007-0753-z
12. Ostapenya A. P., Lebedeva L. I., Pavlyutin A. P. [Methods for determining the production of aquatic animals]. Minsk, 1968. P. 20–44 (in Russ.).
13. Winberg G. G. (ed.), Petshen G. A. [Growth, developmental rate and fecundity depending on environmental conditions]. Ch. 3. Minsk, 1968. P. 45–77 (in Russ.).
14. Mihaevich T. V. [Dimensional weight characteristic of *Gammarus lacustris* Sars (Crustacea, Amphipoda) from different habitats]. *Questions of experimental zoology: proceedings of scientific. conf.* (Dec. 25, 1981). Minsk. 1983. P. 18–22 (in Russ.).
15. Gee J. H. R. Population dynamics and morphometrics of *Gammarus pulex* L.: evidence of seasonal food limitation in a freshwater detritivore. *Freshwater Biol.* 1988. Vol. 19, No. 3. P. 333–343.
16. Bortkevich L. V. [Ecological characteristics, caloric content and products of *Corophium robustum* G.O. Sars (Amphipoda, Corophiidae) from the lower reaches of the Dnieper]. *Hydrobiological J.* 1984. Vol. 20, No. 2. P. 89–94 (in Russ.).
17. Kiticyna L. A. [Ecological and physiological features of the amphipod *Dikerogammarus haemobaphes* (Eich.) in the region of discharge of heated waters of the Tripolskaya GRES]. *Hydrobiological J.* 1980. Vol. 16, No. 4. P. 77–85 (in Russ.).
18. Kovalchuk T. V. [The ratio of weight and linear dimensions of the *Pontogammarus maeoticus* (Sow.) and *P. crassus* (G. O. Sars) bokoplavs]. *Hydrobiological J.* 1972. Vol. 8, No. 2, P. 76–77 (in Russ.).
19. Zhuravel P. A., Zolotareva V. I. [Dimensional weight characteristic of *Pontogammarus crassus* (Grimm) Martinov from Zaporizhzhya reservoir]. *Hydrobiological J.* 1972. Vol. 8, No. 4. P. 80–82 (in Russ.).
20. Khmeleva N. N., Golubev A. P. [Production of fodder and commercial crustaceans (generative and exuvial)]. Minsk, 1985 (in Russ.).
21. Ioffe C. I. [Enrichment of the fodder base for fish in the reservoirs of the USSR by acclimatization of invertebrates]. *Proceedings of the State Research Institute of Lake and River Fisheries*. 1974. Vol. 100. P. 3–226 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 14.11.2018
Received by editorial board 14.11.2018

УДК 574.587:591.9 (210.5):591.65:595.371.13/15(476)

БИОТОПИЧЕСКАЯ ПРИУРОЧЕННОСТЬ ЧУЖЕРОДНЫХ И НАТИВНЫХ ВИДОВ РАЗНОНОГИХ РАКООБРАЗНЫХ (AMPHIPODA, CRUSTACEA) В УСЛОВИЯХ ВОДОЕМОВ БЕЛАРУСИ

А. И. МАКАРЕНКО¹⁾, В. В. ВЕЖНОВЕЦ¹⁾

¹⁾Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Впервые для аборигенных и чужеродных видов разноногих ракообразных определены величины их встречаемости в бассейнах основных рек Беларуси. Наиболее заселен чужеродными видами бассейн реки Припять, наименее – Немана. В р. Западная Двина на территории Беларуси чужеродные виды не найдены. По встречаемости аборигенных видов на первом месте бассейн р. Припять, а затем Западная Двина и Неман. Определено, что наиболее встречаемым из чужеродных видов является *Dikergammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841), а из нативных – *Gammarus varsoviensis* (Jazdzewski, 1975). В пределах Беларуси все чужеродные виды приурочены к текущим водам, а нативные встречаются как лентических, так и лотических экосистемах. Выделены основные типы биотопов, в которых обитают равноногие ракообразные. Количество местообитаний, заселяемое чужеродными видами амфипод, разнообразнее, чем у аборигенных видов (представители нативной фауны отмечены только в 4-х, а чужеродные в 10-ти биотопах). Большая эвритопность инвазивных видов может служить предпосылкой успешности колонизации новых местообитаний. Установлено, что биотопическая приуроченность зависит от возрастной структуры популяции в конкретном местообитании. Наибольшая разница в средних размерах тела чужеродных видов наблюдается между растительными и твердо-субстратными биотопами. Вне зависимости от происхождения видов для молоди предпочитаемыми биотопами являются заросли высшей водной растительности.

Ключевые слова: амфиподы; ракообразные; нативные виды; чужеродные виды; встречаемость; размеры особей; биотопы; биотопическая приуроченность.

Благодарность. Работа частично поддержана грантами БРФФИ № Б18М-094 и Б18МС-16.

BIOTOPIC CONFINEMENT OF ALIEN AND NATIVE SPECIES OF DIFFERENT-LEGGED CRUSTACEANS (AMPHIPODA, CRUSTACEA) IN THE CONDITIONS OF WATERBODIES OF BELARUS

A. I. MAKARANKA^a, V. V. VEZHNAVETS^a

^aScientific and Practical Center of the National Academy of Sciences for Bioresources,
Academicheskaya street, 27, 220072, Minsk, Belarus
Corresponding author: A. I. Makaranka (amakarenko198989@mail.ru)

For the first time, for aboriginal and alien species of different-legged crustaceans, the values of their occurrence in the basins of the main rivers of Belarus were determined. The most inhabited by alien species is the Pripyat River Basin, the

Образец цитирования:

Макаренко А. И., Вежновец В. В. Биотопическая приуроченность чужеродных и нативных видов разноногих ракообразных (Amphipoda, Crustacea) в условиях водоемов Беларуси // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 29–41.

For citation:

Makaranka A. I., Vezhnavevts V. V. Biotopic confinement of alien and native species of different-legged crustaceans (Amphipoda, Crustacea) in the conditions of waterbodies of Belarus. *State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 29–41 (in Russ.).

Авторы:

Андрей Игоревич Макаренко – магистр биологических наук, научный сотрудник.

Василий Васильевич Вежновец – кандидат биологических наук, доцент; ведущий научный сотрудник.

Authors:

Andrei I. Makaranka, master of biological sciences, researcher. amakarenko198989@mail.ru

Vasil V. Vezhnavevts, PhD (biology), associate professor; leading researcher. vezhn47@mail.ru

aboriginal species in the first place is the basin of the r. Pripyat, and then Zap. Dvina and Neman. It was determined that the most common of alien species is *Dikerogammarus haemobaphes* [Eichwald, 1841], and of the native species – *Gammarus* least – the Neman River. In r. Western Dvina on the territory of Belarus alien species were not found. The occurrence of *varsoviensis* [Jazdzewski, 1975]. Within Belarus, all alien species are confined to flowing waters, and native species are found as lentic, and they are found as lent sets, as well as those that are found in the same way that they are found in lectures, and they are found as lent sets. The main types of biotopes in which isopod crustaceans are found. The number of habitats inhabited by alien species of amphipods is more diverse than that of native species: representatives of the native fauna are noted only in 4, and alien species in 10 biotopes. The large eurytopic character of invasive species may be a prerequisite for the success of the colonization of new habitats. It was established that the biotopic confinement depends on the age structure of the population in a specific habitat. The greatest difference in the average body size of alien species is mainly observed between plant and solid-substrate biotopes. Regardless of the origin of species for juveniles, preferred habitats are overgrown with higher aquatic vegetation.

Key words: amphipods; crustaceans; native species; alien species; frequency; size of individuals; biotopes; biotopic confinement.

Acknowledgment. Research work was partly supported by Belarusian Republican Fund of Fundamental Research No. B18M-094 and No. B18MC-16.

Введение

Пространственная структура видовых популяций является одной из характеристик их экологических ниш. Известно, что в каждом конкретном водоеме и даже местообитании создается ряд абиотических и биотических условий, способных влиять на размещение животных. Особенности некоторых видов является оседлость, а других – активное перемещение в водоеме между различными биотопами в поисках пищи или оптимальных абиотических условий. Кроме того, разные возрастные группы могут иметь разную пространственную структуру в водоеме, то есть менять свою биотопическую приуроченность в процессе роста и развития и в течение вегетационного сезона. Все это влияет на размерный состав животных в тех или иных местообитаниях. Благодаря пространственному разделению ниш и различных условий обитания иногда наблюдается сосуществование между близкими видами в одном местообитании.

Конкурентные взаимодействия между аборигенными и чужеродными видами обычно рассматриваются с позиций теории экологической ниши, трофической интерференции или вытеснения за счет более высоких скоростей воспроизводства. Известно, что понто-каспийские вселенцы часто занимают уже нарушенную природные экосистемы, где в силу произошедших изменений параметров среды обитания появляются свободные экологические ниши, которые уже не могут заполнить аборигенные виды. Есть и противоположная точка зрения, согласно которой в процессе колонизации чужеродные виды вступают в конкурентные отношения с нативной фауной, что является причиной трансформации экологических ниш аборигенных видов [1].

Цель исследования: установить частоту встречаемости и степень биотопической приуроченности нативных и чужеродных видов амфипод в условиях белорусских лотических и лентических экосистем.

Материал и методы исследования

В 2011–2017 гг. обследованы речные бассейны Днепра, Припяти, Немана, Западной Двины и Западного Буга, которые находились во всех областях Республики Беларусь. Отобраны пробы в основных водотоках и водоемах страны: реках (Мухавец, Пина, Припять, Днепр ниже, Неман, Сож, Западная Двина, Западный Буг), канале Днепро-Бугский и др., а также в озерных комплексах Браславского, Ушачского, Верхнедвинского и других р-нов Витебской обл. Наряду с крупными водотоками и водоемами включались притоки второстепенного значения и канализированные системы, имеющие прямую или косвенную связь с ними.

В общей сложности исследовано 342 места отбора проб, среди которых 156 характеризовались отсутствием как чужеродных, так и нативных видов амфипод, либо численностью особей, низкой для их обнаружения при разовых сборах. На 138 обнаружены нативные виды, 48 характеризовались присутствием чужеродных видов амфипод.

При отборе проб использовались следующие способы:

1. Основным или стандартным биотопом было определено заросшее высшей водной растительностью побережье, где производили отбор как количественных, так и качественных проб гидробиологическим сачком по стандарту ISO 7828 (в прибрежной зоне 5–10 м вдоль береговой линии, на глубине 0,2–0,7 м).

2. Ручной сбор материала производился вдоль берега водоема, в основном в прибрежной растительности и на открытых участках. Особи собирались с различного рода погруженных твердых субстратов со стороны дна или в расщелинах (камней, коряг, моллюсков, комьев грунта и др.), которые они использовали в качестве убежища.

3. Лов тралом салазочного типа (размер створа трала 50×30 см) использовался для взятия качественных проб с больших глубин, либо на достаточно удаленных от береговой линии местах.

4. Отбор проб дночерпателем Петерсена производили на больших глубинах и русловых частях рек. Штанговый дночерпатель с площадью облова 1/40 м² использовался в тех местах, где отсутствовала возможность количественного или качественного отбора сачком, в основном, на гравийно-булыжниковом субстрате, а также на мелководьях с плотными грунтами.

Отобранный грунт промывали через сито из мельничного газа с ячейей не более 500 мкм. Образцы исследуемого материала помещали в герметичные пластиковые емкости, после чего производилась их предварительная фиксация 10 %-ным раствором формалина или 70 %-ным раствором этилового спирта.

Отобранные пробы обрабатывали в лабораторных условиях с помощью бинокулярного микроскопа МБС-10 при увеличении от х8 до х56, доработанного автором согласно запатентованному образцу [2; 3]. Таксономическая идентификация чужеродных видов проводилась при помощи «Определителя фауны Черного и Азовского морей» [4], нативных – «A key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany» [5] и «Remarks on *Gammarus lacustris* G.O. Sars, 1863, with description of *Gammarus varsoviensis* n. sp. (Crustacea, Amphipoda)» [6].

Общая длина амфипод особей измерялась по методике, предложенной А. А. Асочаковым, как расстояние вдоль дорзальной стороны тела, от дистального конца рострума до основания тельсона [7]. Авторами данной работы использовался оригинальный, не описанный ранее в литературе метод [8], который позволяет проводить измерения на ПЭВМ, без выпрямления объекта [7].

Все виды были встречены в разных местообитаниях, которые разделены на 10 условных биотопов: 1) губка (ГУБ), 2) заросли высшей водной растительности (ВВР), 3) каменистый (КАМ), 4) комья глины (ГЛИ), 5) корни трав и прибрежных деревьев (КТД), 6) коряжный (КОР), 7) песчаный (ПЕС), 8) живые моллюски и их раковины (МОЛ), 9) роголистник (РОГ), 10) комья торфа (ТРФ). Для некоторых из этих местообитаний требуются уточнения расположения животных. В губке животные обитали в полостях тела. В комьях глины и торфа в прибрежье они встречались в трещинах, внутренних полостях и ходах, сделанных минирующими формами зообентоса. В песке и мелких камнях до 2–5 см были в интерстициали, в более крупных камнях, на поверхностях обращенных ко дну и расщелинах. В большинстве случаев поселения встречались среди отмерших двустворчатых моллюсков (беззубка обыкновенная (*Anodonta cygnea* L.) и перловица обыкновенная (*Unio pictorum* L.)), реже в обрастаниях на створках крупных форм, иногда в плотных поселениях брюхоногих моллюсков (прудовик обыкновенный (*Limnaea stagnalis* L.), живородка речная (*Viviparus viviparus* L.), катушка окаймленная (*Planorbis planorbis* L.)) и даже под крышечкой их раковины. Зарослевые биотопы характеризовались набором прибрежной погруженной и полупогруженной растительности, отдельно выделены моновидовые заросли роголистника. Корни трав и прибрежных деревьев как отдельный биотоп образуется после понижения уровня воды за счет нагонных явлений в стоячих водоемах и течения в текущих водах при вымывании из корней почвы. В корягах (затопленные останки деревьев разной степени разложения) животные в больших количествах встречаются под корой и в повреждениях ствола.

Встречаемость вида в биотопах определяли как отношение числа конкретных биотопов, в которых вид встретился, к общему числу биотопов для данного вида.

Показатель степени биотопической приуроченности рассчитывался по формуле 1, предложенной Ю. А. Песенко в 1982 г. [9]. Этот показатель учитывает долю вида в структуре сообщества разных мест обитания и не требует равного объема исследований. Рассчитанная таким образом величина показывает относительную биотопическую приуроченность и изменяется от минус 1 (вид отсутствует) до плюс 1 (вид встречается только здесь), отрицательные величины указывают на избегание, а положительные предпочтение, нулевые и близкие к нему значения свидетельствуют о «безразличности»:

$$F_j = \frac{n_j \times N - n_i \times N_j}{n_j \times N + n_i \times N_j - 2n_j \times N_j}, \quad (1)$$

где n_{ij} – число особей i -го вида в j -ой выборке (биотопе) общей численностью N_j ; n_i – число особей этого вида во всех сборах общей численностью N .

При сравнении двух независимых выборок применяли тест Стьюдента для независимых выборок, а при классификации данных применялся кластерный анализ (Эвклидово расстояние). Статистическая обработка осуществлялась с помощью Microsoft Office Excel и пакета статистического анализа Statistica.

Результаты исследований и их обсуждение

В водоемах и водотоках Республики Беларусь зарегистрировано 9 чужеродных видов [10] и 6 аборигенных видов разноногих ракообразных [10; 11]. Чужеродными являются: *Echinogammarus ischnus* (Stebbing, 1899), *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932), *Chelicorophium curvispinum* (G. O. Sars, 1895), *Chelicorophium robustum* (G. O. Sars, 1895), *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841), *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), *Obesogammarus crassus* (G. O. Sars, 1894), *Obesogammarus obesus* (G. O. Sars, 1896) и *Pontogammarus robustoides* (G. O. Sars, 1894) [10; 12]. Среди аборигенных видов наиболее распространены *Gammarus lacustris* Sars, 1863 и *Gammarus varsoviensis* Jazdzewski, 1975 [10; 11]. Вид *Gammarus pulex* (Linnaeus, 1758) в исследованиях нами не отмечен. Виды реликтового происхождения *Pallaseopsis quadrispinosa* (G. O. Sars, 1867) и *Monoporeia affinis* (Lindström, 1855) относятся к холодолюбивой фауне и заселяют профундаль чистых мезотрофных озер [11], а *Stygobromus ambulans* (F. Müller, 1846) [11; 13] относится к редким видам, населяет в основном холодные воды и чаще встречается в природниковых водоемах, ручьях и реках с родниковым питанием. Поскольку, они занимают специфические местообитания и нами в данном сообщении не рассматриваются.

Встречаемость нативных и чужеродных видов бокоплавов в основных речных бассейнах. Нативные виды амфипод отличаются по обитанию в лимнических и лотических экосистемах (табл. 1). По встречаемости *G. varsoviensis* относится к речным видам, а *G. lacustris*, хотя и может жить в реках, но в большинстве случаев найден в озерах. Исходя из литературных сведений и неопубликованных данных В. В. Вежновца, о находке *G. pulex* в маленьком родниковом притоке р. Западная Двина, его следует считать обитателем малых рек и ручьев и придаточных водоемов.

Таблица 1

Частота встречаемости (%) нативных видов в текущих и стоячих водах бассейнов основных рек Беларуси

Table 1

Frequency of occurrence (%) of native species in flowing and standing waters of the basins of the main rivers of Belarus

Экосистемы	Речной бассейн	Вид	
		<i>G. varsoviensis</i>	<i>G. lacustris</i>
Озерные экосистемы (n = 30)	р. Неман	—	3,5
	р. Припять	—	0,7
	р. Западный Буг	—	0,7
	р. Западная Двина	—	16,3
Среднее		—	5,3
Речные экосистемы (n = 141)	р. Неман	17,1	4,4
	р. Сож	8,5	2,1
	р. Днепр	4,9	2,1
	р. Припять	21,3	5,7
	р. Западный Буг	7,1	1,4
	р. Западная Двина	2,8	1,4
Среднее		10,3	2,8

Частота находок *G. lacustris* почти в два раза выше в стоячих водоемах, в основном это озера бассейна р. Западная Двина. Из рек он чаще встречался в притоках второстепенного порядка и канализированных системах бассейна реки Припять и Западный Буг, вероятно, за счет более тщательного обследования. *G. varsoviensis* не найден в лотических экосистемах, в текущих водах его встречаемость в три раза выше, чем у предыдущего вида. Обращает на себя внимание высокая величина встречаемости *G. lacustris* в бассейне Припяти, основное русло которой заселили чужеродные виды. Это обусловливается обнаружением его в многочисленных обследованных притоках, куда еще не проникла чужеродная фауна.

В пределах Беларуси все чужеродные виды приурочены к текущим водам (табл. 2). Наиболее заселен ими Днепр, где найдены все виды, потом Припять, где не обнаруживается только *E. trichiatus*. В Соже из имеющихся видов не найдено два – к указанному *E. trichiatus* добавляется еще и *C. robustum*. В бассейне Западного Буга регистрируются только 4 вида, а в Немане только *C. curvispinum*.

Таблица 2

Частота встречаемости чужеродных видов (%) в различных речных бассейнах

Table 2

Frequency of occurrence of alien species (%) in various river basins

Вид	Речной бассейн (n = 151)					Среднее
	р. Припять	р. Днепр	р. Сож	р. Западный Буг	р. Неман	
<i>C. curvispinum</i>	8,6	3,9	1,9	1,4	0,7	3,3
<i>C. robustum</i>	1,9	0,8	—	—	—	1,4
<i>D. haemobaphes</i>	9,9	13,9	3,3	1,3	—	7,1
<i>D. villosus</i>	6,6	3,9	3,3	0,8	—	3,7
<i>E. ischnus</i>	7,3	3,3	1,9	1,4	—	3,5
<i>E. trichiatus</i>	—	0,8	—	—	—	0,8
<i>O. crassus</i>	7,3	3,3	1,9	—	—	4,2
<i>O. obesus</i>	2,6	1,9	1,9	—	—	2,1
<i>P. robustoides</i>	1,4	1,4	1,4	—	—	1,4
Среднее	5,7	3,7	2,2	1,2	0,7	—

Наиболее распространенный во всех водотоках вид *D. haemobaphes*, затем следуют *O. crassus*, *C. curvispinum*, *D. villosus* и *E. ischnus*, которые имеют близкие величины встречаемости. С малой вероятностью в бассейнах наших рек можно встретить *C. robustum* и *P. robustoides*. Чаше чужеродные виды обнаруживаются в Припяти и совсем редко в Немане.

Встречаемость в биотопах и степень биотопической приуроченности аборигенных видов. Поскольку *G. varsoviensis* и *G. lacustris* достаточно близки по биологии, то в основном, при выборе местообитания, они отдают свое предпочтение в речных экосистемах 4 обособленным биотопам: 1) КАМ; 2) КОР; 3) КТД; 4) ВВР. В связи с отсутствием в озерных экосистемах течения, обнажение корней растений иногда наблюдается в прибойной зоне. Однако в период основных сборов в летнюю межень эти обнажения, как правило, не заливаются водой, поэтому для *G. lacustris* они нами не приняты во внимание при рассмотрении его основных биотопов. Таким образом, для этих видов выделены 4 основных биотопа для речных и 3 в озерных экосистемах.

Встречаемость нативных видов в различных экосистемах выражена следующими рядами (нижний индекс – процент встречаемости в биотопе):

<i>G. varsoviensis</i>	ВВР _{61,5 %} > КАМ _{18,5 %} > КОР _{12,9 %} > КТД _{7,1 %}
<i>G. lacustris</i> (речные экосистемы)	ВВР _{43,8 %} > КОР _{29,8 %} > КТД _{21,4 %} > КАМ _{5,0 %}
<i>G. lacustris</i> (озерные экосистемы)	ВВР _{49,1 %} > КАМ _{39,2 %} > КОР _{11,7 %}
<i>G. lacustris</i> (общее)	ВВР _{47,0 %} > КАМ _{25,9 %} > КОР _{18,8 %} > КТД _{8,3 %}

В речных экосистемах *G. lacustris* в основном предпочитает селиться в зарослях водной растительности и затопленных корягах, реже встречается в корнях трав. Единичные особи отмечаются на каменистом субстрате. В озерных экосистемах ситуация иная: особи встречаются в сходных количествах как на каменистом субстрате, так и в прибрежной растительности. Наименьшее их количество обитает в корягах.

Наиболее характерным биотопом для *G. varsoviensis* также являются заросли высшей водной растительности, предпочтительно с наименее заиленным, песчаным дном, либо твердым субстратом. Однако как укрытие он может часто использовать каменистые участки дна либо насыпи техногенных камней (в основном находятся на месте автомобильных и железнодорожных мостов) и углубления в затопленных корягах, реже в этом качестве использует обнаженные в прибрежье, свободные от почвы, омываемые корни трав и кустарников [14]. По обобщенным данным оба вида имеют одинаковый порядок заселения изученных субстратов от наибольшего распространения в зарослях высшей водной растительности до редких находок в корнях трав и кустарников.

Степень биотопической приуроченности рассчитанная для нативных видов *G. varsoviensis* и *G. lacustris* показывает (табл. 3), что первый вид предпочитает селиться в прибрежной растительности, в равной степени избегая каменистый и коряжные биотопы. К корням трав относится нейтрально. У *G. lacustris*, ситуация противоположная. Наиболее предпочтительней он относится к каменистому и коряжному биотопам, избегая при этом растительный. Корням трав, как и предыдущий вид, не отдает каких-либо предпочтений.

Таблица 3

Степень биотопической приуроченности нативных видов амфипод

Table 3

The degree of biotopic confinement of native amphipod species

Вид	Биотоп			
	КАМ	КОР	КТД	ВВР
<i>G. varsoviensis</i>	–0,08	–0,08	–0,03	0,11
<i>G. lacustris</i>	0,14	0,14	0,06	–0,19

Несовпадение по встречаемости и степени биотопической приуроченности могут свидетельствовать о неполном совпадении экологических ниш для этих видов.

Для *G. pulex* известны только литературные данные, где указывается, что в основном [15] он встречается в каменистых и растительных биотопах среди таких зарослей, как *Ranunculus penicillatus* var. *vertumnus* (R.W. Butcher) C. D. K. Cook, 1888 [16], *Callitriche stagnalis* Scop, 1831, *Rorippa nasturtium-aquaticum* (L.) Hayek, 1905. Приводимые сведения указывают на обитание этого вида большей частью в быстрых реках и ручьях [15].

Встречаемость в биотопах и степень биотопической приуроченности чужеродных видов. Чужеродные виды предпочитают селиться в биотопах, которые наиболее подходят им по пищевой обеспеченности, либо служат надежными укрытиями. В табл. 4, приведены показатели встречаемости чужеродных видов в различных видах биотопов.

Во всех видах указанных биотопов, за исключением песка, встречается только самый распространенный *D. haemobaphes*. Если исключить и губку, то на оставшихся 8 биотопах можно встретить *D. villosus* и *E. ischnus*. Затем по количеству заселяемых биотопов следуют *O. obesus* – 7, *C. curvispinum* и *O. crassus* – 6. Другие виды встречены менее чем в 5-ти биотопах, что может быть связано еще и с их малой распространенностью.

Таблица 4

Встречаемость (%) чужеродных видов амфипод в разных биотопах

Table 4

Occurrence (%) in biotopes of alien amphipod species

Биотоп	Вид									Количество видов
	<i>C. curvispinum</i>	<i>C. robustum</i>	<i>E. ischnus</i>	<i>E. trichiatus</i>	<i>D. villosus</i>	<i>D. haemobaphes</i>	<i>O. crassus</i>	<i>O. obesus</i>	<i>P. robustoides</i>	
ГУБ	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
ВВР	18	2	15	0	12	17	43	14	9	8
КАМ	26	87	20	0	16	29	3	29	45	8
ГЛИ	0	0	>0,1	0	>0,1	>0,1	0	4	0	4
КТД	11	0	25	0	12	2	6	3	37	7
КОР	2	0	15	100	21	23	2	2	0	7
ПЕС	0	0	0	0	0	0	0	0	>0,1	1
МОЛ	0	0	3	0	3	4	0	4	0	4
РОГ	42	10	21	0	32	22	45	43	9	8
ТРФ	2	0	2	0	5	1	1	0	0	5
Количество биотопов	6	3	8	1	8	9	6	7	5	–

Как видно из таблицы, *C. curvispinum* имеет большие величины встречаемости (42 %) в роголистнике, четверть животных встречена на камнях, еще меньше в зарослях (18 %). Остальные биотопы заселены в меньшей мере. По рассчитанным величинам приуроченности отдает свое предпочтение роголистнику и корням трав, избегая при этом биотопов коряжного типа (табл. 5). По литературным данным,

C. curvispinum селится на участках с каменистым субстратом, который покрыт слоем детрита и является излюбленным местообитанием для этого вида [17].

Особи *C. robustum* (табл. 4) предпочитают селиться на камнях с детритом и зарослях роголистника, что подтверждается и данными по биотопической приуроченности (табл. 5), совсем мало встречается в полупогруженных прибрежных зарослях макрофитов.

E. ischnus больше отмечается в корнях прибрежных растений, роголистнике и каменистых грунтах. Исходя из показателей приуроченности, предпочитает корни трав и комья торфа (табл. 5).

Особенности биотопической приуроченности *E. trichiatus* в водотоках Беларуси недостаточно известны [12] (табл. 4–5) ввиду его небольшого распространения [4]. Согласно литературным данным, вне исторических мест обитания предпочитает селиться в богатых кислородом участках рек с быстрым течением, используя в качестве укрытий каменистый и галечный субстрат [12; 18], где он обитает совместно с *E. ischnus*, *D. haemobaphes*, *D. villosus*, *D. bispinosus* и *O. obesus*, либо песчано-гравийный субстрат [14; 18], а также заросли камыша [12; 14; 18]. Считается, что *E. trichiatus* и *D. villosus* занимают сходные местообитания [19; 18].

D. villosus обитает на широком спектре субстратов: крупные камни, гравий, глина с друзами дрейсены, коряги, корни трав и макрофиты (табл. 4), что подтверждается и литературными сведениями [20]. По расчетным данным, в сравнении с другими амфиподами, он имеет максимальные величины приуроченности в торфяных комьях, с равномерным распределением между остальными биотопами (табл. 5). По другим источникам, в основном предпочитает твердые субстраты [14] и селится среди каменистого, гравийного либо галечного субстрата с низким содержанием песка и крупных камней, реже зарослей макрофитов [21], избегая при этом комьев глины.

Закономерностей по относительной встречаемости *D. haemobaphes* в разных биотопах не наблюдается, хотя и отмечается преобладание его в роголистнике, затопленных корягах и каменистом субстрате. Известно предпочтение им крупных булыжников и на искусственных субстратах [22]. Малые величины встречаемости отмечены в корнях трав (табл. 4–5), что согласуется с литературными данными [22]. Из всех представленных видов чужеродных амфипод, только этот вид найден в колониях речной губки *Ephydatia fluviatilis* (Linnaeus, 1759), причем это специфичное местообитание обнаружено в р. Сож (аг. Вознесенский) и р. Днепр, (д. Нижние Жары). По показателям биотопической приуроченности, избегает торфяных комьев и корней трав, но предпочитает селиться в корягах, камнях и среди моллюсков, как это показано в [22].

Наибольшее количество особей *O. crassus* встречено в зарослях макрофитов и роголистнике, в сравнении с ничтожно малым количеством в других биотопах (табл. 4). По степени биотопической приуроченности, предпочитаемые особями биотопы совпадают с их встречаемостью: животные концентрируются в макрофитах и роголистнике (табл. 5), избегая иных биотопов, за исключением корней трав.

O. obesus предпочитает селиться на каменистых участках, что совпадает с литературными данными [23], вторым по встречаемости является роголистник (табл. 4). Полупогруженные заросли макрофитов для него остаются менее предпочтительными укрытиями. По коэффициентам биотопической приуроченности чаще встречается в комьях глины, на каменистом субстрате, в моллюсках и роголистнике (табл. 5). Согласно литературным сведениям, этот чужеродный вид встречается на всех типах грунтов [14] и может находиться и в перифитоне [24].

Большинство особей *P. robustoides* встречено в камнях, в роголистнике и прибрежных корнях трав, чем в остальных местообитаниях. Степень биотопической приуроченности показывает (табл. 5), что вид также предпочитает каменистые биотопы и состоящие из корней трав. Этот редкий вид характерен для больших рек с медленно текущей или стоячей водой, которые богаты питательными веществами где, как правило, он обнаруживается с более высокими плотностями, на мелководных участках (не глубже 3 м), чем в водотоках со стремительным течением. Многие авторы указывают его большее обилие в прибрежных зарослях высшей водной растительности [14; 19; 24].

По нашим наблюдениям, это единственный вид, имеющий способность зарываться в песчаный субстрат и использовать его как убежище. При отборе проб в прибрежных зарослях часть животных активно избегает орудий лова, быстро перемещается в «чистое» побережье и зарывается в песок на минимальной глубине (5–20 см). В силу малочисленности наблюдений (4 самки) этот факт мало отразился в приведенных таблицах и требует дальнейшего изучения.

Считается, что большая часть амфипод встречается на плотных грунтах с высшей водной растительностью [25]. По нашим наблюдениям, наибольшие значения встречаемости были в трех биотопах: каменистом, роголистнике и затопленных останках деревьев. Но если объединить полупогруженные заросли высшей водной растительности и роголистник, то заросшее побережье будет стоять на первом месте по встречаемости чужеродных разноногих ракообразных.

При детальном обследовании биотопов отдельное внимание следует уделять роголистнику, погруженному *Ceratophyllum demersum* L., 1753, который является излюбленным местообитанием и своеобразным убежищем для амфипод [26]. В его зарослях встречаются 8 из 9 обнаруженных в Беларуси чужеродных видов, не найден только *E. trichiatus*, что объясняется недавней колонизацией водоемов и недостаточной распространенностью и изученностью в пределах Беларуси. В этом биотопе присутствуют животные с наиболее широким размерным диапазоном, начиная от ювенильных, недавно вышедших из марсупиальной сумки самки, до взрослых особей. По мнению Н. П. Жемаевой [27], этот вид макрофитов считается наиболее эффективным убежищем от выедания рыбами в сравнении с зарослями семейства злаковых и чистым прибрежьем.

Необходимо отметить что *C. curvispinum*, *C. robustum*, *D. villosus*, *E. trichiatus* и *E. ischnus* чаще встречались нами в текучих водотоках, что подтверждается литературными данными [19], в то время как *O. crassus* и *P. robustoides* могут, хоть и реже, обнаруживаться в затонах и заводях [14; 19; 26]. При этом *D. haemobaphes*, *O. obesus* (характерно для р. Днепр и некоторых участков р. Припять) и *P. robustoides* отмечаются на заиленных и сильно заиленных грунтах [24; 25].

Схожесть в биотопической приуроченности *D. villosus* и *E. ischnus* объясняют их сходным спектром хищнического питания: они потребляют в пищу значительное количество личинок *Chironomidae* sp. Jacobs, 1900 и *Hydropsyche* sp. Curtis, 1835, а также водяных осликов *Asellus aquaticus* (Linnaeus, 1758) [28].

Комья глины, которые встречаются в основном в р. Днепр вблизи г. Речица, заселяют (табл. 4) *E. ischnus*, *D. villosus*, *D. haemobaphes* и *O. obesus*. Совместно с ними обитают: *Chironomidae* sp. и *Trichoptera* sp. Kirby, 1813, они минируют грунт и прокладывают ходы, которые используют как укрытия. Считается, что разноногие ракообразные занимают и используют эти убежища, а самих хирономид и ручейников потребляют в пищу [28].

Таблица 5

Степень биотопической приуроченности чужеродных видов амфипод

Table 5

The degree of biotopic confinement of alien amphipod species

Биотоп	Вид								
	<i>C. curvispinum</i>	<i>C. robustum</i>	<i>E. ischnus</i>	<i>E. trichiatus</i>	<i>D. villosus</i>	<i>D. haemobaphes</i>	<i>O. crassus</i>	<i>O. obesus</i>	<i>P. robustoides</i>
ГУБ	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	0,37	-1,00	-1,00	-1,00
ВВР	-0,01	-0,81	-0,11	-1,00	-0,25	-0,06	0,55	-0,16	-0,38
КАМ	0,08	0,92	-0,11	-1,00	-0,25	0,16	-0,81	0,15	0,47
ГЛИ	-1,00	-1,00	-0,15	-1,00	0,07	0,08	-1,00	0,86	-1,00
КТД	0,18	-1,00	0,60	-1,00	0,23	-0,53	-0,14	-0,45	0,75
КОР	-0,85	-1,00	-0,11	1,00	0,09	0,16	-0,84	-0,79	-1,00
ПЕС	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-0,81
МОЛ	-1,00	-1,00	0,02	-1,00	0,08	0,23	-1,00	0,23	-1,00
РОГ	0,29	-0,55	-0,20	-1,00	0,09	-0,16	0,35	0,31	-0,59
ТРФ	0,05	-1,00	0,18	-1,00	0,56	-0,25	-0,44	-1,00	-1,00

В отличие от аборигенных видов, чужеродные виды имеют более широкий спектр населяемых биотопов и обитают в некоторых из них совместно. Наблюдаемая существенная разница в величинах встречаемости и степени биотопической приуроченности обусловливается малыми значениями встречаемости для некоторых видов.

Размерные характеристики нативных и чужеродных видов амфипод в основных биотопах. Известно, что в каждом конкретном водоеме и даже местообитании создается ряд абиотических и биотических условий, способных влиять на рост и развитие животных. Кроме того, разные возрастные группы могут иметь различную биотопическую приуроченность. Все это влияет на состав животных в тех или иных местообитаниях и, с другой стороны, размерная и половая структура в конкретных местообитаниях может определять общую биотопическую приуроченность.

При проведении анализа различий средних размеров особей *G. varsoviensis* из речных экосистем были выявлены статистически значимые отличия между всеми выше описанными местообитаниями

($t_{1,98} = 2,25-11,81$; $p \leq 0,05$). Самые крупные чаще встречаются в корягах, мелкие – в камнях (здесь и ниже по тексту: нижний индекс – средний размер тела для биотопа в мм):

$$G. varsoviensis: KOP_{12,4} > KTD_{11,0} > BVP_{9,2} > KAM_{7,9}$$

Схожесть размеров в разных биотопах речных экосистем подтверждается кластерным анализом. Для *G. varsoviensis* четко выделяется 2 обособленных друг от друга кластера, которые включают наиболее близкие между собой биотопы (рис. 1).

Биотопы каменистого и коряжного типов с более крупными животными были отнесены к I кластеру, которые достаточно близки между собой. Вероятно, эти биотопы как укрытия наиболее привлекательны для крупных животных из-за множества пространственных ниш между камнями, которые являются надежным убежищем от хищников и в которых концентрируется достаточное количество пищевых ресурсов за счет осадконакопления [15]. В останках затопленной древесины животные распределяются в расщелинах и многочисленных ходах, сделанных минирующими формами бентоса. Часто скопления этого вида наблюдались в затопленной древесине со слабой степенью трансформации, под уже отставшей от ствола корой, другими словами, на месте бывшего луба. В недавно затопленных корягах животные не встречались. Первые 2 биотопа характеризовались наличием множества других животных: пиявки, личинки хирономид, личинки насекомых, которые могли служить пищей этим полифагам.

G. lacustris в речных и озерных экосистемах в основном имеют разные средние размеры тела (табл. 3, 5), различия эти были менее выражены, чем у предыдущего вида, при этом самые крупные животные населяют прибрежную растительность, а мелкие предпочитают коряги и камни [29]:

G. lacustris (речные экосистемы):

$$BVP_{13,6} > KTD_{12,1} > (KOP_{9,7} > KAM_{8,6})_{9,2}$$

G. lacustris (озерные экосистемы):

$$BVP_{8,9} > (KAM_{8,3} > KOP_{8,1})_{8,2}$$

Результаты кластерного анализа для размеров озерного гаммаруса по отдельным биотопам представлены на рис. 1. Первый биотопический кластер *G. lacustris* объединяет в основном все биотопы речной экосистемы, за исключением растительного. Во втором объединены все озерные биотопы с включением в него речной растительности. Отдельным элементом является, коряжный биотоп озерных экосистем, который, как видно из рис. 1, по результатам анализа наиболее близок к речному типу.

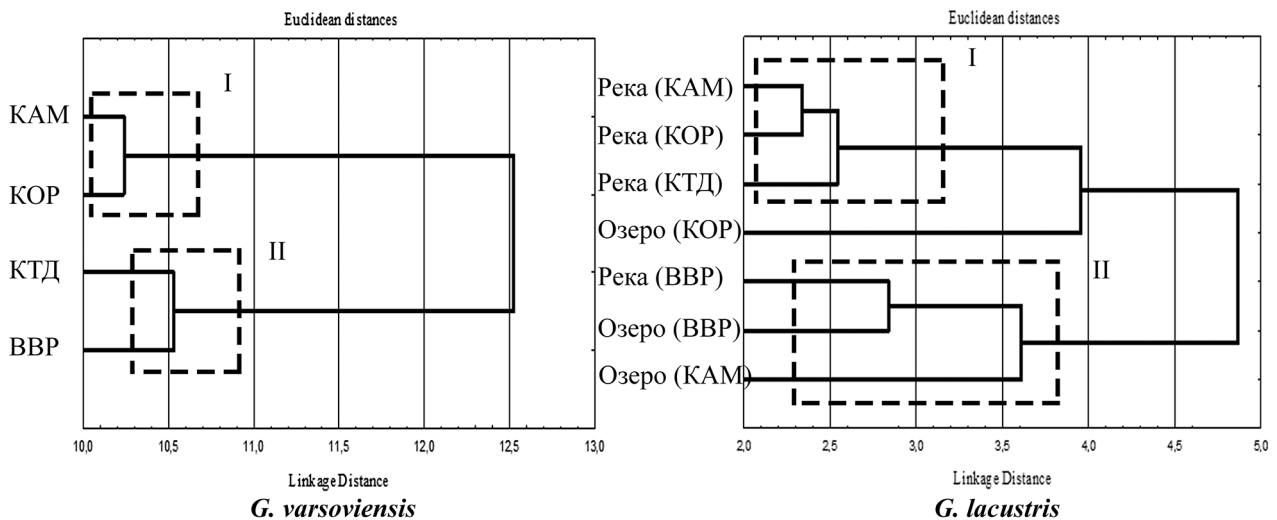


Рис. 1. Кластерный анализ размеров особей *G. varsoviensis* и *G. lacustris* в разных местообитаниях

Fig. 1. Cluster analysis of the sizes of individuals of *G. varsoviensis* and *G. lacustris* in different habitats

В основном различия размеров в биотопах *G. lacustris*, могут подтверждаться экологией (ведет донный образ жизни, фито-литофил [30]) и полифагией [30, 31]. С другой стороны, этот вид имеет яркое примерам избирательное питание. В таких озерах как Ладога и Севан, в рационе на первом месте стоит мох *Hygroamblystegium irrigium* (Hook. et Wils.) [31]. По мнению В. Г. Стройкиной [31], для нормальной жизнедеятельности этого вида недостаточно только растительной пищи. Известно, что молодь гаммарид способна потреблять не только бентосных животных, но и зоопланктон. У *G. lacustris* из оз. Шира, по результатам анализа содержимого желудков установлено, что ювенильные особи отдают свое предпочтение в большей степени диаптомусам, чем коловраткам [32].

Размерные характеристики из разных биотопов определены для наиболее распространённых чужеродных видов: *C. curvispinum*, *E. ischnus*, *D. villosus*, *D. haemobaphes*, *O. crassus*. У перечисленных выше видов по убыванию средних размеров тела построены ряды (табл. 6), исходя из полученных размеров, при которых возможна их надёжная видовая идентификация.

Таблица 6

Средние размеры особей чужеродных видов амфипод в различных биотопах (индекс внизу – средний размер, мм)

Table 6

The average sizes of individuals of alien amphipod species in various biotopes (the index at the bottom is the average size, mm)

Вид	Биотоп
<i>C. curvispinum</i>	КТД _{4,8} > ТРФ _{4,4} ≈ КОР _{4,4} > КАМ _{4,1} > ВБР _{3,8} > РОГ _{3,4}
<i>E. ischnus</i>	МОЛ _{7,2} ≈ ТРФ _{7,2} > КТД _{6,4} > КОР _{6,2} > РОГ _{5,9} > КАМ _{5,5} ≈ ВБР _{5,5}
<i>D. villosus</i>	КОР _{13,2} > КАМ _{12,5} > ТРФ _{11,7} > КТД _{11,6} > ВБР _{10,0} > МОЛ _{9,1} > РОГ _{8,9}
<i>D. haemobaphes</i>	КОР _{10,4} > КАМ _{10,3} > КТД _{9,9} > ТРФ _{9,7} > МОЛ _{9,2} > ВБР _{8,8} > РОГ _{6,4}
<i>O. crassus</i>	КОР _{10,7} > ПЕС _{10,4} > КАМ _{9,6} > КТД _{8,7} > РОГ _{7,5} > ВБР _{6,3}

Виды имеют разные последовательности убывания размеров, но в целом, за исключением *C. curvispinum*, более крупные животные располагаются в твердых субстратах, а мелкие – в растительности.

Результаты кластерного анализа (рис. 2) показывают, что все биотопы разделены между собой на 2 обособленных кластера, исключение, как и в первом случае, составляет корофиум. У этого вида не выделено размерных кластеров. В состав кластеров у разных видов включены разные биотопы и не наблюдается никакой закономерности при таком анализе данных. Обращает на себя внимание, что для большинства видов биотопы растительного происхождения (макрофиты и корни трав) объединяются в один кластер, тогда как биотопы техногенного происхождения либо неживой природы (каменистый и коряжный) включаются во второй кластер. Роголистник как местообитание часто обособляется или не входит в выделенные кластеры.

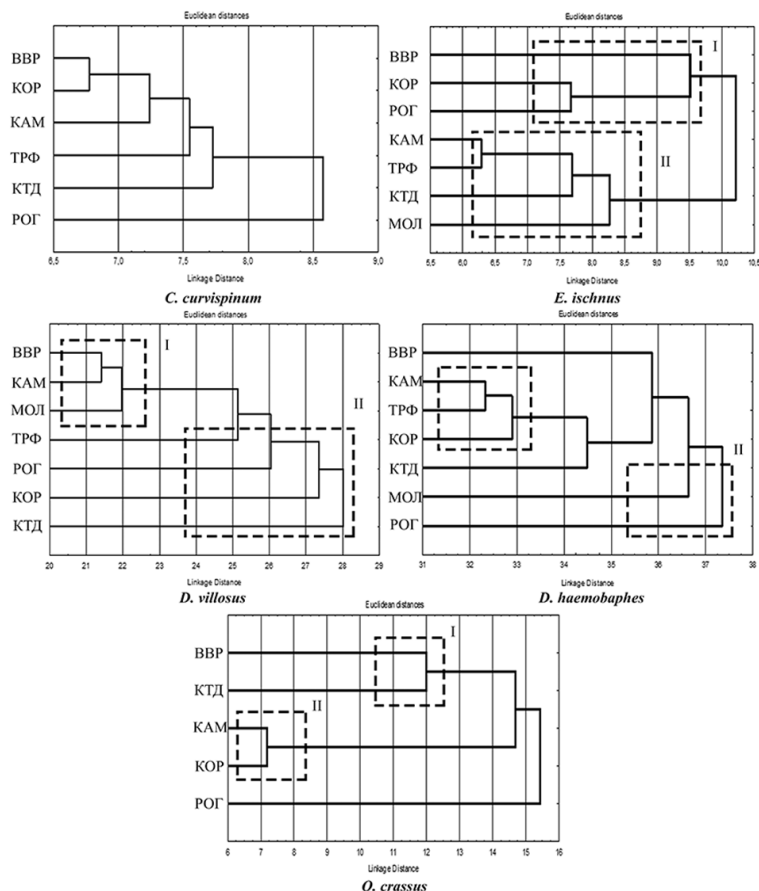


Рис. 2. Кластерный анализ размеров чужеродных особей в разных местообитаниях

Fig. 2. Cluster analysis of the size of alien individuals in different habitats

Более четкая картина наблюдается при анализе размеров для наиболее заселяемых биотопов чужеродными видами амфипод (рис. 3), где выделено 2 обособленных кластера. Так, в первый кластер вошли твердо-субстратные биотопы, а во второй – растительные, между которыми наблюдается наибольшая и достоверная разница ($t_{1,96} = 4,12$; $p \leq 0,05$) в средних размерах тела.

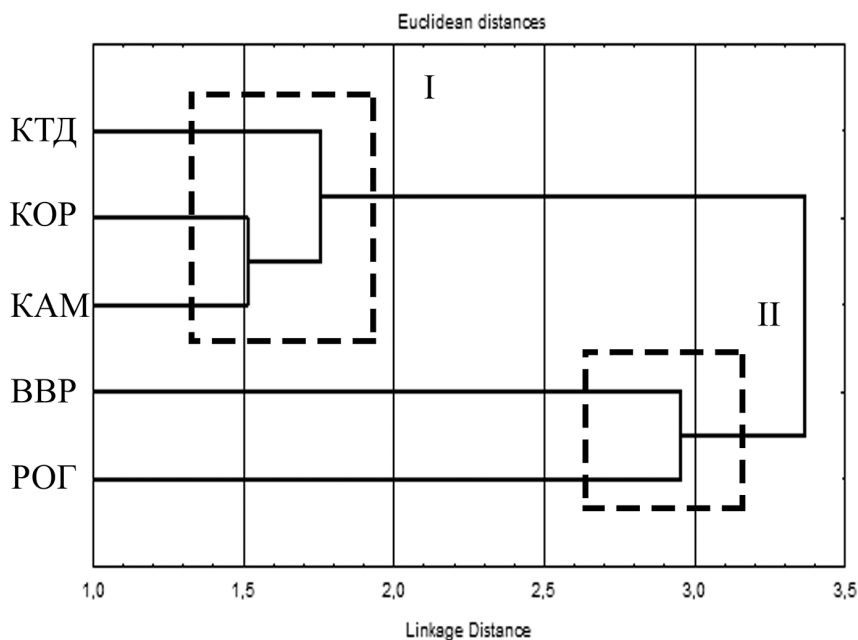


Рис. 3. Анализ сходства и различий биотопов в зависимости от длины тела чужеродных видов амфипод

Fig. 3. Analysis of similarities and differences in biotopes depending on the body length of alien species of amphipods

Предположительно, причинами этих различий является предпочтение ювенильными особями растительных биотопов и перемещение крупных животных в более надежные убежища, которые представлены твердыми субстратами. Не исключено, что такие перемещения связаны с изменением рациона питания разных возрастов. В целом, различия по длине тела в разных местообитаниях показывают, что в течение развития амфиподы могут изменять биотопическую приуроченность.

Заклучение

Таким образом, впервые для аборигенных и чужеродных видов разноногих ракообразных установлены величины их встречаемости в бассейнах основных рек Беларуси. По встречаемости реки и придаточные водоемы бассейна Припяти наиболее заселены как аборигенными, так и чужеродными видами амфипод. Менее подвержен биологическому загрязнению Неман, а территория бассейна Западной Двины на настоящее время чужеродными видами не заселена. Аборигенные виды заселяют текущие и стоячие водоемы (озера), а чужеродные встречаются только в лентических водоемах. Из нативных видов *G. lacustris* найден в речных и озерных, а *G. varsoviensis* встречается только в речных биотопах. Наиболее встречаемыми видами на территории Беларуси являются аборигенный *G. varsoviensis* и чужеродный *D. haemobaphes*.

Определены основные биотопы, в которых встречаются виды, причем аборигенные отмечены только в 4, а чужеродные в 10 биотопах. Заселяемость чужеродными видами разных типов местообитаний неодинакова: *D. haemobaphes* встречается в 9 типах биотопов. *D. villosus* и *E. ischnus* – в 8, *O. obesus* – в 7, *C. curvispinum* и *O. crassus* – в 6, *P. robustoides* – в 5, *C. robustum* – в 3 и *E. trichiatus* – 1. Хотя степень приуроченности к тем или иным местообитаниям видоспецифична, но для всех 9 чужеродных видов амфипод (в летний период) предпочитаемыми местообитаниями являются каменистый тип биотопа и роголистник, в коряжном и прибрежных зарослях растительности встречаемость ниже.

Установлены различия в размерах тела от характера биотопа как у нативных, так и чужеродных видов, что свидетельствует о смене характера биотопа в течение жизненного цикла.

Библиографические ссылки

1. Курашов Е. А., Барбашова М. А., Барков Д. В. и др. Инвазивные амфиподы как фактор трансформации экосистемы Ладожского озера // Рос. журн. биол. инвазий. 2012. № 2. С. 87–104.
2. Осветительная установка для микроскопа бинокулярного стереоскопического : полез. модель BY 10705 / А. И. Макаренко, В. В. Вежновец, Т. В. Макаренко; опубл. 30.06.2015.
3. Светодиодное устройство освещения микроскопической техники с изменяемым спектром свечения : полез. модель BY 10668 / А. И. Макаренко, Т. В. Макаренко; опубл. 30.06.2015.
4. Определитель фауны Чёрного и Азовского морей / под общ. ред. Ф. М. Мордухай-Болтовского. Киев, 1969. Т. 2.
5. Eggers, T., Martens A. Additions and Corrections to «A key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany» // Lauterbornia. 2004. № 50. P. 1–13.
6. Jazdzewski K. Remarks on *Gammarus lacustris* G. O. Sars, 1863, with description of *Gammarus varsoviensis* n. sp. (Crustacea, Amphipoda) // Bijdragen tot de dierkunde. 1975. Vol. 45, № 1. P. 71–86.
7. Асочаков А. А. К методике измерения длины тела амфипод // Гидробиол. журнал. 1993. Т. 29, № 2. С. 90–94.
8. Способ определения длины криволинейного биологического микрообъекта : пат. BY 21556 / А. И. Макаренко, В. В. Вежновец; опубл. 28.02.2018.
9. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М., 1982.
10. Семенченко В. П., Вежновец В. В., Липинская Т. П. Чужеродные виды понто-каспийских амфипод (Crustacea, Amphipoda) в бассейне реки Днепр (Беларусь) // Рос. журн. биол. инвазий. 2013. № 3. С. 88–97.
11. Суценья Л. М., Семенченко В. П., Вежновец В. В. Биология и продукция ледниковых реликтовых ракообразных. Минск, 1986.
12. Borza P. First record of the Ponto-Caspian amphipod *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932) (= *Chaetogammarus trichiatus*) (Crustacea: Amphipoda) for the Middle-Danube (Slovakia and Hungary) // Aquatic Invasions. 2009. Vol. 4, № 4. P. 693–696. DOI: 10.3391/ai.2009.4.4.17
13. Гигиняк Ю. Г., Мороз М. Д. Экологические и биотопические особенности реликтовой амфиподы *Synurella ambulans* из родников Беларуси // Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2000. Т. 44, № 5. С. 81–83.
14. Иоффе Ц. И. Обогащение кормовой базы для рыб в водохранилищах СССР путем акклиматизации беспозвоночных // Известия гос. НИИ озёрного и речного рыб. хоз-ва. 1974. Т. 100. С. 3–226.
15. Elliott J. M. The drift distances and time spent in the drift by freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a small stony stream, and their implications for the interpretation of downstream dispersal // Freshwat. Biol. 2002. Vol. 47, № 8. P. 1403–1417. DOI: 10.1046/j.1365-2427.2002.00874.x.
16. Welton J. S. Life-history and production of the amphipod *Gammarus pulex* in a Dorset chalk stream // Freshwat. Biol. 1979. Vol. 9, № 3. P. 263–285. DOI: 10.1111/j.1365-2427.1979.tb01508.x.
17. Борткевич Л. В. Экология и продукция *Corophium curvispinum* G.O. Sars из устьевых областей рек северо-западного Причерноморья // Гидробиол. журнал. 1987. Т. 23, № 6. С. 91–93.
18. Rachalewski M., Kononaska A., Grabowski M., et al. *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932) – a new ponto-caspian amphipod invader in poland with remarks on other alien amphipods from the oder river // Crustaceana. 2013. Vol. 86, № 10. P. 1224–1233. DOI: 10.1163/15685403-00003228.
19. Eggers T., Martens A. Neozoische Amphipoda in Deutschland: eine aktuelle Übersicht // Erweiterte Zusammenfassungen der Jahrestagung 2007 (Münster) / Deutsche Gesellschaft für Limnologie (DGL). Werder, 2008. P. 176–180.
20. Kinzler W., Kley A., Maier G., et al. Mutual predation between and cannibalism within several freshwater gammarids: *Dikerogammarus villosus* versus one native and three invasives // Aquatic Ecology. 2009. Vol. 43, № 2. P. 457–464. DOI: 10.1007/s10452-008-9206-7.
21. Kley A., Maier G. An example of niche partitioning between *Dikerogammarus villosus* and other invasive and native gammarids: a field study // J. Limnol. 2005. Vol. 64, № 1. P. 85–88. DOI: 10.4081/jlimnol.2005.85.
22. Clinton K. E., Mathers K. L., Constable D., et al. Substrate preferences of coexisting invasive amphipods, *Dikerogammarus villosus* and *Dikerogammarus haemobaphes*, under field and laboratory conditions // Biological Invasions. 2018. Vol. 20, issue 8. P. 2187–2196. DOI: 10.1007/s10530-018-1695-2.
23. Nehring S. The Ponto-Caspian amphipod *Obesogammarus obesus* (Sars, 1894) arrived the Rhine River via the Main-Danube Canal // Aquatic Invasions. 2006. Vol. 1, № 3. P. 148–153. DOI: 10.3391/ai.2006.1.3.9.
24. Саятин В. В. Бокоплавы (Crustacea, Amphipoda), как составляющий компонент биологических ресурсов Нижнего Дона : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.32. Краснодар, 2003.
25. Курина Е. М. Высшие ракообразные (Malacostraca) Саратовского водохранилища // Актуальные проблемы изучения ракообразных континентальных вод: сб. лекций и докл. Междунар. шк.-конф. Борок, 5–9 нояб. Борок, 2012. С. 213–216.
26. Ковальчук Т. В. К экологии бокоплава *Pontogammarus crassus* (G. O. Sars) в Киевском водохранилище // Гидробиол. журнал. 1974. Т. 10, № 3. С. 82–84.
27. Жемаева Н. П. *Asellus aquaticus* L. и *Gammarus pulex* L. как объекты интродукции в рыбоводные пруды : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.10 ; 03.00. М., 1988.
28. Krisp H., Maier G. Consumption of macroinvertebrates by invasive and native gammarids: a comparison // Limnol. J. 2005. Vol. 64, № 1. P. 55–59. DOI: 10.4081/jlimnol.2005.55.
29. Макаренко А. И. Размерно-весовые характеристики и биотопическая приуроченность нативной амфиподофауны Беларуси // Зоологические чтения – 2017: сб. ст. Междунар. науч.-практ. конф. (Гродно, 15–17 марта 2017 г.). Гродно, 2017.
30. Хмельева Н. Н. Закономерности размножения ракообразных. Минск, 1988.
31. Барков Д. В., Курашов Е. А. Литоральная зона Ладожского озера. СПб., 2011. С. 294–350.
32. Емельянова А. Ю. Некоторые аспекты экологии и питания бокоплава *Gammarus lacustris* Sars из озера Шира (Хакасия) : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.18. Борок, 2003.

References

1. Kurashov E. A., Barbashova M. A., Barkov D. V., et al. [Invasive amphipods as a factor of Ladoga lake ecosystem transformation]. *Russian J. of Biological Invasions*. 2012. No. 2, P. 87–104. (in Russ.).
2. [Lighting system for a binocular stereoscopic microscope] : utilite model 10705 BY / A. I. Makarenko, V. V. Vezhnovets, T. V. Makarenko; publ. 30.06.2015 (in Russ.).
3. [LED lighting device for microscopic technology with variable spectrum of luminescence] : utilite model 10668 BY / A. I. Makarenko, T. V. Makarenko; publ. 30.06.2015 (in Russ.).
4. Mordukhai-Boltovskii F. M. (ed.). [The determinant of the fauna of the Black and Azov Seas]. Vol. 2. Kiev, 1969 (in Russ.).
5. Eggers T. O., Martens A. Bestimmungsschlüssel der Süßwasser-Amphipoda (Crustacea) Deutschlands. Additions and Corrections to «A key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany». *Lauterbornia*. 2004. No. 50. P. 1–13 (in Germany).
6. Jazdzewski K. Remarks on *Gammarus lacustris* G. O. Sars, 1863, with description of *Gammarus varsoviensis* n. sp. (Crustacea, Amphipoda). *Bijdragen tot de dierkunde*. 1975. Vol. 45, No. 1. P. 71–86.
7. Asochakov A. A. [To the method of measuring the length of the amphipod body]. *Hydrobiological J.* 1993. Vol. 29, No. 2. P. 90–94 (in Russ.).
8. [Method for determining the length of a curvilinear biological microobject] : pat. 21556 BY / A. I. Makarenko, V. V. Vezhnovets; publ. 28.02.2018 (in Russ.).
9. Pesenko Yu. A. [Principles and methods of quantitative analysis in faunistic studies]. Moscow, 1982 (in Russ.).
10. Semenchenko V. P., Vezhnovec V. V., Lipinskaya T. P. [Alien species of the Ponto-Caspian amphipods (Crustacea, Amphipoda) in the Dniro river basin (Belarus)]. *Russian J. of Biological Invasions*, 2013. No. 3. P. 88–97 (in Russ.).
11. Sushchenya L. M., Semenchenko, V. P., Vezhnovets V. V. [Biology and production of glacial relic crustaceans]. Minsk, 1986 (in Russ.).
12. Borza P. First record of the Ponto-Caspian amphipod *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932) (= *Chaetogammarus trichiatus*) (Crustacea: Amphipoda) for the Middle-Danube (Slovakia and Hungary). *Aquatic Invasions*. 2009. Vol. 4, No 4. P. 693–696. DOI: 10.3391/ai.2009.4.4.17
13. Giginyak Yu. G., Moroz M. D. [Ecological and biotopic features of the relict amphipod *Synurella ambulans* from the springs of Belarus]. *Reports of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2000. Vol. 44, No. 5. P. 81–83 (in Russ.).
14. Ioffe C. I. [Enrichment of the fodder base for fish in the reservoirs of the USSR by acclimatization of invertebrates]. *Proceedings of the State Research Institute of Lake and River Fisheries*. 1974. Vol. 100. P. 3–226 (in Russ.).
15. Elliott J. M. The drift distances and time spent in the drift by freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a small stony stream, and their implications for the interpretation of downstream dispersal. *Freshwater Biology*. 2002. Vol. 47, No 8. P. 1403–1417. DOI: 10.1046/j.1365-2427.2002.00874.x.
16. Welton J. S. Life-history and production of the amphipod *Gammarus pulex* in a Dorset chalk stream. *Freshwater Biology*. 1979. Vol. 9, No 3. P. 263–285. DOI: 10.1111/j.1365-2427.1979.tb01508.x.
17. Bortkevich L. V. [Ecology and products *Corophium curvispinum* G.O. Sars from the estuarine regions of the rivers of the north-western Black Sea coast]. *Hydrobiological J.* 1987. Vol. 23, No 6. P. 91–93 (in Russ.).
18. Rachalewski M., Konopacka A., Grabowski M., et al. *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932) – a new ponto-caspian amphipod invader in poland with remarks on other alien amphipods from the oder river. *Crustaceana*. 2013. Vol. 86, No 10. P. 1224–1233. DOI: 10.1163/15685403-00003228.
19. Eggers T. O., Martens A. Neozoic Amphipoda in Germany: a current overview. *Erweiterte Zusammenfassungen der Jahrestagung* [Extended summaries of the annual conference]. Werder, 2008. P. 176–180 (in German).
20. Kinzler W., Kley A., Mayer G., et al. Mutual predation between and cannibalism within several freshwater gammarids: *Dikerogammarus villosus* versus one native and three invasives. *Aquatic Ecology*. 2009. Vol. 43, issue 2. P. 457–464. DOI: 10.1007/s10452-008-9206-7.
21. Kley A., Maier G. An example of niche partitioning between *Dikerogammarus villosus* and other invasive and native gammarids: a field study. *J. of Limnology*. 2005. Vol. 64, No 1. P. 85–88. DOI: 10.4081/jlimnol.2005.85.
22. Clinton K. E., Mathers K. L., Constable D., et al. Substrate preferences of coexisting invasive amphipods, *Dikerogammarus villosus* and *Dikerogammarus haemobaphes*, under field and laboratory conditions. *Biological Invasions*. 2018. Vol. 20, issue 8. P. 2187–2196. DOI: 10.1007/s10530-018-1695-2.
23. Nehring S. The Ponto-Caspian amphipod *Obesogammarus obesus* (Sars, 1894) arrived the Rhine River via the Main-Danube Canal. *Aquatic Invasions*. 2006. Vol. 1, No 3. P. 148–153. DOI: 10.3391/ai.2006.1.3.9.
24. Sayapin V. V. [Bokoplavy (Crustacea, Amphipoda), as a component of the biological resources of the Lower Don]: avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Krasnodar, 2003 (in Russ.).
25. Kurina E. M. [Higher crustaceans (Malacostraca) of the Saratov reservoir]. *Actual problems of studying crustacean continental waters. Collection of lectures and reports of the International School-Conference Borok*, Nov. 5–9. Borok, 2012. P. 213–216 (in Russ.).
26. Kovalchuk T. V. [On the ecology of the *Pontogammarus crassus* (G. O. Sars) in the Kiev reservoir]. *Hydrobiological J.* 1974. Vol. 10. No. 3. P. 82–84 (in Russ.).
27. Zhemaeva N. P. [Asellus aquaticus L. and Gammarus pulex L. as objects of introduction into fish ponds]: avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Moscow, 1988 (in Russ.).
28. Krisp H., Maier G. Consumption of macroinvertebrates by invasive and native gammarids: a comparison. *J. of Limnology*. 2005. Vol. 64. No 1. P. 55–59. DOI: 10.4081/jlimnol.2005.55.
29. Makarenko A. I. [Dimensional weight characteristics and biotopic timing of the native amphipodofauna of Belarus]. *Zoological readings – 2017: collection of articles of the International Scientific and Practical Conference (Grodno, March 15–17, 2017)*. Grodno, 2017. P. 149–152 (in Russ.).
30. Khmeleva N. N. [Patterns of breeding crustaceans]. Minsk, 1988 (in Russ.).
31. Barkov D. V., Kurashov E. A. [The littoral zone of Lake Ladoga]. St. Petersburg, 2011 (in Russ.).
32. Yemelyanova A. Yu. [Some aspects of the ecology and nutrition of the *Gammarus lacustris* Sars boom from Lake Shira (Kha-kassia)]: avtoref. d-ra biol. nauk. Borok, 2003 (in Russ.).

СВЯЗЬ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПИГМЕНТНОГО СОСТАВА И СТРУКТУРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФИТОПЛАНКТОНА Р. СВИСЛОЧЬ

Т. М. МИХЕЕВА¹⁾, О. С. СМОЛЬСКАЯ¹⁾, И. В. САВИЧ¹⁾, А. А. ЖУКОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Исследования на р. Свислочь были направлены на изучение количественных и качественных характеристик автотрофной компоненты планктона, а также поиск их связи с данными спектрального анализа пигментного состава. Показано, что для характеристики структурных показателей фитопланктона могут применяться пигментные индексы: E_{450}/E_{480} , E_{480}/E_{664} , E_{430}/E_{664} , E_{430}/E_{412} , отражающие состояние планктонных продуцентов в экосистеме. В ходе предварительного анализа были рассчитаны вспомогательные пигментные индексы контроля чистоты экстракта и четкости прописанного спектра: E_{664}/E_{720} , E_{430}/E_{720} , E_{530}/E_{720} , E_{430}/E_{530} и E_{664}/E_{530} . Выявлена тесная обратная связь индекса E_{450}/E_{480} и доли цианопрокариот в общей биомассе фитопланктона ($r = -0,81$) и, напротив, положительная корреляция данного индекса с долей зеленых ($r = 0,72$) и диатомовых водорослей ($r = 0,73$).

Ключевые слова: р. Свислочь; пигментные индексы; спектры поглощения; структура фитопланктона; цианобактерии.

Благодарность. Исследование выполнено в рамках задания «Связь количественных и качественных показателей формирования органического вещества (ОВ) водохранилищ и нижележащих речных участков водотоков с некоторыми оптическими характеристиками водных объектов» подпрограммы «Радикация и природные системы» государственной программы научных исследований (ГПНИ) «Природопользование и экология» на 2016–2020 гг.

COUPLING OF SPECTRAL CHARACTERISTICS OF PIGMENTAL COMPOSITION AND STRUCTURAL INDICATORS OF PHYTOPLANKTON IN SVISLOCH RIVER

T. M. MIKHEEVA^A, V. S. SMOLSKAYA^A, I. V. SAVICH^A, H. A. ZHUKAVA^A

^ABelarusian State University,
Nezavisimosti avenue, 4, 220030, Minsk, Belarus
Corresponding author: V. S. Smolskaya (sylimova_1991@mail.ru)

Studies on the River of Svisloch were aimed at assessing the quantitative and qualitative characteristics of the autotrophic component of plankton, as well as the search for their correlation with the data of the spectral analysis of the pigment

Образец цитирования:

Михеева Т. М., Смольская О. С., Савич И. В., Жукова А. А. Связь спектральных характеристик пигментного состава и структурных показателей фитопланктона р. Свислочь // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 42–51.

For citation:

Mikheeva T. M., Smolskaya V. S., Savich I. V., Zhukava H. A. Coupling of spectral characteristics of pigmental composition and structural indicators of phytoplankton in Svisloch river. J. Belarus. State Univ. Ecol. 2018. No. 4. P. 42–51 (in Russ.).

Авторы:

Тамара Михайловна Михеева – доктор биологических наук, доцент; главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии.

Ольга Сергеевна Смольская – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии.

Ирина Васильевна Савич – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гидроэкологии.

Анна Анатольевна Жукова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры экологии и методики преподавания биологии.

Authors:

Tamara M. Mikheeva, doctor of science (biology), associate professor; chief researcher of the research laboratory of aquatic ecology.

mikheyeva@tut.by

Volha S. Smolskaya, junior researcher of the research laboratory of aquatic ecology.

sylinova_1991@mail.ru

Iryna V. Savich, researcher of the research laboratory of aquatic ecology.

savich_i_v@tut.by

Hanna A. Zhukava, PhD (biology), associate professor; associate professor of the department of ecology and methods of biology teaching.

anna_eco@tut.by

composition. It is shown that pigment indices E450/E480, E480/E664, E430/E664, E430/E412 can be used to characterize the structural indicators of phytoplankton, and therefore reflect the state of planktonic producers in the ecosystem. Also, during the preliminary analysis, auxiliary pigment indices of extract purity and clarity of the prescribed spectrum were calculated: E664/E720, E430/E720, E530/E720, E430/E530 and E664/E530. A close interrelation was found between the index E450/E480 and the share of cyanobacteria in the total phytoplankton biomass ($r = -0,81$), and, on the contrary, the positive correlation of this index with the share of green algae ($r = 0,72$) and diatoms ($r = 0,73$).

Key words: Svisloch River; pigment indices; absorption spectrum; phytoplankton's structure; cyanobacteria.

Acknowledgment. The study was carried out in the frames of the task «The connection of quantitative and qualitative indicators of the organic matter formation in reservoirs and underlying river sections of watercourses with some optical characteristics of water objects» of the «Radiation and Natural Systems» subprogram of the State Program for Scientific Research (SPSR) «Nature Management and Ecology» on 2016–2020.

Введение

Методы оценки водорослевой компоненты на основании свойств фотосинтетических пигментов активно используются в гидробиологических исследованиях, поскольку они являются специфичными для растительного материала. Обычно по количеству пигментов оценивают уровень развития фитопланктона, однако более пристальный анализ спектров поглощения экстракта пигментов и расчеты соответствующих пигментных индексов могут дать важную информацию о составе фитопланктона и его состоянии [1]. В данной работе на примере р. Свислочь рассматривается возможность по характеру спектра поглощения света пигментами определять некоторые важные структурные показатели фитопланктона, в частности, развитие потенциально токсичных цианопрокариот.

Река Свислочь – главная водная магистраль г. Минска – пример небольшого водотока, подверженного высокой антропогенной нагрузке. Неоднократно на отдельных ее участках возникают непрогнозируемые отрицательные явления, в частности, интенсивное «цветение» воды цианобактериями, характерное для прибрежных территорий. Организация оперативного контроля экологического состояния реки и других водных объектов могла бы позволить быстро оценить масштаб и глубину возникающих нарушений функционирования экосистемы. Анализ спектральных характеристик воды является удобным и быстрым инструментом, позволяющим оценить ряд параметров, обуславливающих качество воды и экологическое состояние водных объектов разного типа (уровень развития фитопланктона и некоторые его структурные показатели, содержание в воде органических веществ и др.) [2].

Материалы и методы исследования

Пробы воды в русловых участках р. Свислочь и расположенных на ней водохранилищах отбирали в летние месяцы в прибрежной зоне на 9 станциях: канале переброски воды из Вилейской водной системы (1), на водохранилищах (Заславское (2), Дрозды (3 и 4), Комсомольское озеро (6), Чижовское (8)) и русловых участках в районах футбольного манежа (5), ул. Аранская (7) и микрорайона Шабаны (9). Схема расположения станций представлена на рис. 1.

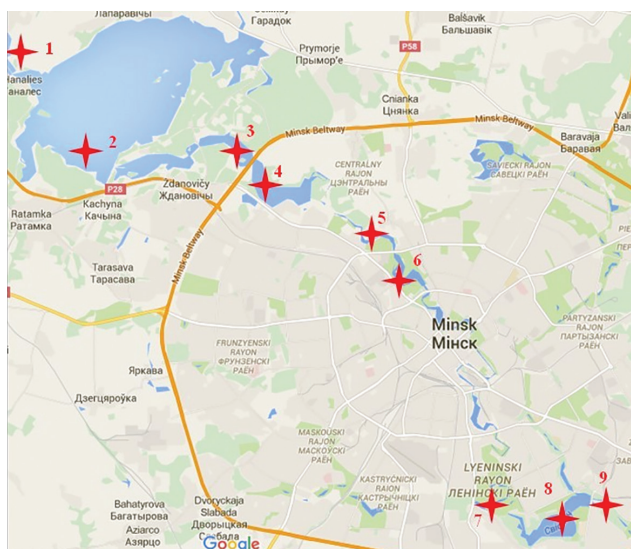


Рис. 1. Картограмма расположения станций забора проб на речных участках и водохранилищах р. Свислочь

Fig. 1. The sampling map in the river sections and reservoirs of Svisloch R.

В отобранных пробах воды оценивали количественное развитие фитопланктона и долевого вклад основных отделов водорослей в общую численность и биомассу прямым микроскопическим методом. Для оценки уровня развития фитопланктона (включая цианобактерии) использовали традиционные методы гидробиологии – осадочный метод и световую микроскопию. Пробы объемом 0,5 л фиксировали по Утермелю в модификации [3]. Видовой состав и количественный учет представителей фитопланктона приводится на основании камеральной обработки количественных проб в световом микроскопе *Zeiss Axiostar*. Для подсчета фитопланктона использовали камеру Фукса–Розенталя ёмкостью 3,2 мм³. Оценку биомассы организмов проводили «методом истинных объемов» [4], приравнивая клетку или организм к определенным геометрическим фигурам [5; 6]. Размеры клеток и организмов измеряли под микроскопом с помощью окуляр-микрометра. Удельный их вес принимали равным единице. Общую биомассу фитопланктона находили суммированием биомасс отдельных представителей. Численность (плотность) фитопланктона выражали в количестве клеток (число одноклеточных водорослей, число клеток в нитях и колониях) и организмов в литре (кл./л, орг./л), биомассу (в расчете на сырое вещество) – в мг/л.

Для прописывания спектров поглощения пигментов фитопланктона измеряли оптическую плотность ацетоновых экстрактов взвеси, осажденной на ядерные мембранные фильтры диаметром пор 1 мкм при фильтрации нативной воды. Промеры проводили с помощью приложения *Scan* спектрофотометра *Cam* 50 в диапазоне длин волн 350–800 нм с шагом 1 нм [1].

При расчете пигментных индексов, используемых для оценки структуры сообщества фитопланктона, применяли пигментные индексы, опубликованные в литературных источниках. Известно, что отношение общих каротиноидов к хлорофиллу-*a* может служить показателем физиологического состояния клеток фитопланктона. При старении популяции фитопланктона и неблагоприятных воздействиях факторов среды, величина отношения общих каротиноидов к хлорофиллу-*a* возрастает, что отражается на пигментном спектре. Для оценки в водных сообществах содержания каротиноидов по отношению к хлорофиллу-*a* могут быть использованы индексы E_{480}/E_{665} и E_{480}/E_{664} , повышение значений которых свидетельствует об ухудшении физиологического состояния фитопланктона и увеличении его пигментного разнообразия [2; 7; 8].

Кроме того, разные группы водорослей отличаются по составу пигментов и тоже могут идентифицироваться на основании анализа их спектра поглощения. Согласно литературным данным [2] и собственным исследованиям [9], индекс E_{450}/E_{480} характеризуется величинами выше 1 для дополнительных хлорофиллов и каротиноидов диатомовых и зеленых водорослей, а минимальные значения (около 1,0) характерны для желтых пигментов цианопрокариот.

Пигментный индекс E_{430}/E_{664} используется в качестве показателя пигментного разнообразия планктонных сообществ. Он отражает количественное соотношение между суммой общих каротиноидов и хлорофиллом-*a* в синей области спектра и хлорофиллом-*a* – в красной. Усиление в клетках процессов каротиногенеза или разрушение хлорофилла свидетельствует о замедлении уровня метаболизма и ухудшении физиологического состояния водорослей [7], поэтому при старении популяций фитопланктона и при неблагоприятных условиях среды, способствующих деструкции хлорофилла-*a*, величина индекса возрастает [10]. Для более корректной оценки содержания каротиноидов в водных сообществах был предложен скорректированный индекс $E_{480}/1,7E_{665k}$, учитывающий долю феопигментов в суммарном светопоглощении [6]. Индекс E_{430}/E_{412} (E_{430}/E_{410} (по некоторым литературным данным [11]) также отображает изменения, которые происходят с молекулами хлорофилла при деградации – сдвиг синего максимума спектра поглощения в более коротковолновую область. Соотношение оптических плотностей экстракта E_{430}/E_{412} соответствует отношению хлорофиллов и феофитинов.

К существующим в литературе пигментным индексам мы предлагаем добавить новые – с целью контроля чистоты экстракта пигментов и правильности прописывания спектра их поглощения. Такие дополнительные числовые параметры контроля спектра необходимы для того, чтобы быть уверенными в правильности и точности применения пигментных индексов, описанных выше, и возможности использования их в качестве показателей состояния фитопланктона и водной экосистемы в целом. Для выбраковки плохо прописанных спектров нами были предложены следующие индексы [12]: E_{412}/E_{664} , E_{664}/E_{530} , E_{430}/E_{530} , E_{530}/E_{720} , E_{664}/E_{720} , E_{430}/E_{720} , E_{412}/E_{720} , отражающие соотношение поглощения на пиках и спадах пигментного спектра.

При статистической обработке данных использовали программу Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

Развитие автотрофной компоненты на исследованном отрезке реки, как было указано в методике, рассматривается по результатам наблюдений в летний сезон. В июле-августе в фитопланктоне р. Свислочь отмечены достаточно высокие величины общей численности и биомассы водорослей почти на всех исследованных станциях. Если рассматривать отдельно только русловые участки (станции 1, 5, 7, 9), то

отмечается закономерное нарастание плотности фитопланктонного сообщества вниз по течению. Общая численность организмов в летний период на этих станциях изменялась в очень широких пределах: от 1,7 до 78,8 – в июле, от 1,7 до 48,9 млн орг./л – в августе. Общая биомасса фитопланктона на верхних станциях была в несколько раз меньше, чем на нижних (0,3 против 16,5 в июле и 0,3 против 18,8 мг/л в августе).

Во всех обследованных водохранилищах также наблюдались высокие величины численности и биомассы фитопланктона. Более низкие значения численности организмов и общей биомассы отмечены в июле в водохранилищах Дрозды (Веснянка) и Комсомольское озеро, в августе – в Заславском водохранилище и Комсомольском озере. Максимальные величины показателей за весь период наблюдений отмечены в Чижовском водохранилище.

На рис. 2 представлена картина пространственного распределения общей численности и биомассы фитопланктона на исследованном отрезке р. Свислочь в июле–августе. В целом, в августе биомасса фитопланктона была выше, чем в июле. Максимум ее в июле наблюдался в микрорайоне Шабаны – 16,5 мг/л, в августе – в Чижовском водохранилище – 54,2 мг/л.

В табл. 1 приведен долевой вклад основных отделов водорослей в их общую численность и биомассу. Всего в фитопланктоне р. Свислочь обнаружены представители 8 отделов водорослей: синезеленые (цианобактерии), диатомовые, зеленые, золотистые, криптофитовые, эвгленовые, желто-зеленые и динофитовые.

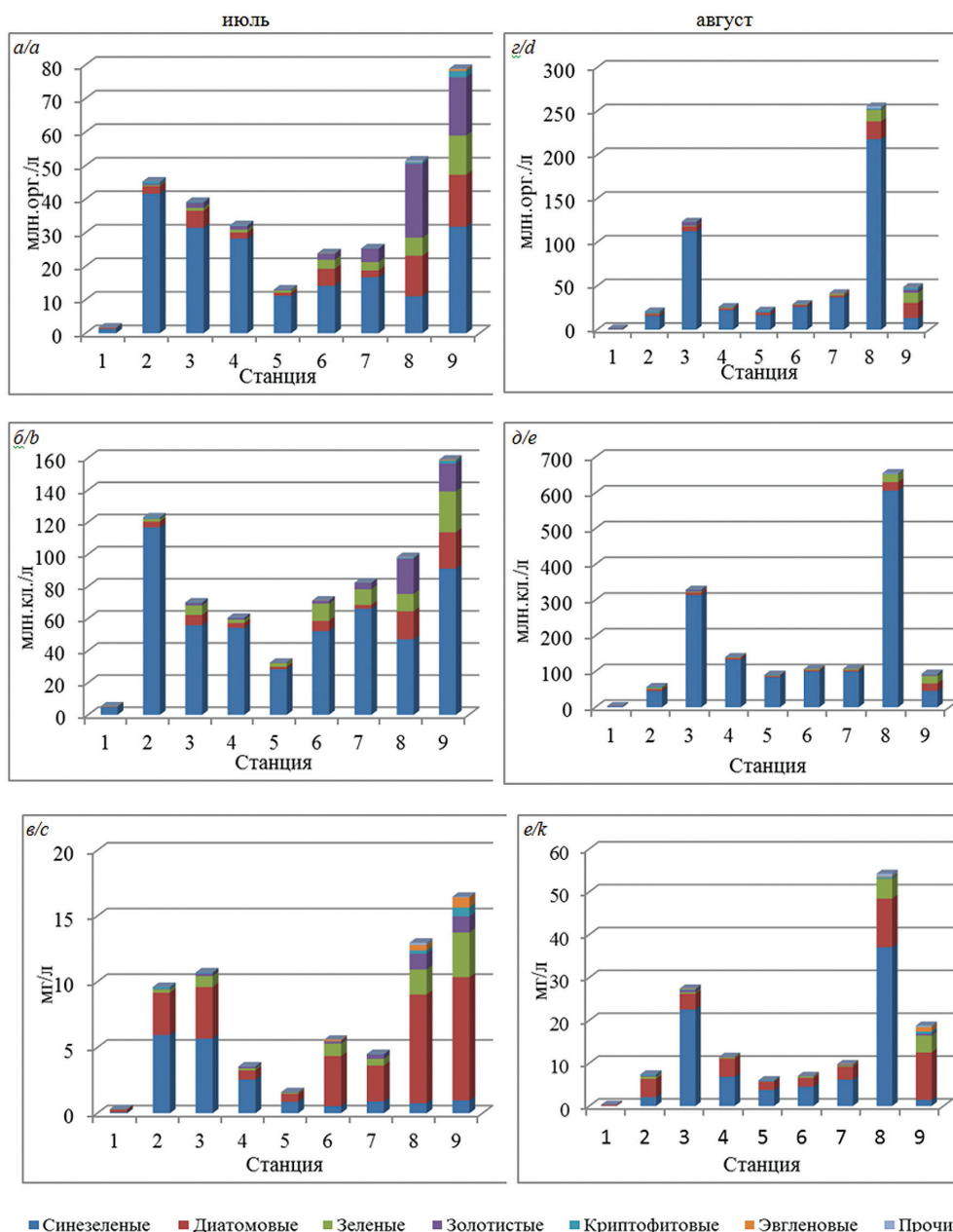


Рис. 2. Общая численность организмов (клеток) и биомасса водорослей в планктоне р. Свислочь в июле (а, б, в) и августе (г, д, е)

Fig. 2. Total number of organisms (cells) and algae biomass in plankton of the Svisloch R. in July (a, b, c) and August (d, e, k)

Таблица 1

Долевой вклад (%)* основных отделов водорослей в их общую численность и биомассу

Table 1

Share contribution (%)* of the main algae divisions in their total abundance and biomass

Номер станции **	Долевой вклад (%) по отделам				
	синезеленые	диатомовые	зеленые	золотистые	прочие
Июль					
1	<u>74,2 (89,7)</u> 26,8	<u>18,6 (5,9)</u> 61,1	<u>4,5 (3,5)</u> 4,6	<u>1,8 (0,6)</u> 3,3	<u>0,9 (0,3)</u> 4,3
2	<u>91,9 (94,8)</u> 62,0	<u>4,9 (2,9)</u> 33,4	<u>0,7 (1,4)</u> 2,6	<u>0,9 (0,3)</u> 0,4	<u>1,5 (0,6)</u> 1,6
3	<u>80,3 (79,6)</u> 52,9	<u>12,9 (9,2)</u> 36,6	<u>2,2 (8,4)</u> 7,8	<u>3,9 (2,4)</u> 1,8	<u>0,7 (0,4)</u> 0,8
4	<u>87,5 (89,5)</u> 71,9	<u>5,7 (4,9)</u> 19,6	<u>2,6 (3,4)</u> 4,3	<u>3,4 (1,8)</u> 3,5	<u>0,8 (0,4)</u> 0,7
5	<u>85,6 (87,2)</u> 53,9	<u>7,1 (4,7)</u> 37,9	<u>5,2 (7,3)</u> 5,6	<u>1,7 (0,7)</u> 2,2	<u>0,5 (0,2)</u> 0,5
6	<u>59,3 (73,1)</u> 9,7	<u>21,3 (9,0)</u> 67,9	<u>11,3 (15,2)</u> 16,9	<u>7,3 (2,5)</u> 3,0	<u>0,8 (0,3)</u> 2,4
7	<u>65,9 (80,3)</u> 20,1	<u>7,9 (2,9)</u> 60,3	<u>9,9 (11,8)</u> 11,4	<u>15,8 (4,8)</u> 7,6	<u>0,5 (0,2)</u> 0,7
8	<u>21,4 (47,9)</u> 5,9	<u>23,4 (17,7)</u> 63,7	<u>10,4 (11,0)</u> 14,6	<u>42,7 (22,4)</u> 9,3	<u>2,0 (1,1)</u> 6,5
9	<u>40,3 (57,3)</u> 5,9	<u>19,7 (14,3)</u> 56,9	<u>14,8 (15,9)</u> 20,6	<u>22,0 (10,9)</u> 7,5	<u>3,12(1,6)</u> 9,1
Август					
1	<u>31,5 (64,6)</u> 2,4	<u>19,2 (11,0)</u> 81,5	<u>3,9 (1,9)</u> 1,3	<u>43,8 (21,7)</u> 6,1	<u>1,54 (0,8)</u> 8,6
2	<u>74,1 (79,9)</u> 27,9	<u>10,0 (9,7)</u> 57,3	<u>4,4 (6,0)</u> 7,4	<u>3,9 (1,4)</u> 2,9	<u>7,7 (2,9)</u> 4,5
3	<u>91,0 (95,4)</u> 82,0	<u>4,5 (2,2)</u> 13,4	<u>0,5 (0,7)</u> 1,2	<u>3,4 (1,5)</u> 1,9	<u>0,6 (0,2)</u> 1,5
4	<u>84,8 (94,3)</u> 59,3	<u>7,9 (3,7)</u> 36,9	<u>3,8 (1,4)</u> 2,5	<u>2,4 (0,5)</u> 0,9	<u>1,1 (0,2)</u> 0,5
5	<u>74,9 (92,6)</u> 62,1	<u>11,9 (3,1)</u> 31,9	<u>1,2 (1,4)</u> 0,8	<u>4,9 (1,2)</u> 1,8	<u>7,1 (1,7)</u> 3,4
6	<u>88,7 (93,8)</u> 63,7	<u>6,9 (3,2)</u> 29,6	<u>2,4 (2,5)</u> 4,4	<u>1,6 (0,4)</u> 1,5	<u>0,4 (0,1)</u> 0,8
7	<u>88,4 (92,4)</u> 62,9	<u>5,2 (3,4)</u> 30,6	<u>3,8 (3,2)</u> 2,2	<u>1,5 (0,6)</u> 2,1	<u>1,2 (0,5)</u> 2,1
8	<u>85,3 (92,5)</u> 68,3	<u>7,9 (3,7)</u> 20,9	<u>5,2 (3,2)</u> 8,5	<u>0,2 (0,1)</u> 0,1	<u>1,5 (0,6)</u> 2,1
9	<u>27,4 (48,4)</u> 7,6	<u>35,4 (22,0)</u> 58,9	<u>23,6 (22,5)</u> 21,1	<u>7,3 (3,8)</u> 2,2	<u>6,4 (3,3)</u> 10,2
Примечание. * В ячейках таблицы в числителе приведена доля представителей отдела в общей численности организмов (клеток); в знаменателе – доля представителей отдела в общей биомассе; ** расположение станций (рис. 1)					

В июле – августе на большинстве исследованных станциях по общей численности клеток и организмов доминирующее положение занимали синезеленые водоросли; в отдельных случаях существенный вклад вносили представители диатомовых, зеленых и золотистых. По биомассе первенство разделили отделы синезеленые и диатомовые. Так, в июле на станциях 1, 6–9 биомасса фитопланктона состояла более чем на 50 % из диатомовых, на остальных главенствующую роль в биомассе играли синезеленые водоросли. В августе максимум биомассы был обусловлен представителями синезеленых на станциях 3–8, а на двух верхних и нижней станции – диатомовых.

Необходимым условием при использовании проб для расчета пигментных индексов является приготовление экстрактов из собранной на фильтр взвеси. Экстракты должны иметь достаточную оптическую плотность и быть хорошо очищенными от присутствия рассеивающих частиц. Соблюдая все указанные выше условия получения экстрактов, было проведено их последующее сканирование с помощью спектрофотометра. Типичный вид наблюдаемых спектров поглощения показан на рис. 3, однако для расчета пигментных индексов, оценивающих состояние фитопланктона, пригодны те, где прописываются четкие максимумы в красной и синей областях.

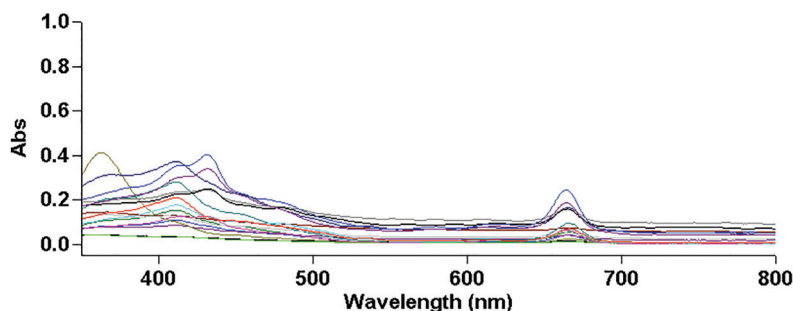


Рис. 3. Спектры поглощения пигментов планктона, измеренные в диапазоне длин волн 350–800 нм (*указаны спектры, непригодные для анализа пигментного состава проб)

Fig. 3. Absorption spectra of plankton pigments measured in the 350–800 nm wavelength range (*indicated spectra are unsuitable for pigment composition analysis in samples)

Однако прописанного спектра не всегда достаточно, особенно в природных водоемах. На рис. 3 заметно, что некоторые спектры (отмечены *) не отражают типичный для хлорофиллов и каротиноидов вид кривой с максимумами поглощения в синей и красной областях. Чтобы быть полностью уверенными в правильности выводов о структуре фитопланктона по пигментным индексам, предложено предварительно прописывать и анализировать спектры поглощения путем расчета вспомогательных индексов контроля экстрактов, которые представлены в табл. 2. Таким образом, нами были рассчитаны индексы E_{664}/E_{720} , E_{430}/E_{720} , которые показывают во сколько раз длинно- и коротковолновой пики спектра поглощения хлорофилла-а больше фонового значения чистоты экстракта (на 720 нм), при этом длина волны 664 нм соответствует максимальному поглощению хлорофилла-а в длинноволновой области спектра, 430 нм – пик хлорофилла-а в коротковолновой области спектра. При высоком содержании фео-пигментов можно использовать похожий индекс E_{412}/E_{720} , где 412 нм – максимальное значение светопоглощения для феофитина-а). Индекс E_{530}/E_{720} также используется для подтверждения правильности прописывания спектра. На длине волны 530 нм наблюдается спад спектра растительных пигментов ввиду того, что здесь располагается переходная зона (зеленая и голубая), где практически не идет светопоглощение, однако значения здесь не должны быть ниже фонового значения 720 нм и, соответственно, данный индекс не может быть ниже 1 (см. рис. 3). Индексы E_{430}/E_{530} и E_{664}/E_{530} показывают отношение пика хлорофиллов-а к спаду в спектре поглощения. Значения этих индексов должны быть выше 1 и меньше величин индексов E_{664}/E_{720} и E_{430}/E_{720} . Может также применяться индекс E_{412}/E_{664} , который показывает, во сколько раз пик феофитина-а в синей области спектра больше пика хлорофилла-а в красной области.

Таблица 2

Пигментные индексы контроля чистоты экстракта в водохранилищах и речных участках р. Свислочь

Table 2

The pigment indexes of control of the purity of the extract in the river sections and reservoirs of Svisloch R.

Номер станции	E_{664}/E_{720}	E_{430}/E_{720}	E_{530}/E_{720}	E_{430}/E_{530}	E_{664}/E_{530}
Июнь					
1	26,00	54,00	1,00	54,00	26,00
2	57,00	116,00	5,00	23,20	11,40
3	18,67	38,50	3,50	11,00	5,33
4	24,00	56,00	3,00	18,67	8,00

Продолжение табл. 2

Table 2

5	21,00	49,00	2,00	24,50	10,50
6	14,00	45,00	4,00	11,25	3,50
7	30,50	61,00	4,50	13,56	6,78
8	53,50	109,50	7,50	14,60	7,13
9	32,00	67,00	4,00	16,75	8,00
Июль					
1	1,88	3,75	1,50	2,50	1,25
2	8,40	16,80	2,60	6,46	3,23
3**	2,11	3,68	1,42	2,59	1,48
4*	1,28	1,98	1,28	1,55	1,00
5	18,67	35,67	4,67	7,64	4,00
6	8,33	18,33	3,00	6,11	2,78
7	3,06	5,30	1,50	3,53	2,04
8	23,25	45,00	5,75	7,83	4,04
9	2,15	3,59	1,48	2,43	1,45
Август					
1	3,00	6,75	1,75	3,86	1,71
2	22,00	42,33	4,00	10,58	5,50
3	13,80	25,40	5,40	4,70	2,56
4**	1,65	2,54	1,24	2,05	1,33
6**	2,12	3,32	1,31	2,54	1,62
7	4,80	7,86	1,61	4,89	2,99
8	4,16	7,49	1,49	5,03	2,79
9	8,63	15,88	3,38	4,70	2,56
Примечание. Пробы * непригодные для расчета пигментных индексов, ** сомнительные					

Наиболее четко прописанные спектры для исследованных участков р. Свислочь получены в июньских пробах, именно такие образцы наиболее пригодны для расчета и анализа пигментных индексов, отражающих структуру фитопланктона. Итак, самые высокие величины характерны для индекса E_{430}/E_{720} , что подтверждает правильность прописывания спектра поглощения, характерного для хлорофиллов, поскольку больший пик отмечается в коротковолновой области спектра. Согласно полученным данным, показатели индекса E_{664}/E_{720} в среднем оказались в 2 раза меньше описанного выше индекса E_{430}/E_{720} , подтверждая, что пик в длинноволновой области спектра меньше, чем в коротковолновой. Данные по индексу E_{530}/E_{720} колебались от 1 до 7,5 (в среднем составив 3,0). Полученные величины по индексам E_{430}/E_{530} и E_{664}/E_{530} во всех образцах были больше 1 и меньше значений индексов E_{430}/E_{720} и E_{664}/E_{720} соответственно.

Проанализировав индексы контроля чистоты экстракта и спектры поглощения, июльская проба со станции 4 была признана непригодной для расчета пигментных индексов (разница в светопоглощении на пиках хлорофилла и фоновым участком была <2), и некоторые пробы (июль – 3 станция, август – 4, 6 станции) мы сочли сомнительными, так как спектр был пописан не вполне четко.

После анализа индексов контроля чистоты экстракта и четкости прописывания спектра, были рассчитаны пигментные индексы, характеризующие состояние первичных продуцентов (табл. 3).

Таблица 3

Пигментные индексы в водохранилищах и речных участках р. Свислочь

Table 3

The pigment indexes in the river sections and reservoirs of Svisloch R.

Номер станции	E_{450}/E_{480}	E_{430}/E_{664}	E_{480}/E_{664}	E_{430}/E_{412}
Июнь				
1	1,88	2,08	0,65	1,02
2	1,94	2,04	0,61	1,17
3	1,41	2,06	0,96	1,20
4	1,71	2,33	0,88	0,98
5	1,88	2,33	0,81	1,04
6	1,87	3,21	1,07	0,83
7	1,85	2,00	0,66	1,02

Продолжение табл. 3

Table 3

8	1,79	2,05	0,70	1,05
9	1,62	2,09	0,81	1,12
Июль				
1	1,35	2,00	1,13	0,88
2	1,41	2,00	1,05	0,77
3	1,23	1,75	1,18	0,81
4	1,10	1,55	1,26	0,88
5	1,58	1,91	0,93	0,70
6	1,56	2,20	1,08	0,56
7	1,46	1,73	0,95	0,77
8	1,72	1,94	0,87	0,64
9	1,25	1,67	1,16	0,73
Август				
1	1,40	2,25	1,25	0,75
2	1,48	1,92	0,76	1,02
3	1,10	1,84	1,36	0,72
4	1,14	1,54	1,06	1,04
6	1,10	1,57	1,03	1,10
7	1,26	1,64	0,77	1,13
8	1,45	1,80	0,84	1,12
9	1,33	1,84	1,16	0,61

По результатам наблюдений на станциях р. Свислочь индекс E_{430}/E_{664} колебался в небольших пределах: июнь 2,0–2,3; июль 1,5–2,0; август 1,5–2,2. Значения индекса E_{480}/E_{664} на всех исследованных станциях были в 2–3 раза ниже, чем значения индекса E_{430}/E_{664} : июнь 0,61–1,07; июль 0,87–1,26; август 0,76–1,36. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о нормальном физиологическом состоянии и стабильном количестве в фитопланктоне жизнеспособных активных клеток. Некоторое повышение индекса в июле-августе указывает на ухудшение условий обитания (возможно при возрастании количества фитопланктона в сравнении с началом лета).

Показатели двух индексов – E_{480}/E_{665} и E_{480}/E_{664} – почти аналогичны, так как пик хлорофилла-а соответствует в длинноволновой области спектра длине волны 664 нм, поэтому для дальнейшего анализа мы использовали индекс E_{480}/E_{664} . Значения индекса E_{430}/E_{412} соответствуют преобладающему содержанию фотосинтетически активного хлорофилла-а с невысоким присутствием каротиноидных пигментов – величина индекса в среднем составила 0,91, что хорошо сопоставимо с данными по удельному содержанию феопигментов в пробах – около 15 %.

По результатам наблюдений была обнаружена значимая связь пигментного индекса E_{450}/E_{480} со структурными показателями фитопланктона. Индекс E_{450}/E_{480} отражает удельный вклад цианопрокариот в общую биомассу фитопланктона на фоне других отделов водорослей (диатомовых и зеленых) и может применяться для экспресс-оценки долевого участия в ней указанных отделов. Коэффициент корреляции между индексом E_{450}/E_{480} и долей синезеленых водорослей в общей биомассе (Вс-з/Вобщ) составил $r = -0,81$ (рис. 4).

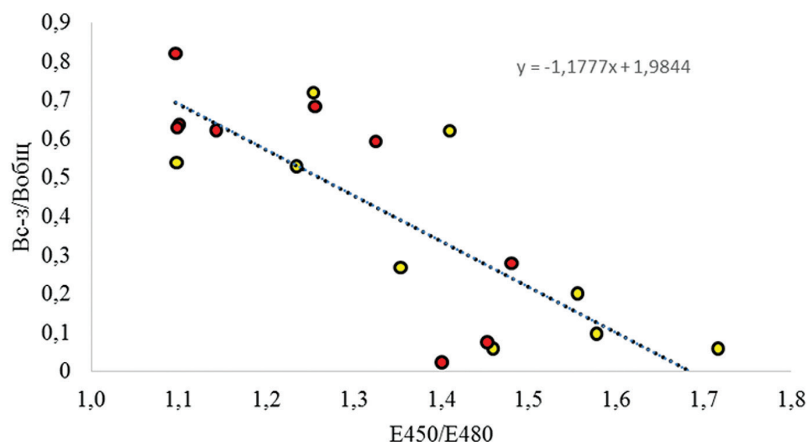


Рис. 4. Связь пигментного индекса E_{450}/E_{480} с долей синезеленых водорослей в общей биомассе фитопланктона (Вс-з/Вобщ) в водохранилищах и речных участках р. Свислочь (желтым отмечены данные за июль, красным – за август)

Fig. 4. Relationship of the pigment index E_{450}/E_{480} with the share of blue-green algae in the total biomass of phytoplankton in the river sections and reservoirs of the Svisloch R. (yellow dots are data for July, red – for August)

Для сравнения был проведен анализ по выявлению связи между пигментным индексом E_{450}/E_{480} и долей синезеленых водорослей в общей численности организмов и общей численности клеток. Коэффициент корреляции индекса E_{450}/E_{480} получился меньше по обоим параметрам, сохраняя обратную направленность связи, и составил (с долей синезеленых водорослей) в общей численности организмов $r = -0,64$, клеток – $r = -0,65$.

Таким образом, мы выявили сильную отрицательную связь индекса E_{450}/E_{480} с долей синезеленых водорослей в общей биомассе и, напротив, положительную корреляцию данного индекса с долей зеленых (Вз/Вобщ) $r = 0,72$ и диатомовых (Вд/Вобщ) $r = 0,73$. Направленности связей свидетельствуют об уменьшении значений индекса E_{450}/E_{480} при возрастании степени доминирования цианопрокариот, повышение величин индекса сигнализирует о значительном вкладе в биомассу фитопланктона диатомовых и зеленых водорослей. Подобная тенденция подтверждается и литературными данными [8].

На основании анализа зависимости значений пигментного индекса E_{450}/E_{480} от содержания цианопрокариот в общей биомассе водорослей была составлена шкала (табл. 4) для примерной оценки доли синезеленых водорослей по величине индекса E_{450}/E_{480} .

Таблица 4

Примерная оценка доли цианопрокариот в общей биомассе фитопланктона в р. Свислочь по значениям пигментного индекса E_{450}/E_{480}

Table 4

An approximate estimate of the share of cyanobacteria in total phytoplankton biomass in Svisloch R. based on the values of the pigment index E_{450}/E_{480}

Значение индекса E_{450}/E_{480}	Примерная доля цианопрокариот, % в общей биомассе
<1,0	100–70
1,1–1,19	70–60
1,2–1,29	60–50
1,3–1,39	40–50
1,4–1,49	30–40
1,5–1,59	20–30
1,6–1,69	10–20
1,7–1,79	до 10
>1,8	около 0

По данным табл. 3 и 4 можно судить о том, насколько массовым было развитие синезеленых водорослей в пробах, собранных в р. Свислочь в июне. Высокие значения индекса E_{450}/E_{480} (1,6–1,9) в большинстве собранных образцов воды свидетельствуют о слабом доленом участии цианобактерий в формировании общей биомассы водорослей планктона (<20 %). Только на станции 3 (водохранилище Дрозды) рассчитанная доля цианобактерий составила порядка 30 % в общей биомассе фитопланктона. Результаты работы подтверждают, что при грамотном подходе пигментные индексы могут быть использованы в качестве одного из параметров оценки качества воды и состояния фитопланктона для всех типов водоемов.

Заключение

Проведена работа по расчету пигментных индексов и оценке их связи со структурными характеристиками фитопланктона. Анализ пигментных индексов, отражающих физиологическое состояние фитопланктона показал, что информативными для работы на речных участках и водохранилищах р. Свислочь были следующие: E_{450}/E_{480} , E_{480}/E_{664} , E_{430}/E_{664} , E_{430}/E_{412} . Предложены также дополнительные индексы контроля чистоты экстракта, которые могут быть использованы в качестве критериев качества исследуемой пробы. Рассчитан коэффициент корреляции между индексом E_{450}/E_{480} и долей синезеленых водорослей в общей биомассе ($r = -0,81$). На основании данного индекса можно судить о том, являются ли цианопрокариоты доминирующей группой фитопланктона в исследованном участке водоема. Это подтверждено счетными данными по биомассе водорослей.

Таким образом, пигментные индексы могут быть использованы в качестве одного из интегральных параметров оценки качества воды, позволяющих оперативно отслеживать изменения в экосистемах по структуре фитопланктона.

Библиографические ссылки

1. Lorenzen C. J. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrophotometric equations // *Limnology Oceanography*. 1967. Vol. 12. P. 343–346. DOI: 10.4319/lo.1967.12.2.0343.
2. Сиделев С. И., Бабаназарова О. В. Анализ связей пигментных и структурных характеристик фитопланктона высокоэвтрофного озера // *J. of Siberian Federal University. Biology*. 2008. Vol. 2, № 1. P. 162–177.
3. Михеева Т. М. Методы количественного учета нанофитопланктона (обзор) // *Гидробиологический журнал* 1989. Т. 25, № 4. С. 3–21.
4. Киселев И. А. Планктон морей и континентальных водоемов. 1. Вводные и общие вопросы планктологии. М.–Л., 1969.
5. Михеева Т. М. Альгофлора Беларуси. Таксономический каталог. Минск, 1999.
6. Hillebrand H., Durselen C.-D., Kirschtel D., et al. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae // *J. Phycol.* 1999. Vol. 35. P. 403–424.
7. Сигарева Л. Е. Хлорофилл в донных отложениях волжских водоемов. М., 2012.
8. Leavitt P. R., Hodgson D. A. Sedimentary Pigments. In: Smol JP, Birks HJ, Last WM (eds) *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Vol. 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators*. Dordrecht, 2006. P. 295–325. DOI: 10.1007/0-306-47668-1_15.
9. Смольская О. С., Жукова А. А., Люля А. С. Пигментные и физико-химические характеристики донных отложений озер Нарочь и Мясро // *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2018. № 2. С. 65–77.
10. Determination of photosynthetic pigments in sea-water: monographs on Oceanologic Methodology. Paris, 1966. P. 9–18.
11. Moss B. A spectrophotometric method for the estimation of percentage degradation of chlorophylls to pheo-pigments in extracts of algae // *Limnology and Oceanography*. 1967. Vol. 12. P. 335–340. DOI: 10.4319/lo.1967.12.2.0335.
12. Смольская О. С., Жукова А. А. Спектральные пигментные индексы фитопланктона в разнотипных водных объектах Беларуси // *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2018. № 1. С. 113–123.

References

1. Lorenzen C. J. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrophotometric equations. *Limnology Oceanography*. 1967. Vol. 12. P. 343–346. DOI: 10.4319/lo.1967.12.2.0343.
2. Sidelev S. I., Babanazarova O. V. [Analysis of pigment and structural characteristics of phytoplankton in a highly eutrophic lake]. *J. of Siberian Federal University. Biology*. 2008. Vol. 2, № 1. P. 162–177 (in Russ.).
3. Mikheeva T. M. [Methods of quantitative accounting of nanophytoplankton (review)]. *Gidrobiologicheskii zhurnal*. 1989. Vol. 25, No. 4. P. 3–21 (in Russ.).
4. Kiselev I. A. [Plankton of seas and continental reservoirs. 1. Introductory and general issues of planctology]. Moscow; Leningrad, 1969 (in Russ.).
5. Mikheeva T. M. [Algal flora of Belarus. Taxonomic catalogue]. Minsk, 1999 (in Russ.).
6. Hillebrand H., Durselen C.-D., Kirschtel D., et al. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol.* 1999. Vol. 35. P. 403–424.
7. Sigareva L. Ye. [Chlorophyll in bottom sediments of Volga reservoirs]. Moscow, 2012 (in Russ.).
8. Leavitt P. R., Hodgson D. A. Sedimentary Pigments. In: Smol JP, Birks HJ, Last WM (eds) *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Vol. 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators*. Dordrecht, 2006. P. 295–325. DOI: 10.1007/0-306-47668-1_15.
9. Smolskaya, V. S., Zhukova, A. A., Lyulya, A. S. [Pigment and physico-chemical characteristics of bottom sediments of the lakes Naroch and Myastro]. *J. of the Belarusian State University. Biology*. 2018. No. 2. P. 65–77 (in Russ.).
10. Determination of photosynthetic pigments in sea-water. Monographs on Oceanologic Methodology. Paris, 1966. P. 9–18.
11. Moss B. A spectrophotometric method for the estimation of percentage degradation of chlorophylls to pheo-pigments in extracts of algae. *Limnology and Oceanography*. 1967. Vol. 12. P. 335–340. DOI: 10.4319/lo.1967.12.2.0335.
12. Smolskaya V. S., Zhukova A. A. [Spectral pigment indices of phytoplankton in various water bodies of Belarus]. *J. of the Belarusian State University. Ekologiya*. 2018. № 1. P. 113–123 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 30.11.2018
Received by editorial board 30.11.2018

ФОТОЗАЩИТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ПЯТИ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ В ОТНОШЕНИИ КЕРАТИНОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА (HaCAT)

О. М. ХРАМЧЕНКОВА¹⁾, М. В. МАТВЕЕНКОВ²⁾

¹⁾Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины,
ул. Советская, 104, 246039, г. Гомель, Беларусь

²⁾Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Беларусь

In vitro оценены фотозащитные свойства этанольных экстрактов из распространенных в Беларуси лишайников *Hyrogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Ramalina pollinaria*, *Xanthoria parietina* и *Cladonia arbuscula* в отношении культуры кератиноцитов человека (HaCAT). По величине SPF экстракты из *E. prunastri* и *R. pollinaria* обладают очень высокими фотозащитными свойствами; экстракты из *H. physodes* и *C. arbuscula* – высокими; из *X. parietina* – низкими. По показателям величины SPF, $\lambda_{\text{крит}}$ и отношения УФ-А/УФ-Б этанольный экстракт из *C. arbuscula* является солнцезащитным с характеристиками для уровня фотозащиты «высокий» и «максимальный». Установлено явление *in vitro* модификации экстрактами из лишайников чувствительности кератиноцитов человека (HaCAT) к ультрафиолетовому облучению. Экстракты из *R. pollinaria* и *C. arbuscula* в 1,6 – 2,0 раза понижали полумлетальную дозу облучения, экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* – в 1,4–1,6 раза повышали. При увеличении доз облучения кератиноцитов ультрафиолетом от нулевых до летальных значений, экстракты из *R. pollinaria* выступали фотопротекторами, их активность повышалась с увеличением концентрации. Экстракты из *C. arbuscula* в концентрациях 2,5 ÷ 5,0 мкг/мл также проявляли фотопротекторные свойства и подавляли жизнедеятельность кератиноцитов при концентрациях, близких к полунингибирующим. Экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* проявляли умеренные сенсibilизационные свойства.

Ключевые слова: экстракты из лишайников; солнцезащитный фактор (SPF); критическая длина волны ($\lambda_{\text{крит}}$); отношение УФ-А/УФ-Б; культуры кератиноцитов (HaCAT); ультрафиолет; полунингибирующая доза (ID50).

Благодарность. Авторы благодарят бывшую заведующую лабораторией комбинированных воздействий ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», кандидата биологических наук С. Н. Сушко за помощь в организации выполнения исследования и конструктивные замечания при оценке полученных результатов.

Образец цитирования:

Храмченкова О. М., Матвеевков М. В. Фотозащитная активность экстрактов из пяти видов лишайников в отношении кератиноцитов человека (HaCAT) // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 52–62.

For citation:

Khranchankova V. M., Matveyenkau M. V. Photoprotective activity of extracts from the five lichen species against human keratinocyte (HaCAT). *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 52–62 (in Russ.).

Авторы:

Ольга Михайловна Храмченкова – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры ботаники и физиологии растений.

Матвеевков Матвей Владимирович – младший научный сотрудник лаборатории комбинированных воздействий.

Authors:

Volga M. Khranchankova, PhD (biology), associate professor, associate professor of the department of botany and plant physiology.

hramchenkova@gsu.by

Matsvei V. Matveyenkau, junior researcher of the laboratory of combined exposures.

matvey.matveenkou@mail.ru

PHOTOPROTECTIVE ACTIVITY OF EXTRACTS FROM THE FIVE LICHEN SPECIES AGAINST HUMAN KERATINOCYTE (HaCAT)

V. M. KHRAMCHANKOVA^a, M. V. MATVEYENKAU^b

^aFrancisk Skorina Gomel State University,
Sovetskaya street, 104, 246019, Gomel, Belarus

^bInstitute of radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Fedyuninsky street, 4, 246007, Gomel, Belarus
Corresponding author: hramchenkova@gsu.by

In vitro, the photo-protective properties of ethanol extracts from the widely distributed in Belarus lichens *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Ramalina pollinaria*, *Xanthoria parietina* and *Cladonia arbuscula* in the culture of human keratinocytes (HaCAT), are estimated. The SPF extracts from *E. prunastri* and *R. pollinaria* possess very high photoprotective properties; extracts from *H. physodes* and *C. arbuscula* – high; *X. parietina* – low. According to SPF, λ_{crit} and UV-A / UV-B ratio, ethanol extract from *C. arbuscula* is sunscreen with characteristics for the level of photoprotection «high» and «maximum». An *in vitro* modification with extracts from lichens of the sensitivity of human keratinocytes (HaCAT) to ultraviolet irradiation has been established. Extracts from *R. pollinaria* and *C. arbuscula* reduced the half-lethal dose by 1.6–2.0 times, extracts from *H. physodes*, *E. prunastri*, and *X. parietina* were increased by 1.4 to 1.6 times. With increasing doses of irradiation of keratinocytes by ultraviolet to lethal values, extracts from *R. pollinaria* were photoprotectors, their activity increased with increasing concentration. Extracts from *C. arbuscula* in concentrations of 2.5 ÷ 5.0 µg / ml also showed photoprotective properties, and suppressed the vital activity of keratinocytes at concentrations close to semi-inhibitory. Extracts from *H. physodes*, *E. prunastri* and *X. parietina* showed moderate sensitization properties.

Key words: lichen extracts; sunscreen factor (SPF); critical wavelength (λ_{crit}); UV-A / UV-B ratio; keratinocyte culture (HaCAT); ultraviolet; semi-inhibitory dose (ID_{50}).

Acknowledgment. The authors thank the former head of the combined effects laboratory of the Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, PhD (biology) S. N. Sushko for assistance in organizing the implementation of the study and constructive comments when assessing the results.

Введение

Последствия воздействия ультрафиолетового излучения на здоровье человека составляют одну из важнейших проблем современности. Наибольший вклад вносят кортикальная катаракта, злокачественные новообразования кожи, солнечные ожоги и фотостарение кожи [1–5]. Выявлены такие негативные эффекты воздействия ультрафиолета, как локальная или общая иммуносупрессия и снижение уровня фолата в крови, что может негативно сказываться на развитии плода [6–8]. Среди основных механизмов негативного действия ультрафиолета на кожу выделяют индуцированную окислительную нагрузку в клетках, а также образование пиримидиновых фотодимеров в ДНК [8–12].

Одной из возможных стратегий снижения нагрузки ультрафиолетового облучения на кожу является использование солнцезащитных средств. На сегодняшний день существует множество фотозащитных композиций, включающих в себя УФ-фильтры органической и неорганической природы (оксиды цинка и титана, аминбензойная кислота и др.) [13]. Разработка солнцезащитных средств не может быть исчерпывающей. В настоящее время ведется поиск субстанций, в том числе и природного происхождения, которые в комплексе с поглощением и рассеиванием ультрафиолета способны снижать негативные эффекты его воздействия за счет активации систем детоксикации тканей, поддержания клеточного гомеостаза и репарации ДНК [14–16].

Вторичным метаболитам лишайников довольно давно приписывают фотозащитные свойства. Данное утверждение базируется на аналогиях результатов скрининга кортикальных метаболитов лишайников и флавоноидов высших растений [17], а также на результатах определения лишайниковых веществ в образцах, отобранных в условиях избыточной инсоляции [18; 19]. Накопленный экспериментальный материал демонстрирует способность различных метаболитов, выделенных из лишайников, успешно абсорбировать ультрафиолетовое излучение [20–22], снижать фототоксические эффекты в клеточных культурах [23–25].

Многие вопросы практического использования лишайников и в настоящее время остаются открытыми. Отметим, что до сих пор актуализируется самый широкий скрининг свойств определенных вторичных метаболитов лишайников и экстрактов из них.

Цель настоящей работы – оценка фотозащитной активности этанольных экстрактов из пяти видов распространенных в Беларуси лишайников в отношении культуры клеток кератиноцитов человека (HaCAT).

Материалы и методы исследований

Сбор натурального материала. Для исследования были выбраны виды лишайников с известным составом вторичных метаболитов, три из которых являются стандартными при аналитическом определении лишайниковых веществ [26–29] – *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach., *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. и *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot. Биомассу лишайников собирали на территории ГЛХУ «Гомельский лесхоз» на типичных для каждого вида субстратах [29]. Слоевища эпифитных видов (*H. physodes*, *E. prunastri*, *R. pollinaria* и *X. parietina*) отбирали вместе с фрагментом субстрата (корки сосны обыкновенной, березы повислой, дуба черешчатого и тополя черного соответственно); эпигейный вид *C. arbuscula* находили на почве в сухом средневозрастном сосняке. Талломы лишайников отделяли от субстрата, у *C. arbuscula* отбрасывали нижнюю часть подстилки – около 5 мм, сушили до воздушно-сухого состояния, измельчали.

Получение экстрактов из лишайников. Навески измельченной биомассы лишайников экстрагировали этанолом в аппарате Сокслета, полноту экстракции контролировали стандартным способом [30]. Растворитель удаляли, сухие экстракты использовали для дальнейших исследований.

Определение величины солнцезащитного фактора (SPF) полученных экстрактов выполняли методом скрининга *in vitro* [31; 32]. Навеску экстракта из лишайников массой 1,0 г растворяли в 100 мл этанола, фильтровали. Аликвоту 5 мл переносили в колбу на 25 мл, доводили этанолом до метки. Определяли оптическую плотность растворов в диапазоне длин волн от 290 нм до 320 нм с шагом в 5 нм, используя этанол в качестве раствора сравнения. Средством измерения служил УФ-спектрофотометр Solar PB 2201, измерительные кюветы – кварцевые. Величину SPF оценивали по формуле Мансура [31]:

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda),$$

где CF – поправочный коэффициент (равен 10); $EE(\lambda)$ – спектр эритемного эффекта; $I(\lambda)$ – спектр солнечной интенсивности; $Abs(\lambda)$ – оптическая плотность образца. Величина $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ является константой [32].

Соотношение УФ-А/УФ-В рассчитывали по [32; 33]:

$$\text{УФ-А/УФ-В} = \frac{\int_{320 \text{ нм}}^{400 \text{ нм}} Abs(\lambda) d\lambda}{\int_{290 \text{ нм}}^{320 \text{ нм}} Abs(\lambda) d\lambda}.$$

Критическую длину волны определяли по [32; 33]:

$$\int_{290 \text{ нм}}^{\lambda_{\text{крит}}} Abs(\lambda) d\lambda = 0,9 \times \int_{290 \text{ нм}}^{400 \text{ нм}} Abs(\lambda) d\lambda.$$

где $Abs(\lambda)$ – оптическая плотность образца.

Площадь под кривой спектра поглощения в диапазоне $\lambda = 290 \div 400$ нм принимали за 100 %; $\lambda_{\text{крит}}$ рассчитывали как длину волны, при которой данная площадь достигает 90 % [32; 33].

Подготовка стабильных клеточных линий. Для нее использовали эпителиальные клетки человека линии HaCAT (кератиноциты). Культуры клеток были получены в НИЛ проблем терморегуляции кафедры физиологии человека и животных Белорусского государственного университета. Замороженные при минус 80 °С образцы клеток переносили в стакан с водой, температура которой составляла 37 °С. После оттаивания пробирку обрабатывали спиртом, содержимое ресуспендировали, переносили в стерильные полипропиленовые пробирки (15 мл), содержащие 10 мл полной инкубационной среды (DMEM/F-12, 11039 GIBCO; 100 Ед/мл пенициллин; 100 мкг/мл стрептомицин; 0,25 мкг/мл амфотерицин-В; 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, HiCloneInc) [34]. После 5 мин центрифугирования (4 °С, 200 g) жидкую фазу отбрасывали для удаления криоконсерванта, клеточный осадок ресуспендировали в 5 мл полной инкубационной среды и использовали для посева, концентрацию клеток определяли в камере Горяева. Культивирование производилось согласно рекомендациям американской коллекции типовых культур (ATCC) [34].

Для определения модификации фототоксических эффектов культуры кератиноцитов преинкубировали в 96-и луночных планшетах до достижения ими фазы экспоненциального роста (в течение 24 ч). Затем пошагово экспонировали каждый ряд лунок планшета заданное время на поверхности стеклянного УФ-фильтра системы гель-документации Chemidoc (Biorad), предварительно добавив в питательную среду растворы экстрактов из лишайников в диметилсульфоксиде (ДМСО) в концентрациях: 10,0; 5,0 и 2,5 мкг/мл. Время экспозиции каждой лунки соответствовало достижению определенной дозы облучения ультрафиолетом (по УФ-Б), в мДж/см². Энергетический максимум излучения 315 нм, расчетная интегральная (280–450 нм) мощность светового потока 1446 мкВт/см². Доля УФ-Б – 40 % от всего УФ диапазона, мощность светового потока после прохождения через пластик для УФ-Б (280–315 нм) составила 464 мкВт/см², для УФ-А (315–400 нм) – 689 мкВт/см². Далее культивировали клетки в течение 48 ч. По прошествии данного времени оценивали состояние клеточных популяций в тесте на метаболическую активность (МТТ-тест).

Определение метаболической активности клеток проводили с использованием теста на скорость восстановления 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ, M5655, Sigma) [35]. После культивирования клеток, согласно схеме опыта, питательную среду удаляли, дважды промывали ячейки фосфатно-солевым буфером, добавляли раствор питательной среды, содержащий 0,05 % МТТ, после чего два часа инкубировали клетки при 37 °С и 5 % СО₂. Инкубационную среду удаляли, вносили 200 мкл смеси этанол: ДМСО (1:1), содержимое перемешивали до полного растворения кристаллов формазана. Оптическую плотность раствора формазана измеряли при 570 нм с использованием планшетного спектрофотометра TecanSafire II (США). Для нормализации данных применяли измерения при $\lambda = 700$ нм.

Жизнеспособность клеток вычисляли по формуле:

$$\text{жизнеспособность} = \left(\frac{OD_{570} \text{ контрольных лунок}}{OD_{570} \text{ опытной лунки}} \right) \times 100 \%,$$

где OD_{570} – оптическая плотность раствора формазана, измеренная при $\lambda = 570$ нм.

Для уточнения возможных механизмов воздействия ультрафиолета на культуры клеток была проанализирована способность стандартного антиоксиданта тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) снижать фототоксические эффекты.

Анализ результатов исследования производили с помощью программных продуктов Graph Pad Prism Trial (Version 5.02) и Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение

Уровень фотозащиты солнцезащитных средств считается низким при SPF = 2–6; средним – при SPF = 8–12; высоким – при SPF = 15–25; очень высоким – при SPF = 30–50; сверхвысоким – при SPF > 50. По показателям величин критической длины волны субстанции с $\lambda_{\text{крит}} > 370$ нм и SPF > 15,0 признаются солнцезащитными [33]. Показатель УФ-А/УФ-Б является мерой широты защитных свойств. По величине отношения УФ-А/УФ-Б солнцезащитные средства делятся на слабые (0÷0,2); средние (0,2÷0,4); хорошие (0,4÷0,6); превосходные (0,6÷0,8) и максимальные (0,8 ≥) [33; 36].

В диапазоне УФ-Б почти все изучаемые экстракты характеризовались наличием определенных фотозащитных свойств (табл.). Исключение составлял экстракт из *X. parietina*.

Таблица

Фотозащитные свойства этанольных экстрактов из лишайников

Table

Photoprotective properties of ethanolic extracts from lichens

Вид лишайника	SPF	$\lambda_{\text{крит}}$, нм	УФ-А/УФ-Б	ID ₅₀ ультрафиолета, мДж/см ² (по УФ-Б)		
				2,5 мкг/мл	5,0 мкг/мл	10,0 мкг/мл
<i>H. physodes</i>	18,1±0,74	361±3,7	0,77	2,6	2,5	2,5
<i>E. prunastri</i>	34,4±1,02	341±4,8	0,34	2,7	2,9	2,4
<i>R. pollinaria</i>	37,3±0,98	339±2,3	0,31	6,3	6,8	6,8
<i>X. parietina</i>	5,5±0,31	392±3,1	1,35	3	2,3	2,3
<i>C. arbuscula</i>	15,1±0,22	372±1,7	0,89	5,7	5,4	4,1

Солнцезащитным может быть признан только экстракт из *C. arbuscula* с характеристикой «максимальный», тогда как экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *R. pollinaria* могут быть предложены в качестве компонентов защитных средств, обеспечивающих очень высокое поглощение УФ-Б. Этанольный экстракт из *X. parietina* может быть использован в композициях из лишайниковых экстрактов в качестве субстанции, влияющей на величины $\lambda_{\text{крит}}$ и УФ-А/УФ-Б. Величины полуингибирующих доз ультрафиолета были наибольшими с опытах с экстрактами из *R. pollinaria* и *C. arbuscula*.

Для оценки модифицирующего действия лишайниковых веществ на эффекты облучения культур клеток кератиноцитов человека ультрафиолетом применяли концентрации экстрактов, показавшие субтоксичный эффект [37; 38]. Дозы ультрафиолета подбирались на основании предварительных экспериментов с культурами кератиноцитов для охвата различных эффектов (субтоксичный, полутоксичный, токсичный). Схема эксперимента предполагала оценку модифицирующего действия экстрактов из лишайников только за счет биологических эффектов (антиоксидантная активность, активация систем репарации ДНК и др.), но не за счет эффектов фильтрации УФ-излучения (клетки облучались снизу, без прохождения ультрафиолета через питательную среду с экстрактом).

По результатам определения величин полуингибирующих доз ультрафиолета на культуры кератиноцитов (HaCAT) при добавлении в питательную среду экстрактов из лишайников и без них рассчитывали величины фактора изменения цитотоксичности:

$$\text{ФИЦ} = \frac{ID_{50}(\text{опыт})}{ID_{50}(\text{контроль})},$$

где $ID_{50}(\text{опыт})$ – величина полулетальной дозы облучения кератиноцитов при добавлении в питательную среду экстрактов из лишайников; $ID_{50}(\text{контроль})$ – без добавления экстрактов из лишайников (рис. 1).

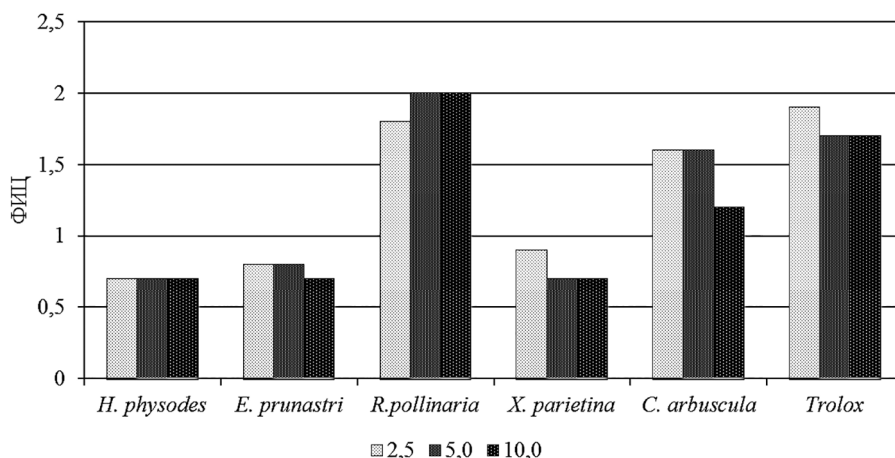


Рис. 1. Модификация экстрактами из лишайников цитотоксичности ультрафиолета в отношении кератиноцитов человека (HaCAT)

Fig. 1. Modification with extracts from lichens of ultraviolet cytotoxicity against human keratinocyte (HaCAT)

Этанольные экстракты из *R. pollinaria* и *C. arbuscula* обладали выраженным фотопротекторным действием: их присутствие в среде культивирования в 1,6÷2,0 раза понижало гибель клеток кератиноцитов. Защитное действие экстрактов из *R. pollinaria* нарастало с ростом концентрации экстракта, тогда как защитное действие экстрактов из *C. arbuscula* было максимальным в низких концентрациях. Экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* демонстрировали умеренные фотосенсибилизирующие свойства. При этом концентрация экстрактов из *H. physodes* практически не влияла на величину ФИЦ, тогда как фотосенсибилизирующая активность экстрактов из *E. prunastri* и *X. parietina* возрастала по мере увеличения концентрации.

Степень модификации токсического действия ультрафиолета на культуры клеток кератиноцитов человека была не одинаковой при изменении доз ультрафиолета и введении различных концентраций растворов экстрактов из лишайников в среду культивирования (рис. 2–4).

При концентрациях экстрактов из лишайников 2,5 мг/мл и росте доз ультрафиолета экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* снижали жизнеспособность кератиноцитов по всему диапазону облучения, начиная с 1 мДж/см², 3 мДж/см² и < 1 мДж/см² соответственно (рис. 2).

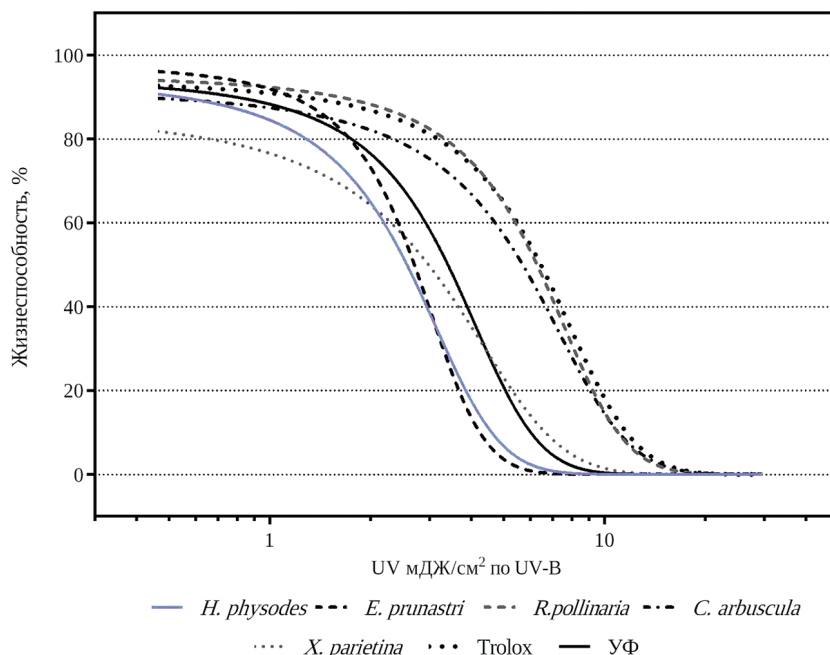


Рис. 2. Влияние дозы ультрафиолета и экстрактов из лишайников (2,5 мкг/мл) на жизнеспособность кератиноцитов человека (HaCAT)

Fig. 2. Influence of the ultraviolet dose and lichen extracts concentration (2.5 µg / ml) on the human keratinocyte (HaCAT) viability

Экстракты из *R. pollinaria* и *C. arbuscula* проявляли фотозащитные свойства. Кривые гибели клеток линии HaCAT для экстракта из *R. pollinaria* и тролокса практически совпадали, что позволяет предположить антиоксидантный механизм защитного действия экстрактов из лишайника в малых концентрациях. Защитные свойства экстракта из *C. arbuscula* были несколько хуже таковых для *R. pollinaria* и тролокса при малых дозах УФ, и сравнялись с ними после 10 мДж/см².

Удвоение концентрации экстрактов из лишайников и наращивание дозы ультрафиолета в диапазоне до 10 мДж/см² позволило обнаружить эффект усиления защитного действия экстракта из *R. pollinaria* (рис. 3).

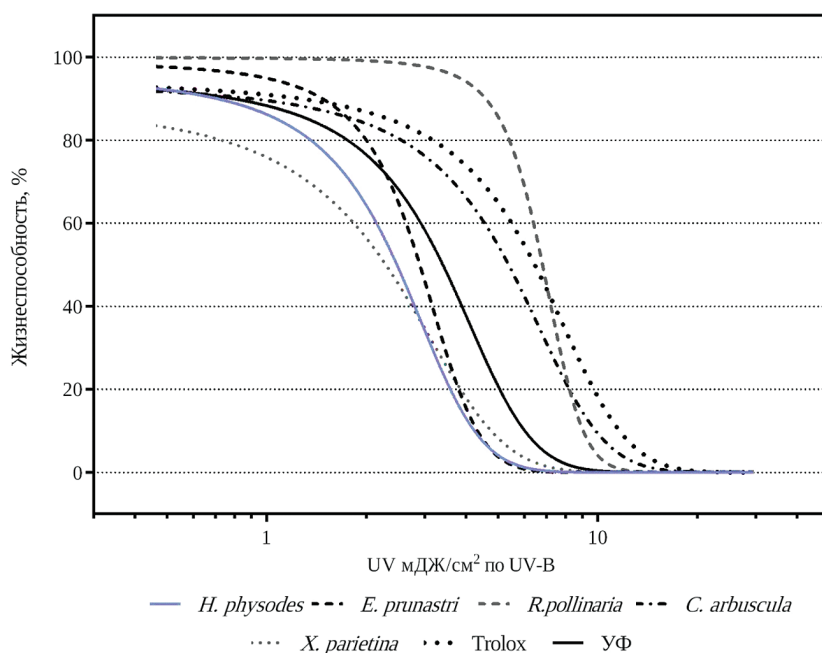


Рис. 3. Влияние дозы ультрафиолета и экстрактов из лишайников (5,0 мкг/мл) на жизнеспособность кератиноцитов человека (HaCAT)

Fig. 3. Influence of the ultraviolet dose and lichen extracts concentration (5.0 µg / ml) on the human keratinocyte (HaCAT) viability

Ранее было показано, что экстракты из рамалины пыльцеватой способны стимулировать метаболизм клеток линии HaCAT [37, 38]. Защитные свойства экстракта из *C. arbuscula* были аналогичны таковым для концентрации 2,5 мкг/мл. Экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* несколько активнее снижали жизнеспособность кератиноцитов по всему диапазону облучения, начиная с 1 мДж/см², 3 мДж/см² и < 1 мДж/см² соответственно. Данный эффект является сугубо фотосенсибилизирующим, так как в тестах на цитотоксичность в диапазоне концентраций экстрактов до 10 мкг/мл токсических свойств экстрактов из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* в отношении клеток линии HaCAT не выявлено.

Введение в питательную среду экстрактов из лишайников в концентрации 10 мкг/мл на фоне роста доз ультрафиолета выявило изменение характера реакции клеток кератиноцитов человека на облучение (рис. 4).

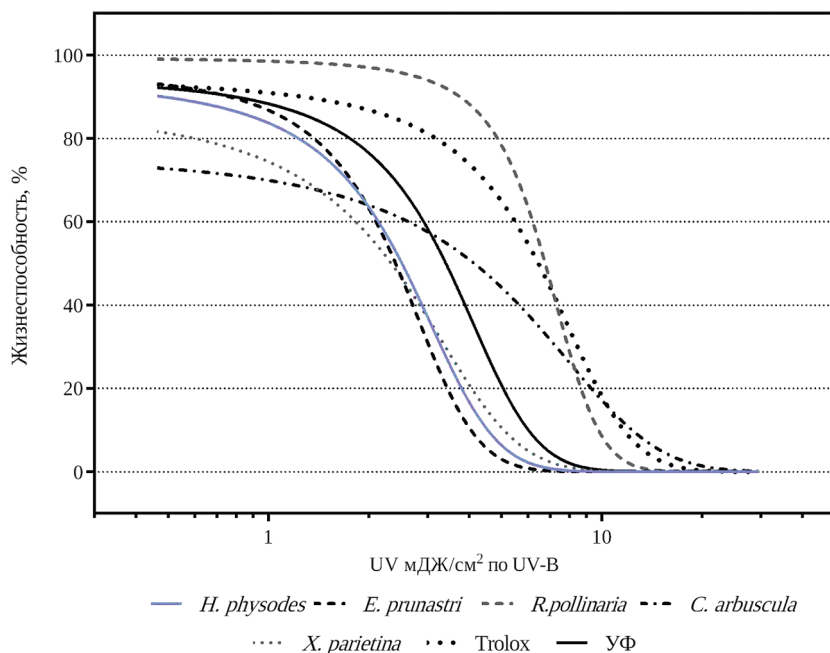


Рис. 4. Влияние дозы ультрафиолета и экстрактов из лишайников (10,0 мкг/мл) на жизнеспособность кератиноцитов человека (HaCAT)

Fig. 4. Influence of the ultraviolet dose and lichen extracts concentration (10.0 µg / ml) on the human keratinocyte (HaCAT) viability

Итак, при малых дозах ультрафиолета проявились цитотоксические свойства экстракта из *C. arbuscula*, тогда как при дозах свыше 3 мДж/см² данный экстракт демонстрировал фотозащитные свойства. В диапазоне до 10 мДж/см² экстракт из *R. pollinaria* показал наибольшую фотозащитную активность. Фотосенсибилизирующая активность экстрактов из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* возрастала.

Таким образом, установлено явление *in vitro* модификации экстрактами из лишайников чувствительности кератиноцитов человека (HaCAT) к ультрафиолетовому облучению. При повышении доз ультрафиолета защитные свойства этанольных экстрактов из лишайников в отношении культур клеток кератиноцитов человека изменяются.

Протекторная активность экстрактов из *R. pollinaria* усиливалась по мере увеличения концентрации, так как параллельно отмечалось постепенное снижение токсичности ультрафиолета, вплоть до 10 мДж/см. Такие особенности кривых могут указывать на присутствие в экстракте неспецифического протектора, эффект которого усиливается за счет увеличения его концентрации в питательной среде до определенного предела. Умеренная стимуляция метаболической активности клеток кератиноцитов экстрактами из лишайника может свидетельствовать о наличии веществ, повышающих общий метаболический статус клеток и их синергическом взаимодействии с собственно фотопротекторными соединениями.

Концентрации экстрактов из *C. arbuscula* 2,5–5,0 мкг/мл не влияли на токсическое действие ультрафиолета в диапазоне доз ультрафиолета 0,3–1,1 мДж/см². При дозах 3–10 мДж/см² растворы экстрактов кладонии лесной малых концентраций эффективно снижали цитотоксическое действие ультрафиолета. Высокие концентрации экстракта способствовали понижению жизнеспособности

клеточной популяции при дозах УФ 0,3–1,1 мДж/см², а также снижению цитотоксического действия облучения при 3–10 мДж/см². Данное явление можно объяснить цитостатическим действием экстракта из лишайника. В клеточных популяциях появлялся пул неделящихся клеток, которые менее подвержены повреждающим факторам. Их присутствие объясняет понижение средней метаболической активности клеточных популяций при облучении нетоксичными дозами ультрафиолета.

Фотосенсибилизирующий эффект экстрактов из *H. physodes* и *X. parietina* проявлялся уже при 1 мДж/см² (*H. physodes*) и >1 мДж/см² (*X. parietina*), сохранялся вплоть до летальных доз излучения – 10 мДж/см². Рост токсических эффектов от ультрафиолета при добавлении экстракта из *E. prunastri* начинался с дозы 3 мДж/см². Фотосенсибилизирующие свойства экстрактов *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* в некоторой степени зависели от концентрации.

Результаты многих исследований антиоксидантных свойств экстрактов из лишайников свидетельствуют о существенной вариабельности данных, а также об их довольно низкой эффективности в сравнении со стандартными антиоксидантами. Так, для лишайников рода *Ramalina* в DPPH-тесте показана полуэффективная доза их экстрактов 60–500 мкг/мл, для рода *Cladonia* – 461–987 мкг/мл, для *H. physodes* – 22–46 мкг/мл, тогда как для тролокса данная величина составляет 6–9 мкг/мл [22; 39–45].

Показанные в настоящей работе фотозащитные свойства этанольного экстракта из *R. pollinaria*, по-видимому, связаны с наличием иного (не антиоксидантного) признака коррекции цитотоксических эффектов ультрафиолета. Защитные свойства экстракта из *C. arbuscula* в какой-то мере могут быть объяснены способностью содержащейся в данном лишайнике усниновой кислоты блокировать клеточный цикл в G₀/G₁ и, тем самым, делать клеточную популяцию менее чувствительной к повреждающим ДНК факторам [10; 46].

Перспективным фотопротектором считается париедин – основной вторичный метаболит *X. parietina* [18; 47–50]. Полученные нами данные свидетельствуют об обратном: этанольный экстракт имеет SPF = 5,5±0,31 и обладает фотосенсибилизирующей активностью, увеличивающейся с возрастанием концентрации раствора.

Данных о фотосенсибилизирующей активности экстрактов из *H. physodes* и *E. prunastri* практически не существует. Мы можем лишь настаивать на сенсibilизационном механизме снижения жизнеспособности кератиноцитов человека экстрактами из *H. physodes* и *E. prunastri* с увеличением дозы ультрафиолета, поскольку в настоящем исследовании применялись субтоксичные концентрации.

Заключение

Этанольные экстракты из распространенных в лесах Беларуси лишайников характеризуются *in vitro* определенными фотозащитными свойствами: *Hypogymnia physodes* и *Cladonia arbuscula* – высокими; *Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria* – очень высокими; *Xanthoria parietina* – низкими. По показателям величины SPF, критической длины волны и отношения УФ-А/УФ-Б этанольный экстракт из *C. arbuscula* является солнцезащитным с характеристиками для уровня фотозащиты «высокий» и «максимальный». В отношении культур кератиноцитов (HaCAT) экстракты из лишайников проявили свойства модификаторов чувствительности клеток к ультрафиолетовому облучению – экстракты из *R. pollinaria* и *C. arbuscula* в 1,6–2,0 раза понижали полулетальную дозу облучения, экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* – в полтора раза повышали. При увеличении доз облучения кератиноцитов ультрафиолетом от нулевых до летальных значений, экстракты из *R. pollinaria* выступали фотопротекторами, причем их активность повышалась с увеличением концентрации. Экстракты из *C. arbuscula* в концентрациях 2,5 ÷ 5,0 мкг/мл также проявляли фотопротекторные свойства и подавляли жизнедеятельность кератиноцитов при концентрациях, близких к полунгибирующим [37]. Этанольные экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* при увеличении доз ультрафиолета проявляли умеренные сенсibilизационные свойства, связанные с их токсичностью для кератиноцитов.

Библиографические ссылки

1. Lucas R., McMichael T., Wayne S., et al. Solar ultraviolet radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation. Environmental Burden of Disease Series. 13. World Health Organization. Public Health and the Environment. Geneva, 2006.
2. Collman G. W., Shore D. L., Shy C. M., et al. Sunlight and other risk factors for cataracts: an epidemiologic study // American j. of public health. 1988. Vol. 78(11). P. 1459–1462.
3. Taylor H. R., West S. K., Rosenthal F. S., et al. Effect of ultraviolet radiation on cataract formation // New England J. of Medicine. 1988. Vol. 319(22). P. 1429–1433.
4. Watson M., Holman D. M., Maguire-Eisen M. Ultraviolet radiation exposure and its impact on skin cancer risk // Seminars in Oncology Nursing. 2016. Vol. 32(3). P. 241–254.
5. Yaar M., Gilchrist B. A. Photoageing: mechanism, prevention and therapy // British J. of Dermatology. 2007. Vol. 157(5). P. 874–887.

6. Clydesdale G. J., Dandie G. W., Muller H. K. Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects // Immunology and cell biology. 2001. Vol. 79(6). P. 547–568.
7. Selgrade M. K., Repacholi M. H., Koren H. S. Ultraviolet radiation-induced immune modulation: potential consequences for infectious, allergic, and autoimmune disease // Environmental health perspectives. 1997. Vol. 105(3). P. 332–334.
8. Borradaile D., Isenring E., Hacker E., et al. Exposure to solar ultraviolet radiation is associated with a decreased folate status in women of childbearing age // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2014. Vol. 131(5). P. 90–95.
9. D’Orazio J., Jarrett S., Amaro-Ortiz A., Scott T. UV radiation and the skin // International j. of molecular sciences. 2013. Vol. 14(6). P. 12222–12248.
10. Matsumura Y., Ananthaswamy H. N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin // Toxicology and applied pharmacology. 2004. Vol. 195(3). P. 298–308.
11. Schuch A. P., Moreno N. C., Schuch N. J. et al. Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions // Free Radical Biology and Medicine. 2017. Vol. 107. P. 110–124.
12. Karran P., Brem R. Protein oxidation, UVA and human DNA repair // DNA repair. 2016. Vol. 44. P. 178–185.
13. Parker F. R. Department of Health and Human Services, US Food and Drug Administration: Authority and Responsibility // FDA Administrative Enforcement Manual. CRC Press. 2005.
14. Hong Y. H., Lee H. S., Jung E. Y., et al. Photoprotective effects of topical ginseng leaf extract using Ultraflo L against UVB-induced skin damage in hairless mice // J. of ginseng research. 2017. Vol. 41(4). P. 456–462.
15. Matsui M., Tanaka K., Higashiguchi N., et al. Protective and therapeutic effects of fucoxanthin against sunburn caused by UV irradiation // J. of pharmacological sciences. 2016. Vol. 132(1). P. 55–64.
16. Jung H. Y., Shin J. C., Park S. M., et al. *Pinus densiflora* extract protects human skin fibroblasts against UVB-induced photoaging by inhibiting the expression of MMPs and increasing type I procollagen expression // Toxicology reports. 2014. Vol. 1. P. 658–666.
17. Raven J. A. Energy and nutrient acquisition by autotrophic symbioses and their asymbiotic ancestors // Symbiosis. 1993. Vol. 14. P. 33–60.
18. Nybakken L., Solhaug R. A., Bilger W., et al. The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats // Oecologia. 2004. Vol. 140(2). – P. 211–216.
19. Solhaug K. A., Gauslaa Y., Nybakken L., et al. UV□induction of sun□screening pigments in lichens // New Phytologist. 2003. Vol. 158(1). P. 91–100.
20. Radice M., Manfredini S., Ziosi P., et al. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review // Fitoterapia. 2016. Vol. 114. P. 144–162.
21. Boehm F., Clarke K., Edge R. et al. Lichens-Photophysical studies of potential new sunscreens // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2009. Vol. 95(1). P. 40–45.
22. Millot M., Di Meo F., Tomasi S., et al. Photoprotective capacities of lichen metabolites: a joint theoretical and experimental study // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2012. Vol. 111(4). P. 17–26.
23. Rancan F., Rosan S., Boehm K. et al. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2002. Vol. 68 (2–3). P. 133–139.
24. Torres A., Hochberg M., Pergament I., et al. A new UV□B absorbing mycosporine with photo protective activity from the lichenized ascomycete *Collema cristatum* // European journal of biochemistry. 2004. Vol. 271(4). P. 780–784.
25. Russo A., Piovano M., Lombardo L., et al. Lichen metabolites prevent UV light and nitric oxide-mediated plasmid DNA damage and induce apoptosis in human melanoma cells // Life sciences. 2008. Vol. 83(13–14). P. 468–474.
26. Smith C. W., Aptroot A., Coppins B. J., et al. The Lichens of Great Britain and Ireland. 2nd ed. London. 2009.
27. Huneck S., Yoshimura. I. Identification of lichen substances. Berlin, Heidelberg, 1996.
28. Elix J. A. A Catalogue of Standardized Thin Layer Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances. Canberra, 2014.
29. Цуриков А. Г. Лишайники юго-востока Беларуси (опыт лишеномониторинга). Гомель, 2013.
30. Воскресенский П. И. Техника лабораторных работ. М, 1973
31. Mansur J. S., Breder M. V. R., Mansur M. C. A., et al. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria // An. Bras. Dermatol. 1986. Vol. 61. P. 121–124.
32. Sayre R. M., Agin P. P., Levee G. J., et al. Comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas // Photochem Photobiol. 1979. Vol. 29. P. 559–566.
33. Rojas, J. L., Díaz-Santos M., Valencia-Islas N. A. Metabolites with antioxidant and photo-protective properties from *Usnea roccellina* Motyka, a lichen from Colombian Andes // UK J. of Pharmaceutical and Biosciences. 2015. Vol. 3 (4). P. 18–26.
34. American Type Culture Collection [Электронный ресурс]. 2018. URL: <https://www.atcc.org> (дата обращения: 18.08.2018).
35. Van Meerloo J., Kaspers G. J. L., Cloos J. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. In: Cree I. (eds) Cancer Cell Culture. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols). Vol 731. 2011.
36. Springsteen A., Yurek R., Frazier M., et al. In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance // Analytica Chimica Acta. 1999. Vol. 380 (2–3). P. 155–164.
37. Храмченкова О. М., Матвеевков М. В. Цитотоксическая активность экстрактов из четырех видов лишайников в отношении культур опухолевых клеток // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 2. С. 88–98.
38. Храмченкова О. М., Матвеевков М. В. Цитотоксическая активность ацетоновых экстрактов из лишайников в отношении линии кератиноцитов человека HaCAT // Известия Гом. гос. ун-та им. Ф. Скорины, № 3 (108). 2018. С. 81–86.
39. Vinayaka K. S., Kumar S. V. P., Kekuda P. T. R., et al. Proximate composition, antioxidant, anthelmintic and insecticidal activity of a macrolichen *Ramalina conduplicans* Vain. (Ramalinaceae) // European J. of Applied Sciences. 2009. Vol. 1(3). P. 40–46.
40. Stanly C., Hag Ali D. M., Keng C. L., et al. Comparative evaluation of antioxidant activity and total phenolic content of selected lichen species from Malaysia // J. Pharm Res. 2011. Vol. 4(8). С. 2824–2827.
41. Gunasekaran S., Rajan V. P., Ramanathan S., et al. Antibacterial and antioxidant activity of lichens *Usnea rubrotincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and their chemical constituents // Malaysian J. of Analytical Sciences. 2016. Vol. 20(1). P. 1–13.
42. Gulluce M., Aslan A., Sokmen M., et al. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana* // Phytomedicine. 2006. Vol. 13 (7). P. 515–521.

43. Kosanić M., Rancović B., Stanojković T., et al. *Cladonia* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents // LWT-Food Science and Technology. 2014. Vol. 59 (1). P. 518–525.
44. Mitrović T., Stamenković S., Cvetković, et al. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species // International J. of Molecular Sciences. 2011. Vol. 12(8). P. 5428–5448.
45. Hall R. S. B., Bornman J. F., Bjorn L. O. UV-induced changes in pigment content and light penetration in the fruticose lichen *Cladonia arbuscula* ssp. *mitis* // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2002. Vol. 66 (1). P. 13–20.
46. Singh N., Nambiar D., Kale R. K., Singh R. P. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells // Nutrition and cancer. 2013. Vol. 65, issue 1. P. 36–43.
47. Czeżuga, V., Etayo J., Giralto M. et al. Carotenoids in the thalli of lichen species on the Iberian Peninsula // Feddes Rept. 1996. – Vol. 107 (1–2). P. 89–97.
48. Vrábliková H., McEvoy M., Solhaug K.A. et al. Annual variation in photoacclimation and photoprotection of the photobiont in the foliose lichen *Xanthoria parietina* // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2006. Vol. 83 (2). P. 151–162.
49. Solhaug K. A., Gauslaa Y. Parietin, a photoprotective secondary product of the lichen *Xanthoria parietina* // Oecologia. 1996. Vol. 108 (3). P. 412–418.
50. Lohézic-Le Dévéhat F., Legouin B., Couteau C. et al. Lichenic extracts and metabolites as UV filters // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2013. Vol. 120 (5). P. 17–28.

References

1. Lucas R., McMichael T., Wayne S., et al. Solar ultraviolet radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation. Environmental Burden of Disease Series. 13. World Health Organization. Public Health and the Environment. Geneva, 2006.
2. Collman G. W., Shore D. L., Shy C. M., et al. Sunlight and other risk factors for cataracts: an epidemiologic study. *American j. of public health*. 1988. Vol. 78 (11). P. 1459–1462.
3. Taylor H. R., West S. K., Rosenthal F. S., et al. Effect of ultraviolet radiation on cataract formation. *New England J. of Medicine*. 1988. Vol. 319 (22). P. 1429–1433.
4. Watson M., Holman D. M., Maguire-Eisen M. Ultraviolet radiation exposure and its impact on skin cancer risk. *Seminars in Oncology Nursing*. 2016. Vol. 32 (3). P. 241–254.
5. Yaar M., Gilchrist B. A. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *British J. of Dermatology*. 2007. Vol. 157 (5). P. 874–887.
6. Clydesdale G. J., Dandie G. W., Muller H. K. Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects. *Immunology and cell biology*. 2001. Vol. 79 (6). P. 547–568.
7. Selgrade M. K., Repacholi M. H., Koren H. S. Ultraviolet radiation-induced immune modulation: potential consequences for infectious, allergic, and autoimmune disease. *Environmental health perspectives*. 1997. Vol. 105 (3). P. 332–334.
8. Borradaile D., Isenring E., Hacker E., et al. Exposure to solar ultraviolet radiation is associated with a decreased folate status in women of childbearing age. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2014. Vol. 131(5). P. 90–95.
9. D’Orazio J., Jarrett S., Amaro-Ortiz A., Scott T. UV radiation and the skin. *International j. of molecular sciences*. 2013. Vol. 14(6). P. 12222–12248.
10. Matsumura Y., Ananthaswamy H. N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and applied pharmacology*. 2004. Vol. 195(3). P. 298–308.
11. Schuch A. P., Moreno N.C., Schuch N. J., et al. Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. *Free Radical Biology and Medicine*. 2017. Vol. 107. P. 110–124.
12. Karran P., Brem R. Protein oxidation, UVA and human DNA repair. *DNA repair*. 2016. Vol. 44. P. 178–185.
13. Parker F. R. Department of Health and Human Services, US Food and Drug Administration: Authority and Responsibility. *FDA Administrative Enforcement Manual*. CRC Press. 2005.
14. Hong Y. H., Lee H. S., Jung E. Y., et al. Photoprotective effects of topical ginseng leaf extract using Ultraflo L against UVB-induced skin damage in hairless mice. *J. of ginseng research*. 2017. Vol. 41 (4). P. 456–462.
15. Matsui M., Tanaka K., Higashiguchi N., et al. Protective and therapeutic effects of fucoxanthin against sunburn caused by UV irradiation. *J. of pharmacological sciences*. 2016. Vol. 132 (1). P. 55–64.
16. Jung H. Y., Shin J. C., Park S. M., et al. Pinus densiflora extract protects human skin fibroblasts against UVB-induced photoaging by inhibiting the expression of MMPs and increasing type I procollagen expression. *Toxicology reports*. 2014. Vol. 1. P. 658–666.
17. Raven J. A. Energy and nutrient acquisition by autotrophic symbioses and their asymbiotic ancestors. *Symbiosis*. 1993. Vol. 14. P. 33–60.
18. Nybakken L., Solhaug R. A., Bilger W., Gauslaa Y. The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats. *Oecologia*. 2004. Vol. 140 (2). – P. 211–216.
19. Solhaug K. A., Gauslaa Y., Nybakken L., Bilger W. UV□induction of sun□screening pigments in lichens. *New Phytologist*. 2003. Vol. 158 (1). P. 91–100.
20. Radice M., Manfredini S., Ziosi P., et al. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review. *Fitoterapia*. 2016. Vol. 114. P. 144–162.
21. Boehm F., Clarke K., Edge R., et al. Lichens–Photophysical studies of potential new sunscreens. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2009. Vol. 95 (1). P. 40–45.
22. Millot M., Di Meo F., Tomasi S., et al. Photoprotective capacities of lichen metabolites: a joint theoretical and experimental study. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2012. Vol. 111(4). P. 17–26.
23. Rancan F., Rosan S., Boehm K., et al. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2002. Vol. 68(2–3). P. 133–139.
24. Torres A., Hochberg M., Pergament I., et al. A new UV□B absorbing mycosporine with photo protective activity from the lichenized ascomycete *Collema cristatum*. *European j. of biochemistry*. 2004. Vol. 271 (4). P. 780–784.
25. Russo A., Piovano M., Lombardo L., et al. Lichen metabolites prevent UV light and nitric oxide-mediated plasmid DNA damage and induce apoptosis in human melanoma cells. *Life sciences*. 2008. Vol. 83 (13–14). P. 468–474.

26. Smith C. W., Aptroot A., Coppins B. J., et al. The Lichens of Great Britain and Ireland. London. 2009.
27. Huneck S., Yoshimura. I. Identification of lichen substances. Berlin, Heidelberg, 1996.
28. Elix J. A. A Catalogue of Standardized Thin Layer Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances. Canberra, 2014.
29. Tsurykau A. G. [Lichens of the southeast of Belarus (experience of lichen monitoring)]. Gomel, 2013 (in Russ.).
30. Voskresenskij P. I. [Technique of laboratory works]. Moscow, 1973 (in Russ.).
31. Mansur J. S., Breder M. V. R., Mansur M. C. A., et al. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.* 1986. Vol. 61. P. 121–124.
32. Sayre R. M., Agin P. P., Levee G. J., et al. Comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas. *Photochem Photobiol.* 1979. Vol. 29. P. 559–566.
33. Rojas, J. L., Díaz-Santos M., Valencia-Islas N. A. Metabolites with antioxidant and photo-protective properties from *Usnea roccellina* Motyka, a lichen from Colombian Andes. *UK J. of Pharmaceutical and Biosciences.* 2015. Vol. 3 (4). P. 18–26.
34. American Type Culture Collection. 2018. URL: <https://www.atcc.org> (date of access: 18.08.2018).
35. Van Meerloo J., Kaspers G. J. L., Cloos J. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. In: Cree I. (eds) Cancer Cell Culture. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols). Vol 731. 2011.
36. Springsteen A., Yurek R., Frazier M., et al. In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance // *Analytica Chimica Acta.* 1999. Vol. 380 (2–3). P. 155–164.
37. Khramchankova V. M., Matveyenkau M. V. [Cytotoxic activity of extracts from the four lichen species against human cancer cells lines]. *J. of the Belarusian state university. Ecology.* 2018. No 2. P. 88–98 (in Russ.).
38. Khramchankova V. M., Matveyenkau M. V. [Cytotoxic activity of acetone extracts from some lichen species on human keratinocyte growth]. *News of Francisk Skorina Gomel State University.* 2018. No 3 (108). P. 81–86 (in Russ.).
39. Vinayaka K. S., Kumar S. V. P., Kekuda P. T. R., et al. Proximate composition, antioxidant, anthelmintic and insecticidal activity of a macrolichen *Ramalina conduplicans* Vain. (Ramalinaceae). *European J. of Applied Sciences.* 2009. Vol. 1 (3). P. 40–46.
40. Stanly C., Hag Ali D. M., Keng C. L., et al. Comparative evaluation of antioxidant activity and total phenolic content of selected lichen species from Malaysia // *J Pharm Res.* 2011. Vol. 4 (8). C. 2824–2827.
41. Gunasekaran S., Rajan V. P., Ramanathan S., et al. Antibacterial and antioxidant activity of lichens *Usnea rubrotincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and their chemical constituents. *Malaysian J. of Analytical Sciences.* 2016. Vol. 20 (1). P. 1–13.
42. Gulluce M., Aslan A., Sokmen M., et al. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine.* 2006. Vol. 13 (7). P. 515–521.
43. Kosanić M., Rancović B., Stanojković T., et al. *Cladonia* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *LWT-Food Science and Technology.* 2014. Vol. 59 (1). P. 518–525.
44. Mitrović T., Stamenković S., Cvetković, et al. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species. *International J. of Molecular Sciences.* 2011. Vol. 12 (8). P. 5428–5448.
45. Hall R. S. B., Bornman J. F., Bjorn L. O. UV-induced changes in pigment content and light penetration in the fruticose lichen *Cladonia arbuscula* ssp. *mitis*. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2002. Vol. 66 (1). P. 13–20.
46. Singh N., Nambiar D., Kale R. K., et al. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells. *Nutrition and cancer.* 2013. Vol. 65, issue 1. P. 36–43.
47. Czezug, V., Etayo J., Giral M., et al. Carotenoids in the thalli of lichen species on the Iberian Peninsula. *Feddes Repert.* 1996. Vol. 107 (1–2). P. 89–97.
48. Vráblíková H., McEvoy M., Solhaug K. A., et al. Annual variation in photoacclimation and photoprotection of the photobiont in the foliose lichen *Xanthoria parietina*. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2006. Vol. 83 (2). P. 151–162.
49. Solhaug K. A., Gauslaa Y. Parietin, a photoprotective secondary product of the lichen *Xanthoria parietina*. *Oecologia.* 1996. Vol. 108 (3). P. 412–418.
50. Lohézic-Le Dévéhat F., Legouin B., Couteau C. et al. Lichenic extracts and metabolites as UV filters. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2013. Vol. 120 (5). P. 17–28.

Статья поступила в редколлегию 30.11.2018
Received by editorial board 30.11.2018

РАДИОЭКОЛОГИЯ И РАДИОБИОЛОГИЯ, РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

RADIOECOLOGY AND RADIOBIOLOGY, RADIATION SAFETY

УДК 616.006

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПОПУЛЯЦИОННОГО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА В СОВРЕМЕННОЙ РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКЕ: ОТ РУТИННОГО СКРИНИНГА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ К ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОМУ СКРИНИНГУ

Т. В. КОСТЕЦКАЯ¹⁾, А. Н. БАТЯН²⁾, М. В. ЛОБАЙ²⁾

¹⁾Белорусская государственная академия последипломного образования,
ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Беларусь

²⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

Проведен обзор литературы, посвященный проблемам и перспективам скрининга рака молочной железы. От-
ражена эффективность маммографии как скринингового метода в снижении смертности от РМЖ, указаны модели
и параметры скрининга.

Образец цитирования:

Костецкая Т. В., Батян А. Н., Лобай М. В. Основные прин-
ципы популяционного онкологического скрининга в со-
временной радиоэкологической обстановке: от рутинного
скрининга рака молочной железы к персонализированному
скринингу // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018.
№ 4. С. 63–75.

For citation:

Kostetskaya T. V., Batyan A. N., Labai M. V. Basic principles of
population oncological screening in modern radio-ecological
situation: routine screening of breast cancer to personalized
screening. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 63–75
(in Russ.).

Авторы:

Татьяна Владимировна Костецкая – кандидат медицин-
ских наук, доцент, доцент кафедры онкологии.
Анатолий Николаевич Батян – доктор медицинских
наук, профессор, заведующий кафедрой экологической ме-
дицины и радиобиологии.
Марина Валерьевна Лобай – преподаватель кафедры им-
мунологии и экологической эпидемиологии.

Authors:

Tatyana V. Kostetskaya, Ph.D. (medical), associate professor;
associate professor of the department of oncology.
t.kostetskayachem@rambler.ru
Anatoly N. Batyan, doctor of sciences (medical), professor;
head of the department of environmental medicine and
radiobiology
ant_b@tut.by
Maryna V. Labai, PhD (biology); lecturer of the department of
immunology and environmental epidemiology.
marina.lobai@mail.ru

Идеология скрининга базируется на том соображении, что рутинное клиническое обследование и самообследование обычно не обеспечивает выявление бессимптомных и ранних форм рака. Поэтому необходимо применение таких инструментально-диагностических средств, которые обнаруживали бы проявления значительно более ранних форм опухолей.

В ранней диагностике рака молочной железы в настоящее время высока роль вторичной профилактики: превентивного выявления опухолей молочной железы. В практике здравоохранения стран Западной Европы, Америки уже несколько десятилетий проводится маммографический скрининг рака молочной железы, позволивший снизить смертность от этого заболевания в данных государствах на 25–30 %.

Ключевые слова: рак молочной железы; скрининг; маммография.

BASIC PRINCIPLES OF POPULATION ONCOLOGICAL SCREENING IN MODERN RADIO-ECOLOGICAL SITUATION: ROUTINE SCREENING OF BREAST CANCER TO PERSONALIZED SCREENING

T. V. KOSTETSKAYA^a, A. N. BATYAN^b, M. V. LABA[†]

^aBelarusian Medical Academy of Post-Graduate Education

P. Brovki street, 3/3, 220013, Minsk, Belarus

^bBelarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,

Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus

Corresponding author: T. V. Kostetskaya (t.kostetskayachem@rambler.ru)

The article presents a review of the literature on the problems and prospects of breast cancer screening. The effectiveness of mammography as a screening method in reducing mortality from breast cancer is reflected, and the models and parameters of screening are indicated.

The ideology of screening is based on the consideration that routine clinical examination and self-examination usually do not detect asymptomatic and early forms of cancer. Therefore, it is necessary to use such instrumental diagnostic tools that would reveal manifestations of significantly earlier forms of tumors.

In the early diagnosis of breast cancer, the role of secondary prophylaxis is currently high, preventive detection of breast tumors. In the practice of health care in the countries of Western Europe and America, breast cancer screening has been conducted for several decades, which has reduced mortality from this disease in these states by 25–30 %.

Key words: breast cancer; screening; mammography.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующее место в структуре онкологической заболеваемости женщин и является одной из наиболее частых причин смерти.

На сегодняшний день не выявлено специфических факторов риска развития РМЖ, поскольку заболевание является мультифакторным, связанным как с генетическими предпосылками, так и с влиянием окружающей среды.

Нарастающие показатели заболеваемости раком молочной железы находятся вне контроля в связи с отсутствием в настоящее время надлежащей первичной профилактики онкологических заболеваний. Из 10 млн регистраций новых случаев злокачественных опухолей, выявляемых в мире, 10 % случаев приходится на РМЖ. Удельный вес РМЖ в женской популяции в среднем составляет 22 %, а в промышленно развитых странах – 27 %. В третье тысячелетие мировое сообщество вступает с высокой и нарастающей заболеваемостью раком молочной железы. Эта тенденция касается как развитых, так и развивающихся стран. Общее число регистрируемых ежегодно новых случаев РМЖ намного превысит 1 млн. Рост заболеваемости будет связан:

- в промышленно развитых странах со вторичной профилактикой РМЖ, что выразится в высоком удельном весе РМЖ *in situ* (примерно 25 %) и ранних стадий T1–2 No Mo (до 60–70 %);
- в развивающихся странах – с факторами риска от нарастания урбанизации и внедрения вторичной профилактики.

Мировое сообщество предпринимает практические шаги по консолидации в борьбе с угрозой повышения заболеваемости РМЖ. Европейская система скрининга работает с 1988 г. и отличается

соблюдением скрининговой политики. В свою очередь, скрининговая политика – это научное обоснование и систематический обзор качества и результатов. В 1998 г. во Флоренции (Италия) была принята декларация по РМЖ, направленная на повышение уровня осведомленности всех женщин Европы по проблеме РМЖ, на увеличение образовательного ценза в данной области и на широкое использование маммографического скрининга. Представитель скрининговой службы системы общественного здравоохранения *QA* (Англия) Сью Коэн отмечает: «Скрининг – это не метод диагностики, а программа системы общественного здравоохранения». В 2003 г. Европарламент принимает резолюцию по РМЖ в странах Евросоюза. В 2006 г. принята резолюция Европейского парламента по проблеме РМЖ в странах расширенного Евросоюза. Также в 2006 г. появилось первое Руководство Европейских рекомендаций по обеспечению качества скрининга и диагностики рака молочной железы. В 2009 г. и в 2015 г. были опубликованы Заявления Европарламента по борьбе против РМЖ в рамках Евросоюза. Главные акценты в этом заявлении были сделаны на уровне заболеваемости РМЖ среди молодых женщин. Было отмечено, что 35 % случаев РМЖ принадлежит женщинам старше 55 лет; 12 % – женщинам возрастной группы ниже 45 лет, а 20 % женщин после лечения РМЖ вообще не возвращается к профессиональной деятельности. Кроме того, клинический диагноз сопровождается социальной дискриминацией. В 2012 г. создана Еврокомиссия по проблемам РМЖ. Разработка рекомендаций по скринингу РМЖ в основном опирается на результаты рандомизированных контролируемых исследований. Этот краткий перечень узловых моментов по организации и внедрению маммографического скрининга в странах Европы указывает на грандиозные меры по защите здоровья женского населения планеты [3].

В Республике Беларусь Совет Министров совместно с Минздравом и в соответствии с поручением Президента РБ А. Г. Лукашенко от 7.09.2015 г. обеспечили реализацию мероприятий по охвату населения страны скрининговыми программами по раннему выявлению онкологической патологии разных локализаций. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 19.04.2012 № 431 утвердил Инструкцию о порядке проведения скрининга рака молочной железы в организациях здравоохранения г. Минска в 2012–2015 гг. К приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь, в качестве приложения, утверждено Положение о Республиканском координационном совете по скринингу и ранней диагностике рака, а также региональных рабочих группах по скринингу рака.

Скрининг и профилактическое обследование. Цели и задачи скрининга. В широкой клинической практике понятия «скрининг» и «профилактическое обследование» обычно отождествляются. Однако по своей сути скрининг (*просеивание*) – это лишь первый отборочный этап профилактического обследования практически здорового населения с целью выявления лиц, имеющих скрыто протекающее заболевание. **Цель** популяционного скрининга – *систематическое* обследование больших групп населения для выявления определенных заболеваний. В скрининге учитывается вероятность обнаружения какого-то одного определенного заболевания, в противоположность обычным дифференциальным диагностическим процедурам в поликлинической практике. По отношению к раку молочной железы **немедленная цель** популяционного скрининга – обнаружение злокачественной опухоли до ее клинического проявления. **Конечная цель** маммографического популяционного скрининга – сокращение смертности от рака молочной железы посредством ранней диагностики и эффективного лечения. *В цели маммографического скрининга не входят снижение общей смертности и снижение заболеваемости РМЖ.* Как правило, в программах скрининга распространенность искомого заболевания ожидается менее 1 %, даже в случае «просеивания» групп высокого риска. В клинической ситуации, наоборот, носители заболевания уже отобраны на предварительных этапах осмотров, поэтому распространенность этого заболевания в такой популяции высокая. В настоящее время скрининг рассматривается как один из методов вторичной профилактики онкологической заболеваемости.

Клиническая онкология не располагает никакими доказательствами эффективности первичной профилактики рака молочной железы. Первостепенная цель вторичной профилактики – остановить естественное развитие опухолевой болезни на очень раннем этапе. Поэтому снижение стадии РМЖ на момент установления диагноза является основополагающим фактором уменьшения в обозримом будущем показателей смертности от РМЖ (Parkin D. M., et al., 2005 г.). Программа SEER (*Surveillance, Epidemiology and End Results*) при анализе конкурирующих рисков и расчете вероятности смертности от РМЖ и других причин с учетом стадии, расы и возраста установила, что вероятность смерти от РМЖ почти за 28 лет наблюдения была в диапазоне от 0,03–0,10 у женщин с диагнозом РМЖ *in situ* и до 0,70–0,85 у больных с отдаленными метастазами РМЖ в зависимости от расы и возраста. Вероятность смерти от РМЖ у больных с T1 (не более 2 см) ЭР+ (эстрогеноположительным) РМЖ за 11 лет наблюдения находилась в диапазоне от 0,04–0,11, в то время как у больных с ЭР- (эстрогеноотрицательным) РМЖ и с метастазами в регионарных лимфоузлах вероятность смерти была в диапазоне 0,37–0,53. Следует заметить, что эффективность методов доклинической диагностики в отношении различных

онкологических заболеваний неодинакова и сами методы довольно разнообразны. Совершенствование этих методов является условием повышения эффективности скрининга. Разработка программ скрининга в отношении конкретных заболеваний требует учета множества факторов [5].

Ключевая концепция скрининга. Скрининг рака молочной железы был предложен в 60-е годы прошлого столетия и связан с попытками повлиять на сокращение смертности женского населения от этого заболевания. Впервые обязательные условия для выполнения популяционного скрининга были сформулированы J. Wilson и A. Jungel еще в 1968 г. и основные из них приведены ниже:

1. Заболевание, явившееся объектом изучения, должно быть важной проблемой здравоохранения.
2. Должны иметься возможности для дальнейшего уточнения и верификации диагноза.
3. Должно существовать достаточно эффективное лечение больных с выявленным при скрининге заболеванием.
4. Заболевание должно иметь ясно распознаваемую преклиническую фазу.
5. Должен существовать удобный скрининговый тест или исследовательский метод, регистрирующий эту фазу.
6. Метод обследования должен быть приемлем для популяции.
7. Течение заболевания и развитие его от преклинической до клинической фазы должны быть достаточно изученными.
8. Должна существовать общепринятая стратегия в отношении лечения пациентов.
9. Затраты на больных, включая уточнение диагноза и лечения, должны быть экономически оправданы в отношении общих затрат национальной службы здравоохранения.

На сегодняшний день окончательно оформлена и одобрена *ключевая концепция* скрининга РМЖ. Смысл ее заключается в обнаружении настолько раннего этапа заболевания, что проводимое далее лечение изменяет клинический прогноз и дальнейшее «естественное» клиническое течение РМЖ [9; 13].

Модель скрининга. Параметры скрининга. Многие страны Европы практически однотипно адаптировали свою политику в области скрининга РМЖ. В большинстве случаев она основана на использовании одной маммографии, и отличается только возрастными группами участвующих в скрининге, а также интервалами и частотой процедур скрининга. В Швеции, например, женщинам предлагается скрининг каждые 12–18 месяцев в возрастной группе 40–49 лет и каждые 2 года в возрастной группе 50–59 лет. В Англии женщины 50–69 лет приглашаются на скрининг каждые 3 года. До настоящего времени не существует единой директивы по скринингу РМЖ, но зато есть четкие требования к скринингу РМЖ, к которым относятся следующие:

- высокая чувствительность метода;
- высокая специфичность метода;
- низкая стоимость;
- минимальный вред здоровью;
- простота выполнения.

Изначально в первом проспективном рандомизированном исследовании по Плану страхования здоровья HIP (Health Insurance Plan), проведенном в 60-х годах в США (Нью-Йорк), модель скрининга включала клиническое обследование + бесконтрастная маммография. В истории скрининга РМЖ это единственное исследование, которое включало две группы женщин: исследуемую и контрольную (без маммографии). Во всех последующих программах скрининга формирование контрольной группы не предусматривается по этическим соображениям. Исследование HIP и интерпретация его результатов явились в дальнейшем предметом многократного анализа и, несмотря на то что удалось подтвердить эффективность скрининга для раннего выявления РМЖ, выдвинулось много важных вопросов. К их числу относятся вопросы риска и стоимости скрининга, методов оценки его эффективности, частоты проведения обследований, полноты выборки больных раком, агрессивности так называемых интервальных раков и др. И все же главным достижением проекта HIP считается стойкое снижение показателей смертности в группе скрининга среди контингента женщин старше 50 лет. Через 18 лет от начала проведения скрининга смертность от РМЖ в исследуемой группе была на 23 % меньше, чем в контрольной группе. По прошествии многих лет изучения роли и значения скрининга РМЖ исследователи вынуждены признать, что не удалось достигнуть консенсуса относительно точного влияния маммографического скрининга на снижение смертности от РМЖ. Публикуемые результаты оценки этого эффекта весьма отличаются друг от друга [18]. Сама продолжительность естественного течения РМЖ также осложняет оценку, поскольку влияние скрининга на смертность в популяции не может быть достоверно установлено до прошествия приблизительно 10 лет от начала программы.

В специальной литературе описаны немногочисленные параметры, с помощью которых можно получить общее представление о качестве и возможном эффекте популяционного скрининга. Главным из них

является **уровень достоверности**, а важными параметрами являются **прямые и не прямые результаты популяционного скрининга**. **Уровень достоверности скрининга** выражается в значении показателей чувствительности и специфичности, в вычислении предсказуемого значения положительного и отрицательного тестов, показателе частоты выявления искомого заболевания. **Чувствительность теста** свидетельствует о его возможностях идентифицировать лиц, имеющих заболевание, по поводу которого предпринимается скрининг. **Специфичность** говорит о способностях теста идентифицировать лиц, не страдающих заболеванием. Чувствительность теста и специфичность взаимно зависимые параметры. Тест считается совершенным, когда показатели чувствительности и специфичности достигают 100 %, когда нет ложноположительных и ложноотрицательных результатов теста. Тест считается бесполезным, когда он оказывается положительным в равной степени как у больных, так и у здоровых лиц. **Предсказуемое значение** показывает процент истинно положительных или истинно отрицательных результатов среди лиц обследуемого контингента с положительным и отрицательным тестами. Показатель предсказуемого значения показывает вероятность того, что позитивные или негативные результаты теста доказаны правильно. Показатель предсказуемого значения зависит не только от чувствительности и специфичности теста, но также и от пропорции (распространенности) диагноза РМЖ в популяции. При ранге распространенности от 0,1 до 1 % (реальное значение в онкологии) предсказуемое значение результатов отрицательного теста приближается к 100 %, в то время как предсказуемое значение положительного теста обычно достаточно низкое.

Частота выявления в скрининге означает число истинно положительных случаев заболевания на 1 000 лиц, участвующих в скрининге [1; 6].

Показатели клинической оценки эффективности маммографического скрининга. Среди прямых и не прямых результатов популяционного скрининга также считаются важными такие показатели, как распределение обнаруженных опухолей по стадиям и снижение смертности среди участниц скрининга в отдаленной многолетней перспективе. Последний показатель считается наиболее значимым для оценки эффекта скрининга. В эффективном скрининге удельный вес женщин с диагнозом РМЖ с метастазами в регионарных лимфоузлах должен быть меньше по сравнению с остальной популяцией женщин, принявших участие в программе скрининга. В принципе скрининг рака молочной железы предназначен для выявления доклинических («скрытых») очагов опухолевого роста с помощью маммографии, преимущество которой перед другими современными диагностическими тестами уже доказано. Суждение об эффективности скрининга на основании показателей смертности будет неполным без учета эффекта «*времени опережения*», означающего тот период времени, на который клинический диагноз РМЖ, благодаря скринингу переносится вперед [12]. Следовательно, маммографический скрининг способен опережать клиническую диагностику РМЖ, выявляя непальпируемый РМЖ. «Время опережения» означает отрезок времени между фактическим обнаружением опухоли при скрининге и возможностью ее клинического определения методом пальпации. Среднее время опережения в уже состоявшихся программах скрининга составило 3–4 года. Скрининг позволяет выявлять РМЖ на 3–4 года раньше, чем при обычном рутинном обследовании или при обнаружении заболевания самой женщиной. Чем короче «время опережения», тем меньше значимость скрининга. Величина «времени опережения» может создавать видимость улучшения клинического прогноза в группе досрочно выявленных РМЖ, но в долгосрочном наблюдении оказывается, что показатели смертности от РМЖ не подвергаются влиянию показателя «времени опережения».

Возраст как основной фактор риска РМЖ и как показание для участия в скрининге. В настоящее время 18 стран Европы установили национальные или региональные программы популяционного маммографического скрининга в целях ранней диагностики РМЖ. Общепринятая международная модель этого популяционного скрининга – *Маммография +/- клинический метод (пальпация)*. В связи с тем что рак молочной железы – это опухолевая болезнь женщин менопаузального и постменопаузального возраста, последний стал определяющим фактором скрининга. Специфическая чувствительность первичного скрининга зависит от возраста и гормонального статуса обследуемых женщин. Установлены различия в практическом значении скрининга в зависимости от возраста. Например, для женщин 70 лет скрининг может быть полезным и может быть бесполезным. Для женщин 39 лет и моложе НЕ СУЩЕСТВУЕТ данных, указывающих на необходимость скрининга в этой возрастной группе и на выполнение маммографий как основного составляющего метода у женщин до 40 лет. Для женщин возрастной группы 50–69 лет скрининг (маммография +/- пальпация) достоверно снижает уровень смертности от РМЖ. Эффект раннего обнаружения *инвазивного* РМЖ проявляется через 5–7 лет от начала скрининга. Если в скрининге принимают участие женщины моложе 50 лет, то этот эффект проявится еще позже. Риск умереть от РМЖ в пределах следующих 10 лет возрастает только для женщин старше 65 лет всего на 1 % и остается на уровнях, соответствующих возрасту, несмотря на повышение уровня заболеваемости.

У очень пожилых женщин причиной смерти являются другие факторы, поэтому считается, что для этой возрастной категории скрининг не оказывает влияния на уровень смертности от РМЖ. Сравнительный риск смертности от РМЖ и от других причин по различным возрастным группам представлен в таблице [15].

Таблица

Риск смертности от РМЖ по возрастным группам, %

Table

The risk of mortality from breast cancer by age group, %

Возраст	В последующие 10 лет от РМЖ	В последующие 10 лет от других причин
40–44	0,3	2,1
45–49	0,4	3,3
50–54	0,6	5,1
55–59	0,7	8,1
60–64	0,8	12
65–69	1	18
70–74	1,1	27
75–79	1,2	41
80–84	1,2	67
для 85	–	79

Исторический опыт отдельных скрининговых программ. Эффективность маммографического скрининга исследовалась и уточнялась в многочисленных рандомизированных испытаниях в США, Шотландии, Швеции, Финляндии. В качестве исторического примера интересно рассмотреть Неймегеновский проект (Нидерланды). В скрининг-программе г. Неймеген, основанной на применении только маммографии, при ретроспективном изучении результатов методом «случай–контроль» было выявлено снижение смертности среди женщин, участвовавших в скрининге по сравнению с женщинами вне программы скрининга, в соотношении 0,26 для возрастной группы от 50 лет до 64 лет, в то время как для молодых женщин возрастной группы 35–49 лет никакого преимущества от участия в программе скрининга не было установлено. Этот факт связывают с низкой эффективностью маммографии в данной возрастной группе и с преобладанием у молодых женщин агрессивных форм РМЖ, характеризующихся более короткой «преклинической фазой», из-за чего 2-летний интервал между процедурами скрининга является длительным для ранней диагностики РМЖ [11; 20]. Исследователи, используя метод Eddy по моделированию различных интервалов между процедурами маммографического скрининга, высказали предположение, что для молодых женщин более оптимальным является ежегодное участие в скрининге, в то время как для женщин 50–64 лет наиболее оптимально прохождение процедуры скрининга 1 раз в 3 года.

Другой показательный исторический пример – Шведское испытание, в котором участвовали около 135 тыс. женщин в возрасте 40–74 лет. Более 80 % этого количества женщин приняли участие в третьей процедуре маммографического скрининга. В результате среди женщин, подвергавшихся маммографическому скринингу, выявили 36 % РМЖ II стадии и выше, а в контрольной группе (отказавшихся от скрининга) – 59 %. У 8 % женщин, участвовавших в скрининге, удалось выявить внутрипротоковый РМЖ *in situ* (DCIS), а в контроле – только у 3 % женщин. Анализ результатов показал ощутимое снижение смертности от РМЖ в группе скрининга по сравнению с группой контроля, начиная с 4-го года после начала исследования.

Показательный пример реализации конечной цели скрининга – снижение смертности от РМЖ – демонстрируют результаты Национальной программы маммографического скрининга в Шотландии. Национальная программа маммографического скрининга для возрастной группы 50–64 лет была внедрена в конце 1980-х годов. К концу 1998 г. 71,1 % женщин этой группы прошли скрининг в течение предшествующих 3 лет. Данные о смертности, приведенные Генеральной службой записей гражданского состояния Шотландии, показывают, что от РМЖ она упала с 102,9 на 100 тыс. населения в 1990 г. до 76,3 на 100 тыс. населения в 2000 г., то есть снизилась на 25,7 %. Полученные результаты привели к тому,

что скрининг в Шотландии был успешно расширен с уровня клинических испытаний до воздействия на смертность от рака молочной железы на популяционном уровне.

В литературном обзоре контролируемых рандомизированных маммографических исследований в Англии, опубликованном в 2012 г., сообщается о 20 % относительном снижении смертности от РМЖ, имевшем место в возрастной группе женщин 50–70 лет. Однако несмотря на многочисленность национальных и межрегиональных программ, формирование консенсуса относительно точного влияния маммографического скрининга на снижение смертности от РМЖ весьма затруднено в связи с разобщенностью мнений исследователей. В 2015 г. группа экспертов, созданная Международным Агентством по Изучению Рака, заявила, что имеется существенное доказательство влияния скрининга на уменьшение показателей смертности от РМЖ среди женщин в возрастных группах 50–69 лет и 70–74 года, но аналогичное доказательство в более молодых возрастных группах ограничено. В возрастной группе 50–69 лет среди женщин, приглашенных на скрининг, снижение риска смертности составило 23 %, а для женщин, прошедших процедуры скрининга – 40 %. Пропорция местнораспространенного и метастатического РМЖ в 1990/91 гг. в шести странах Европы, включая Нидерланды, без скрининга составила 42 %, но в 2012 г. намного меньше – 23 %. В последние годы сложилось критическое мнение, что снижение смертности от РМЖ связано, главным образом, с новыми видами лечения и более лучшей организацией медицинского обслуживания. Согласно одним источникам, получены доказательства того, что РМЖ, обнаруживаемый в процессе скрининга, связан с более благоприятным клиническим прогнозом, независимо от размера первичной опухоли. Другие источники заняты сравнительным анализом показателей смертности при эстрогеноположительном и эстрогеноотрицательном РМЖ, соответственно вкладу скрининга и адъювантного лекарственного лечения. Анализ результатов показывает, что для снижения показателей смертности адъювантное лечение имеет преобладающее значение по сравнению со скринингом [16].

Анатомический размер первичной опухоли в роли критерия оценки эффективности скрининга.

Установление размера первичной опухоли – важный критерий оценки качества скрининга. Скрининг выявляет широкий спектр опухолей: от микрофокусов DCIS низкой степени злокачественности до крупных инвазивных форм РМЖ. Преимущество маммографии в качестве основного метода скрининга заключается в возможности получения полипозиционного изображения структуры молочной железы и, как следствие, в визуализации непальпируемых опухолевых очагов в виде узлового образования, либо в виде скопления микрокальцинатов размером от 50 микрон или в виде локальной тяжистой перестройки структуры тканей, либо в виде опухоли размером 1–3 мм внутри протока. Широкое внедрение программ маммографического скрининга в странах с высокой заболеваемостью, усовершенствование маммографической техники и технологии поиска патологического очага способствовали появлению термина карцинома *in situ*, который обозначает морфологические изменения, характеризующие интраэпителиальный опухолевый очаг без признаков инвазии опухолевых клеток в окружающую их строму. Из этого следует, что подобные минимальные проявления опухолевого процесса обязательно предшествуют инвазивной карциноме и не существует убедительных данных о возможности спонтанного регресса изменений такого рода.

Исторически они соответствуют понятию предрак, но фактически сегодня расцениваются и описываются как рак *in situ*. Дифференциальный диагноз внутрипротоковой карциномы *in situ* и внутрипротоковой пролиферации эпителия основывается на патоморфологической оценке пролиферирующих клеток. Пролиферация интрадуктального эпителия характеризуется гетерогенностью с наличием веретенообразных и овальных клеток, а также отсутствием хаотического скопления клеток, отсутствием очагов некроза, кальцификации и отсутствием вовлечения всего протока. Наличие участков некроза и кальцификации свидетельствует о злокачественном потенциале данных изменений. В рутинной клинической практике протоковые карциномы *in situ* встречаются редко, в пределах 1,5–6 %, однако в большинстве сообщений приводится показатель 3,5 %. По данным результатов серий аутопсий больных, умерших не от РМЖ, гистологические находки протоковых карцином *in situ* в тканях молочных желез достигают 5,9–14 %, в десятки раз чаще по сравнению с приводимыми показателями РМЖ [3]. Рак *in situ* выделен в классификации по системе TNM 1978 г. и в последующих изданиях символом Tis, чем подчеркивается его изначальное ограниченное распространение. В маммографических скрининговых программах частота обнаружения внутрипротоковых карцином *in situ* возрастает до 20 %, а в группах высокого риска (среди женщин, родственники которых имеют диагноз РМЖ) удельный вес внутрипротоковой карциномы *in situ* возрастает до 33 %. В большинстве случаев клинически – это оккультные формы РМЖ или непальпируемые опухоли, обнаруживаемые при маммографии благодаря наличию микрокальцинатов. Принято считать, что протоковый и дольковый рак молочной железы *in situ* являются предstadиями инвазивного рака, а главное предположение заключается в том, что процесс метастазирования РМЖ не

начинается до момента наступления инвазивной фазы. Исходя из этого предположения, для клинического прогноза представляется важным, чтобы диагностика РМЖ была максимально сдвинута либо к ранней инвазивной фазе опухоли ($T \leq 1$ см), либо к фазе *in situ*. Внедрение в практику маммографического скрининга привело к увеличению удельного веса больных РМЖ ранних стадий. ASCO (Американское противораковое общество) сообщает, что с 1988 по 2000 г. диагностика опухолей РМЖ диаметром менее 2 см увеличивалась на 2 % ежегодно. Согласно публикациям, пациентки с опухолями T1N0M0 имеют хороший клинический прогноз и показатели безрецидивной 5-летней выживаемости, превышающие 90 %.

Сложные вопросы и возможности будущих программ скрининга. Оказалось, что большинство обнаруженных в скрининге инвазивных форм РМЖ обладает благоприятными характеристиками: маленький размер первичной опухоли, отсутствие метастазов в регионарных лимфатических узлах, наличие рецепторов к стероидным гормонам в опухоли. Повторный анализ, рассмотрение и обсуждение накопленного по результатам различных программ скрининга материала позволили установить, что примерно 25 %, обнаруженных в процедурах скрининга, РМЖ никогда в последующие годы не будут прогрессировать. Ретроспективно эти клинические случаи можно рассматривать как случаи «сверхдиагностики», то есть обнаружение очагов РМЖ, которые вне скрининга никогда не были бы обнаружены на протяжении 80–90 лет жизни женщины и не угрожают здоровью. При этом женщины получают полную программу комплексного лечения, которое приобретает характеристику «сверхлечения» или «перелечивания». Наряду с высокой специфичностью скрининга, имеют место ложноположительные диагнозы, приводящие к неоправданным биопсиям и/или неоправданному хирургическому лечению.

Другая общая проблема маммографического скрининга – это «интервальный» или межскрининговый РМЖ, то есть случаи РМЖ, пропущенного в скрининге и выявленного между процедурами скрининга, которые составляют от 15 до 20 %. По-видимому, различия в темпе роста опухолей обуславливают разницу во времени обнаружения минимальных форм РМЖ. В последние годы в специальной литературе широко обсуждаются обрисовавшиеся проблемы маммографического скрининга РМЖ. Особенное внимание уделяется вопросу о пользе скрининга в связи с проблемой «сверхдиагностики и сверхлечения» РМЖ, обнаруженного во время скрининга. Многочисленные, но часто противоречивые выводы в различных обзорах результатов скрининга, породили дискуссию о пользе и вреде скрининга РМЖ. Начаты специальные клинические исследования с целью определения параметров отличия «сверхдиагностированного» РМЖ от потенциально угрожающего РМЖ, обнаруженных в процедурах скрининга. Результаты такого исследования в Англии опубликованы в журнале LANCET в 2013 г. В ходе исследования оценивалась прогностическая роль фенотипа первичной опухоли, размера опухоли, степени злокачественности, состояния регионарных лимфоузлов. Дополнительно оценено прогностическое значение метода пальпации как наиболее варибельного признака для обнаружения РМЖ в скрининге. Объективная цель данного исследования – определить пациенток с повышенным риском возникновения отдаленных метастазов и повышенным риском смерти от РМЖ в рамках «сверхдиагностики» в скрининге [7; 14].

В исследование включили 1610 пациенток с РМЖ, обнаруженным в скрининге в период с января 2000 г. по декабрь 2009. Процедуры скрининга повторялись с интервалом 2 года. Пальпация производилась лечащим врачом до и после диагностической биопсии. Средний возраст пациенток с диагнозом РМЖ – 58 лет. В менопаузе находилось 73,4 % пациенток, инвазивный РМЖ установили у 86,1 %, размер опухоли менее 2 см – у 68,6 %; адъювантную гормонотерапию получали 85,5 %, адъювантную химиотерапию – 27,6 %. Пальпаторно РМЖ определялся в 52 % (чаще у пожилых женщин); чаще наблюдались высокая степень злокачественности РМЖ, больший размер опухоли, дольковый рак и пациентки с вовлечением подмышечных лимфоузлов. Между пальпируемым и непальпируемым скрининговым РМЖ обнаружено различие в фенотипах, в показателях общей выживаемости, различие в РМЖ-специфической выживаемости и в показателях безрецидивной выживаемости. Преобладающее большинство случаев «сверхдиагностики» (424 больных) было представлено *непальпируемым* РМЖ без вовлечения подмышечных лимфатических узлов и фенотипом *люминальный А*. За период наблюдения (9 лет) – только 3 случая отдаленных метастазов и 2 случая смерти от РМЖ с учетом «сверхлечения».

В связи с отсроченными осложнениями лучевой терапии (ИБС) и гормонотерапии (рак эндометрия) встает вопрос о клинической оправданности «сверхлечения». Тем более, что в последних публикациях ATLAS сообщается, что 15-летний абсолютный риск рака эндометрия составляет 2–3 % при адъювантной терапии тамоксифеном в течение 5 лет и 4–5 % – в течение 10 лет. Многовариантный анализ результатов в рамках данного скрининга показал, что пальпация остается независимым прогностическим фактором для показателей безрецидивной выживаемости и РМЖ-специфичной выживаемости вкуче с фенотипом первичной опухоли и состоянием регионарных лимфоузлов. Размер опухоли не проявил значения в данном мультивариантном анализе. Возможность пальпаторного обнаружения РМЖ

в процедурах скрининга в зависимости от фенотипа составляет при люминальном А – 51,5 %, люминальном В (HER2neu отр.) – 63,7 %, люминальном В (HER2neu полож.) – 44,3 %, базальноподобном – 53,7 %, при HER2neu положительном – 59,6 %. Таким образом, фенотип может служить значительным и независимым предиктором пальпаторного обнаружения РМЖ. Достижения в молекулярной биологии РМЖ поднимают вопрос о повторном рассмотрении прогностической достоверности значения размера опухоли и состояния регионарных лимфоузлов, так как некоторые РМЖ являются агрессивными уже по своим молекулярно-биологическим характеристикам. Некоторые группы исследователей уже планируют учитывать индивидуальные биологические характеристики РМЖ в новых программах маммографического скрининга [9; 20].

Попытки научного обновления рутинной программы скрининга РМЖ. Непрерывающиеся дискуссии на животрепещущую тему о соотношении пользы и вреда маммографического скрининга очень волнуют административные структуры общественного здоровья, так как на карту поставлена стоимость действующих программ популяционного скрининга для миллионов женщин не только в западном мире, но, потенциально, и в менее развитых странах. В свое время принятая методика разделения женщин на возрастные группы оказала качественное влияние на маммографический скрининг, а именно на частоту выявления протокового РМЖ *in situ*, частоту выявления ранних и продвинутых стадий РМЖ с учетом многообразия факторов риска, связанных с особенностями организма и определенными периодами жизни женщины. Кроме того, удалось выявить существенное влияние маммографического скрининга на снижение частоты метастатического РМЖ. Теперь, когда в тех странах, где маммографический скрининг был начат в середине прошлого века и накоплен большой опыт, идет поиск общего обоснования замены традиционного подхода «один метод пригоден для всех» (*one size fits all*) на персонализированный скрининг. Главное отличие нового подхода от традиционного состоит в разделении женщин перед включением в скрининг на определенные группы риска возникновения РМЖ. При принятии такой стратегии женщины в группах низкого риска могли бы покидать программы скрининга после первой или второй процедуры [4]. Такое положение могло бы удовлетворить тех, кто изыскивает аргументы против рутинного регулярного скрининга для всех, независимо от степени риска РМЖ. Следует принять во внимание тот факт, что состоявшиеся программы скрининга были внедрены во времена отсутствия современных успешных стандартов лечения РМЖ. Это один из аргументов для обновления рутинного скрининга. Возможность проводить стратификацию женщин по степени риска РМЖ может в будущем привести к объединению скрининга и профилактики РМЖ. Например, женщины из «раковых семей», относящиеся к группе высокого риска РМЖ, начинают скрининг в более молодом возрасте и с более короткими интервалами между процедурами скрининга.

Разработана комбинированная модель стратификации риска РМЖ, состоящая из трех основных ступеней. В качестве *первой ступени* используется модель Tyrer-Cuzick, которая является частью исследования IBIS (the International Breast Cancer Intervention Study). (Jack Cuzick – эпидемиолог и специалист по профилактике, работает в Wolfson Institute в Лондоне). С помощью модели Tyrer-Cuzick оценивают вероятность возникновения РМЖ в течение ближайших 10 лет и далее на протяжении всей жизни. В расчет принимают следующие факторы: возраст и вес женщины, возраст *menarche*, наличие детей, состояние функции яичников, использование в данный момент (или в прошлом) гормонозаместительной терапии. Рост и вес – величины непостоянные, семейный анамнез и прием гормонозаместительной терапии также могут претерпевать изменения, а вот принадлежность к «раковой семье» уже является самостоятельным важным предиктором. На этом этапе возможна стратификация женщин на группы высокого и умеренного риска РМЖ. В качестве *второй ступени* выступает оценка плотности тканей молочной железы, точность измерения которой повышается при использовании компьютерного исследования. Например, в клинических исследованиях по оценке эффективности отдельных новых лекарственных средств, степень плотности тканей молочных желез является биомаркером, по изменению которого судят об эффективности испытуемого препарата. И, наконец, *третья ступень* представляет собой определение геномного профиля в образцах крови или слюны с последующей оценкой степени риска РМЖ по результатам поиска SNP (single nucleotide polymorphisms – однонуклеотидные полиморфизмы) в других генах, кроме определения мутаций в генах BRCA1/2, так как эта работа может быть предварительно выполнена на первой ступени скрининга (SNP – single nucleotide polymorphisms – это вид мутации, заключающийся в замене только одного нуклеотида в последовательности ДНК).

Одним из ведущих исследований по трехступенчатой стратификации риска РМЖ является исследование PROCAS (Predicting Risk of Cancer at Screening), которое возглавляет Gareth Evans – профессор университетской кафедры медицинской генетики и эпидемиологии рака в Манчестере, Англия. Часть программы называется «Предотвратить рак молочной железы». Ее цель – восполнить пробел знаний по оценке риска РМЖ, по стратегии профилактики РМЖ (лекарственная профилактика и изменение

стиля жизни) и по биологическому риску РМЖ. Первая фаза исследования PROCAS длилась с 2009 по 2015 г. В исследование включили более 57 тыс. женщин, которых приглашали на процедуры скрининга в определенном порядке. Недавно опубликованные результаты этой фазы показывают, как меняется распределение степени риска РМЖ сначала в зависимости от плотности тканей молочной железы, а затем в зависимости от информации о SNP с учетом модели Tytler-Cuzick [5]. Профессор Gareth Evans подчеркивает, что пока можно обсуждать результаты, полученные на материале обследования 10 тыс. женщин, у которых были взяты образцы ДНК. Из 10 тыс. женщин примерно одна из 6 (17 %) относилась к группе риска от умеренного до высокого. Из этих 17 % группу высокого риска составили только 6 %. Риск в течение 10 лет заболеть раком молочной железы для них составляет более 8 % (в среднем 5–8 %). В течение последующие 20 лет, при условии повышения возраста женщин, участвующих в данном проекте, до 50–70 лет этот высокий риск РМЖ удваивается до 16 %. В группу низкого (менее 2 %) риска РМЖ вошли 30 % женщин. Оставшиеся 2–5 % женщины составили группу промежуточного (среднего) риска РМЖ. На этом клиническом материале было установлено, что среди женщин в группах высокого и промежуточного риска не обнаружено случаев «сверхдиагностики» РМЖ, но выявлена маленькая группа индолентного РМЖ: DCIS (протоковый рак *in situ*), единичные случаи РМЖ I степени злокачественности и увеличение обнаружения интервального РМЖ [10].

Внедрение стратификации риска в скрининг РМЖ. Новые программы скрининга уже задействуют модели стратификации степени риска РМЖ. Согласно мнению профессора Gareth Evans, у части женщин из группы низкого риска (30 %) величина соотношения риск/польза скрининга недостаточна для обоснованности продолжения дальнейшего прохождения процедур скрининга. В Соединенном королевстве (UK) придерживаются трехлетних межскрининговых интервалов, которые приемлемы или оправданы только для 2–5 % женщин из всех групп риска. Для женщин с умеренным и высоким риском РМЖ более приемлем двухлетний интервал или даже ежегодный скрининг, а также возможна химиопрофилактика тамоксифеном либо другими препаратами [19; 21]. Программа скрининга в Соединенном королевстве (UK) с трехлетним межскрининговым интервалом может послужить наглядным примером для развивающихся стран в случае включения в скрининг большого числа женщин.

Профессор Gareth Evans выражает надежду, что определение профиля риска РМЖ станет отправной точкой включения женщин в программу скрининга, что позволит начинать его в Англии в возрастной группе моложе 50 лет. Результаты исследования PROCAS дают обоснование начала скрининга в 47 лет и продолжение – до 73 лет, хотя в старшей возрастной группе существует высокая вероятность «сверхдиагностики». Профессор Gareth Evans подчеркивает тот факт, что среди участниц скрининга бытует недопонимание значения степени риска возникновения РМЖ. Женщины ошибочно предполагают, что однажды риск исчезнет и поэтому прекращают свое участие в скрининге. Следовательно, полагает профессор Evans, информирование женщин о степени индивидуального риска возникновения РМЖ даст им возможность информированного выбора посещения процедур скрининга [17]. По данным PROCAS, женщины в 10 раз более мотивированы проходить скрининг, когда им советуют учитывать информацию о степени риска РМЖ. А женщины из группы высокого риска будут не только регулярно проходить процедуры скрининга и получать химиопрофилактику, но смогут также снижать риск, соответственно модифицируя свой жизненный уклад. Профессор Evans указывает, что предлагаемые методы стратификации риска РМЖ могут не только снизить показатели заболеваемости РМЖ, но и сохраняют финансы, затрачиваемые на лечение (в западных странах 22 000 ЕВРО лечение одного случая РМЖ).

Совершенствование персонализированной оценки степени риска РМЖ. Модели с генетическим компонентом определения риска РМЖ нуждаются в дальнейшем совершенствовании. На это указывают опубликованные в 2015 г. результаты такого крупного исследования по скринингу, как, например, Breakthrough Generations Study в Англии с включением 113 тыс. женщин в возрасте от 40 лет, где сообщалось о двух новых генетических вариантах повышенного риска РМЖ, обнаруженных благодаря панели SPN (в исследовании PROCAS использовалась панель 18-ти SNPs). Следующий этап, планируемый в рамках PROCAS, набрать в скрининг две большие группы женщин, одна из которых будет набрана по стандартным принципам, а другая, согласно усовершенствованной модели, – с генетическим компонентом определения высокого риска РМЖ. Исследование завершится сравнительной оценкой показателей смертности от РМЖ в обеих группах. Основная версия – установить обратную взаимосвязь степени риска и показателей смертности от РМЖ в первой фазе этого длительного исследования.

В Европе, в частности в Швеции и Нидерландах, проводятся исследования по адаптации стратегии скрининга к использованию персонализированной оценки степени риска РМЖ. Для повышения диагностической чувствительности при выраженной плотности ткани молочных желез в индивидуальных случаях дополнительно используется МРТ и УЗИ молочных желез: имеет место персонализация скрининга. В трех областях Италии планируется начать скрининг на основании стратификации риска РМЖ,

но в качестве дополнительного фактора стратификации предполагают использовать тест на резистентность к инсулину. Между тем в США уже начата программа скрининга, основанного на стратификации степени риска РМЖ. Аббревиатура программы звучит как WISDOM – «Women Informed to Screen Depending On Measures of risk» и финансируется учреждением Patient-Centered Outcomes Research Institute (PCORI). Эта программа считается более агрессивной из-за того, что ежегодно в скрининг привлекается много женщин в возрасте 40 лет, несмотря на то что показатели смертности от РМЖ не ниже, чем в Западной Европе и, невзирая на последние рекомендации, начинать скрининг позднее 40 лет. В цели исследования WISDOM входит рандомизация 100 тыс. женщин в возрастных рамках от 40 до 74 лет на две группы. Скрининг в первой группе осуществляется на основании стратификации степени риска РМЖ, включая определение геномного профиля более чем 150 SNPs. Во второй группе – ежегодный стандартный скрининг. Первичные результаты уже оценивают пропорцию РМЖ, выявленных в стадии II B и выше, а также количество выполненных биопсий.

Исследование WISDOM возглавляет Laura Esserman – врач-хирург и глава центра Carol Franc Buck Breast Care Center в Калифорнийском университете в Сан-Франциско. В США она известна как «бунтовщик» против «сверхдиагностики» и «перелечивания» женщин, особенно в случае протокового рака *in situ*, рост диагностики которого планируется на начало скрининга. Она также против «сверхиспользования» лучевой терапии в подобных ситуациях. По опросам журнала *Time magazine* она входит в список 100 самых влиятельных персон в мире. Под ее руководством исследователи намерены потенциально трансформировать скрининг РМЖ в США. Они осознают, что предстоит огромная работа по получению такого уровня доказательств оправданности измененной программы стандартного скрининга, который позволит женщинам преодолеть прежний страх перед процедурами скрининга.

Однако профессор в области медицинской генетики и эпидемиологии рака Gareth Evans из Манчестерского университета, Англия, относится к исследованию WISDOM с некоторым скептицизмом, считая ежегодный скрининг в США слишком легко доступным, хотя исследование WISDOM запланировано как пилотное: экспериментальное, рандомизация женщин будет обязательной. Профессор Gareth Evans указывает, что это исследование в действительности сравнивает только варианты скрининга, а сущность скрининга не затрагивает. Вопрос спорный, сможет ли тактика определения соотношения риск/профилактика стать ведущей против рутинной «машинной» скрининга на РМЖ [15]. Возникает большая необходимость в существенных изменениях в техническом обеспечении, в формировании факторов риска, в обучении медперсонала и в обсуждении деталей программы скрининга в группе женщин с высоким риском РМЖ.

Стратегия профилактики для группы высокого риска РМЖ. Разделение женщин на отдельные группы по степени риска РМЖ может уменьшить не только количество процедур скрининга для группы низкого риска, но также позволяет осознанно реализовать рекомендации по снижению высокой степени риска женщинам из группы высокого риска. Это конкретные рекомендации по изменению стиля жизни и применению химиопрофилактики. В качестве препаратов для химиопрофилактики в настоящее время используются два модулятора рецепторов эстрогенов: тамоксифен и ралоксифен. Они одобрены для этой цели в США Администрацией по регистрации медпрепаратов и пищевых добавок (FDA) и рекомендованы для осуществления химиопрофилактики РМЖ в Англии среди женщин с высоким и умеренным риском, включая женщин с семейным анамнезом РМЖ. Для женщин в постменопаузе рекомендуют ралоксифен, для пременопаузальных женщин – тамоксифен, а для женщин с семейным анамнезом РМЖ недавно рекомендован анастрозол. Согласно результатам исследований, о которых сообщено в 2015 г., прием тамоксифена в течение 5 лет снижает риск инвазивного РМЖ примерно на 30–40 %, а химиопрофилактика анастрозолом (экземестан) – на 65 %. Исследователи отмечают, что период наблюдения явно недостаточный для оценки снижения смертности в разных группах, но предварительно установлено 18 % снижение смертности для эстрогеноположительного РМЖ. Изучаются и другие потенциальные профилактические соединения, среди которых генистеин (компонент сои), омега-3-жирные кислоты, витамин D, бифосфонаты, статины, метформин, и даже некоторые вакцины. Ни одно из соединений не показало себя в качестве профилактического фактора, снижающего риск возникновения РМЖ [20].

Заключение

Рак молочной железы (РМЖ) продолжает занимать лидирующие позиции среди злокачественных опухолей у женщин. Причины роста числа женщин, имеющих патологию молочной железы, многочисленны и связаны с наличием факторов риска. Во многом они объясняются значительными изменениями стиля жизни современных женщин, включая характер питания, наличие вредных привычек, сопутствующих заболеваний, сочетание гормональных, генетических и экологических факторов.

Одним из ключевых экологических факторов является воздействие некоторых искусственных химических веществ. Появляются все новые подтверждения теории о том, что воздействие загрязняющих веществ в окружающей среде, пище, воде и химических веществ в товарах широкого потребления может являться фактором риска заболевания РМЖ.

Очень примечательно, что в Республике Беларусь, в Минске 17–18 мая 2018 г. состоялась Евразийская конференция по скринингу рака различных локализаций. Конференция была сфокусирована на оценке эффективности скрининговых программ, проводимых в Западной Европе, Центральной Азии и в странах Балтики. Большой интерес аудитории вызвали доклады по оценке программ скрининга в Российской Федерации, Татарстане, Грузии, Казахстане, Киргизии. Было представлено более 70 докладов по основным локализациям, доступным скринингу, – рак молочной железы, рак шейки матки, рак предстательной железы, колоректальный рак.

По завершению Евразийской конференции была принята резолюция по скринингу рака молочной железы, подтверждающая объединение международных усилий в противораковой борьбе. Отмечено, что скрининг рака молочной железы является обоснованным, доказанным и необходимым для обеспечения диагностики на ранних стадиях. Качественно проведенный скрининг приводит в конечном итоге к существенному (до 30 %) сокращению смертности от рака молочной железы. Женщины, которые по различным причинам не принимают участия в скрининге, должны быть информированы о том, что не существует других методов скрининга, которые могли бы также эффективно снизить смертность от этого заболевания.

Библиографические ссылки

1. Рак молочной железы. Скрининг, адъювантное лечение: сб. науч. тр. (СССР, Индия, Венгрия, ГДР). Ленинград, 1989.
2. Семиглазов В. Ф. Ранняя диагностика опухолей молочной железы. Ташкент, 1989.
3. Семиглазов В. Ф., Семиглазов В. В. Скрининг рака молочной железы // Практическая онкология. 2010. № 11 (2). С. 60–65.
4. Воробьев А. В., Протасова А. Э. Общие вопросы скрининга // Практическая онкология. 2010. Т. 11, № 2. С. 53–56.
5. Захарова Н. А. Скрининг рака молочной железы: проблемы и решения. М., 2011.
6. Independent UK Panel on Breast Cancer Screening. The benefits and harms of breast cancer screening: an independent review // Lancet. 2012. No 380. P. 1778–1786.
7. Broukaert O., Schoneveld A., Truysers et al. C. Breast cancer phenotype, nodal status and palpability may be useful in the detection of overdiagnosed screening-detected breast cancers // Annals Oncology. 2013. Vol. 24, No. 7. P. 1847–1852.
8. Senkus E., Kyriakides S., Ohno S. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // Annals Oncology. 2015. No 26, issue 5. P. 8–30.
9. Williams K. E. Molecular phenotypes of DCIS predict overall and invasive recurrence // Annals of Oncology. 2015. Vol. 26, issue 5. P. 1019–1024.
10. Пак Д. Д., Рассказова Е. А., Ермощенко М. В. Рак молочной железы. М., 2010.
11. Кулигина Е. Ш. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы // Практическая онкология. 2010. No 11 (4). С. 203–216.
12. Корженкова Г. П. Скрининг рака молочной железы // Радиология в медицинской диагностике : материалы междунар. междуниверсит. семинара по диагност. и терапевт. радиологии. Минск, 2003. С. 82–83.
13. Левшин В. Ф., Михайлов Э. А. Самообследование как метод скрининга рака молочной железы // Вопросы онкологии. 2000. No 46 (5). С. 627–629.
14. Singletary S. E. Rating the risk factors for breast cancer // Ann. Surg. 2003. No 237. P. 474–482.
15. Hakama M. Implementation of screening as a public health policy // J. Med. Screen. 2005. No 13. P. 209–216.
16. Misra S., Solomon N. L. Screening criteria for breast cancer // Adv. Surg. 2010. No 44. P. 87–100.
17. Duffy S. W. Screening for breast cancer // Surg. Oncol. Clin. North Am. 2005. No 14 (4). P. 671–697.
18. Panieri E. Breast cancer screening in developing countries // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2012. No 26 (2). P. 283–290.
19. Мирель Бредерс Разработка рекомендаций по скринингу РМЖ // Доклад на Евразийской конференции по скринингу (Нидерланды). Минск, 17–18 мая, 2018.
20. Сью Коэн Оценка качества в программах скрининга РМЖ. Английский опыт // Доклад на Евразийской конференции по скринингу (Англия). Минск, 17–18 мая, 2018.
21. Miller A. B., To T., Baines C. J. The Canadian National Breast Cancer Screening Study-2: 13-year results of a randomized trial in women aged 50–59 years // J. Natl Cancer Inst. 2000. No 92 (18). P. 1490–1499.
22. Myers E. R. Benefits and Harms of Breast Cancer Screening: A Systematic Review // JAMA. 2015. Vol. 314, No 15. P. 1615–1634.

References

1. [Breast cancer. Screening, adjuvant treatment]: a collection of scientific papers (USSR, India, Hungary, GDR). Leningrad, 1989 (in Russ.).
2. Semiglazov V. F. [Early diagnosis of breast tumors]. Tashkent, 1989 (in Russ.).
3. Semiglazov V. F., Semiglazov V. V. [Breast cancer screening] *Practical Oncology*. 2010. No 11 (2). P. 60–65 (in Russ.).
4. Vorobiev A. V., Protasov A. E. [General screening questions] *Practical Oncology*. 2010. Vol. 11, No. 2. P. 53–56 (in Russ.).
5. Zakharova N. A. [Breast cancer screening problems and solutions]. Moscow, 2011 (in Russ.).

6. Independent UK Panel on Breast Cancer Screening. The benefits and harms of breast cancer screening: an independent review. *Lancet*. 2012. No 380. P. 1778–1786.
7. Broukaert O., Schoneveld A., Truysers et al. C. Breast cancer phenotype, nodal status and palpability may be useful in the detection of overdiagnosed screening-detected breast cancers. *Annals Oncology*. 2013. Vol. 24, No. 7. P. 1847–1852.
8. Senkus E. Kyriakides S., Ohno S. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals Oncology*. 2015. No 26, issue 5. P. 8–30.
9. Williams K. E. Molecular phenotypes of DCIS predict overall and invasive recurrence. *Annals of Oncology*. 2015. Vol. 26, issue 5. P. 1019–1024.
10. Pak D. D., Rasskazova E. A., Ermoshchenkova M. V. [Breast Cancer]. Moscow, 2010 (in Russ.).
11. Kuligina E. Sh. [Epidemiological and molecular aspects of breast cancer]. *Practical Oncology*. 2010. No 11 (4). P. 203–16 (in Russ.).
12. Korzhenkova G. P. [Breast cancer screening]. *Radiology in medical diagnostics: materials of the international interuniversity seminar on diagnostic and therapeutic radiology*. Minsk, 2003. P. 82–83 (in Russ.).
13. Levshin V. F., Mikhailov E. A. [Self-examination as a method for screening breast cancer]. *Questions of Oncology*. 2000. No 46 (5). P. 627–629 (in Russ.).
14. Singletary S. E. [Rating the risk factors for breast cancer]. *Ann. Surg.* 2003. No 237. P. 474–482.
15. Hakama M. [Implementation of screening as a public health policy]. *J. Med. Screen.* 2005. No 13. P. 209–216.
16. Misra S., Solomon N. L. [Screening criteria for breast cancer]. *Adv. Surg.* 2010. No 44. P. 87–100.
17. Duffy S. W. [Screening for breast cancer]. *Surg. Oncol. Clin. North Am.* 2005. No 14 (4). P. 671–697.
18. Panieri E. [Breast cancer screening in developing countries]. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2012. No 26 (2). P. 283–290.
19. Mirel Breders. [Development of recommendations on screening for breast cancer]. Report at the Eurasian screening conference (Netherlands). Minsk, May 17–18, 2018 (in Russ.).
20. Sue Cohen. [Quality assessment in breast cancer screening programs. English experience]. Report at the Eurasian screening conference (England). Minsk, May 17–18, 2018 (in Russ.).
21. Miller A. B., To T., Baines C. J., et al. The Canadian National Breast Cancer Screening Study-2: 13-year results of a randomized trial in women aged 50–59 years. *J. Natl Cancer Inst.* 2000. No 92(18). P. 1490–1499.
22. Myers E. R. Benefits and Harms of Breast Cancer Screening: A Systematic Review. *JAMA*. 2015. Vol. 314, No 15. P. 1615–1634.

Статья поступила в редколлегию 06.11.2018
Received by editorial board 06.11.2018

УДК 577.25:612.111.7:618.3-06

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ БЕРЕМЕННЫХ

А. В. БАКУНОВИЧ¹⁾, К. Я. БУЛАНОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

Дана характеристика тромбоцитов в норме и при патологических состояниях. Описано функциональное состояние тромбоцитов, особенности регуляции их количества, перестройки мембранных и внутриклеточных структур, а также способности клеток к активации в норме и при преэклампсии. Рассмотрены механизмы повышенной агрегационной активности тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией, обусловленные изменениями состава их плазматических мембран, внутриклеточных органелл, содержания цитоплазматического кальция, тромбосана A2, а также их соотношения с другими внутриклеточными мессенджерами.

Ключевые слова: преэклампсия; тромбоциты; агрегация; тромбин; АДФ; тромбосан A2; кальций.

Образец цитирования:

Бакунович А. В., Буланова К. Я. Структурные и функциональные перестройки тромбоцитов при преэклампсии беременных // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 76–83.

For citation:

Bakunovich A. V., Bulanova K. Ya. Structural and functional alterations of platelets in pregnant women with preeclampsia. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 76–83 (in Russ.).

Авторы:

Андрей Валерьевич Бакунович – старший преподаватель кафедры экологической химии и биохимии.

Клавдия Яковлевна Буланова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры экологической химии и биохимии.

Authors:

Andrei V. Bakunovich, senior lecturer of the department of ecological chemistry and biochemistry.

andy.bakunovich@gmail.com

Klavdiya Ya. Bulanova, PhD (biological), associate professor; associate professor of the department of ecological chemistry and biochemistry.

bulanova_home@tut.by

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ALTERATIONS OF PLATELETS IN PREGNANT WOMEN WITH PREECLAMPSIA

A. V. BAKUNOVICH^a, K. Ya. BULANOVA^a

^aBelarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Republic of Belarus
Corresponding author: andy.bakunovich@gmail.com

The article presents the characteristics of platelets in normal and pathological conditions of pregnancy. The functional state of platelets, especially regulation of their count, reorganization of plasma membrane and intracellular structures, as well as ability of cells to activate in physiological condition and during preeclampsia, are described. The mechanisms of increased platelet aggregation activity in pregnant women with preeclampsia due to changes in the composition of their plasma membranes, intracellular organelles, changes in the content of cytoplasmic calcium, thromboxane A2 and their correlations with other intracellular messengers are considered.

Key words: preeclampsia; platelets; aggregation; thrombin; ADP; thromboxane A2; calcium.

Введение

Одной из наиболее важных проблем современного акушерства является преэклампсия – прогрессирующее осложнение беременности с различными клиническими проявлениями и разным темпом их нарастания. Встречается у 6–8 % беременных в развитых странах и превышает 20 % в развивающихся. По данным статистических исследований [1], преэклампсия занимает 3-е место в структуре летальности беременных, а на ее долю приходится 15–25 % случаев материнской смертности. В возникновении данного осложнения беременности ведущую роль занимают социально-бытовые, экологические и антропогенные факторы риска [2].

При поздней форме преэклампсии, развивающейся во втором триместре беременности и сопровождающейся артериальной гипертензией, отмечаются значительные нарушения функционального состояния коагуляционно-фибринолитической системы – одной из наиболее чувствительных систем [3].

Особенно значительными изменениями в этот период подвергаются тромбоциты крови, когда при стойкой повышенной агрегационной способности происходит постепенное снижение их числа. Изменения функциональной активности тромбоцитов и, соответственно, баланса между коагуляцией и антикоагуляцией может быть главной причиной нарушения регулирования маточно-плацентарного кровообращения и перфузии органов у беременных женщин с преэклампсией. Так, гиперкоагуляция увеличивает риск развития систематических расстройств обмена веществ, полиорганной дисфункции, блокировке кровотока плаценты и многих органов микротромбами, что способно стать угрозой жизни матери и плода. В свою очередь, уменьшение свертывания крови, вызванное снижением количества тромбоцитов, сопряжено с нарушением проницаемости сосудов, отеками, а во время родов – несовместимой с жизнью кровопотерей [4].

Особенности регуляции количества тромбоцитов при преэклампсии. Тромбоциты формируются из мегакариоцитов костного мозга и циркулируют в кровотоке человека в течение 7–10 дней, при этом нормальное количество данных клеток составляет порядка $(150-400) \times 10^3$ на 1 мкл крови [5]. Количество тромбоцитов при преэклампсии может быть уменьшено не более чем на 8 % от физиологически протекающей беременности, но редко падает ниже 150×10^9 /л. При умеренной преэклампсии снижением количества тромбоцитов сопровождаются только 12–15 % беременностей, а при тяжелой форме преэклампсии и эклампсии, снижение количества тромбоцитов наблюдается в 30–50 % случаев [6]. Данная ситуация происходит за счет увеличения числа крупных, вероятно, незрелых и функционально активных клеток [7].

Основным регулятором тромбоцитопоэза является тромбопоэтин – полипептид, синтезируемый почками и печенью. Данный гормон обеспечивает пролиферацию и созревание мегакариоцитов. Преобладание связывания тромбопоэтина с тромбоцитами снижает его взаимодействие с мегакариоцитами и, таким образом, тормозит их пролиферативную активность. Однако при уменьшении числа кровяных пластинок его связывание с мегакариоцитами увеличивается, тем самым стимулируя образование кровяных пластинок. Беременность сопровождается увеличением количества тромбопоэтина, а при патологии беременности, осложненной гемолизом (HELLP-синдром), уровень этого цитокина значительно увеличивается [8]. Можно полагать, что при нарастающей тромбоцитопении, очевидно, нарушается регуляция тромбопоэза за счет повышения концентрации тромбопоэтина.

Снижение количества тромбоцитов крови при преэклампсии способствует расстройству нормального функционирования эндотелия и приводит к вазоспазму. При нормальном функционировании эндотелия достигается равновесие между констрикторными и дилатирующими механизмами, свертывающими и противосвертывающими системами крови, воспалительными и противовоспалительными, репаративными и повреждающими факторами [9]. Нарушения тромбоцитарно-сосудистой системы приводят к изменению этого равновесия и, следовательно, к нарушению реактивности сосудов, коагуляции и повреждению различных функциональных систем организма. Таким образом, сначала увеличение количества юных тромбоцитов при преэклампсии является отражением адаптационных механизмов тромбопоэза на повреждение эндотелия сосудов, а затем становится частью патогенеза этого осложнения беременности [7].

Особенности функционального состояния тромбоцитов при преэклампсии. Тромбоциты способны активироваться либо вследствие контакта с тромбогенной поверхностью, либо благодаря образованию или локальному выделению определенных химических веществ – инициаторов агрегации. Данные ситуации могут возникать при ответах на сосудистую или тканевую травмы, изменении гемодинамики и мембранного потенциала клеток, что может происходить при определенных патологических процессах в организме. Формирующаяся повышенная агрегационная способность тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией может быть вызвана токсинами и продуктами обмена плода и способна привести к образованию обогащенного тромбоцитами сгустка, циркулирующего в крови, увеличивающего риск закупорки сосудов в таких жизненно важных органах, как сердце или мозг, что способно вызвать серьезные патологические последствия и даже гибель организма.

При преэклампсии образование микроагрегантов тромбоцитов сочетается с прогрессирующим снижением их числа в третьем триместре, что в дальнейшем может привести к HELLP-синдрому: жизненно несовместимому падению числа тромбоцитов, последующему снижению агрегационной способности тромбоцитов и трудно устранимым кровопотерям [11].

Особенности перестройки мембран тромбоцитов при преэклампсии. Особая роль в инициации адгезии и агрегации тромбоцитов принадлежит их плазматической мембране. При преэклампсии происходит изменение фосфолипидного состава мембран вследствие активации процессов перекисидации, инициированных окислительным стрессом [12], что, в свою очередь, приводит к изменению размеров и формы тромбоцитов, условий перехода клеток из эллипсоидной формы в сферическую с образованием псевдоподий и активацией соответствующих физиологических ответов: секреции внутриклеточных гранул и агрегации клеток.

Особенности перестройки внутриклеточных структур тромбоцитов при преэклампсии. К плазматической мембране изнутри прилегает цитоскелет, образованный короткими актиновыми нитями, поперечно сшитыми актин-связывающими белками и тубулиновыми микротрубочками. Цитоскелет стабилизирует структуру плазматической мембраны, поддерживает дисковидную форму тромбоцита и регулирует его объем.

Хотя тромбоциты безъядерны, однако они содержат множество внутриклеточных органелл, в том числе микротрубочковые полосы и пару мембранных систем (плотная трубчатая система и соединенная с плазматической мембраной канальцевая система) и три типа секреторных гранул (альфа-гранулы, плотные гранулы, и потенциально схожие с лизосомами – кислотные органеллы).

Плотная трубчатая система (DTS) тромбоцита аналогична эндоплазматическому ретикулуму других клеток и является местом локализации ферментов, включенных в синтез простагландинов, а также выполняет функцию депонирования ионов кальция. Увеличение количества простагландинов, происходящее при преэклампсии [13], может стать причиной вазоспазма и усилить окислительное повреждение клеток.

Основная роль открытой канальцевой системы (OCS) заключается в обмене клетки с окружающей средой. Кроме того, OCS служит основным местом хранения гликопротеинов для плазматической мембраны и способствует формированию филоподий во время активации тромбоцитов.

Плотные гранулы выполняют депонирующую функцию, а при их секреции в цитозоль выделяются АТФ, АДФ, ГДФ, Ar_4A , серотонин, ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} . Косвенные данные о снижении при преэклампсии количества секретируемого АТФ и Mg^{2+} , а также данные микроскопии, свидетельствуют об уменьшении количества и размеров плотных гранул [14].

Сферические альфа-гранулы наиболее многочисленны, содержат тромбоцит-специфичные белки: β -тромбоглобулин, тромбоцитарный фактор IV, а также катионные белки – митогенный фактор роста, хемотаксический и бактерицидный факторы; факторы коагуляции (Va и VIII), фибриноген, гликопротеины (тромбоспондин, фибриноген, фибронектин, фактор фон Виллебранда (vWF) и др.). Следует

отметить, что при преэклампсии отмечено повышение количества β -тромбоглобулина и тромбоцитарного фактора IV [15].

Кислотные органеллы более плотны, чем альфа-гранулы, а при их секреции выделяется ряд ферментов: β -гексоаминаза, β -глюкуронидаза, β -галактозидаза, α -арабинозидаза, кислотная гидролаза, а также катепсин и мембранные белки. Выделяемые гидролитические ферменты способны воздействовать на эндотелиальные клетки, подвергая их разрушению. К примеру, под действием свободных радикалов происходит высвобождение катепсина D в цитозоль клетки, вызывая апоптоз. Гиперактивация данного фермента при преэклампсии, начиная с ранних сроков беременности, является одним из патогенетических звеньев его развития [16].

Быстрое и эффективное реагирование тромбоцитов является жизненно важным. Для обеспечения этой функции кровяные пластинки являются очень чувствительными к внешним раздражителям и могут пройти быстрый процесс активации, который усиливается внутренней обратной связью в виде аутокринной и паракринной сигнализации.

Особенности активации тромбоцитов при преэклампсии. Под активацией тромбоцитов понимают переход клетки из спокойного в возбужденное состояние, которое сопровождается резкими изменениями формы из эллипсоидной в сферическую с образованием псевдоподий и соответствующими физиологическими ответами: секрецией из внутриклеточных гранул биологически активных веществ и их метаболитов, а также агрегацией.

Первым этапом в процессе тромбообразования является адгезия тромбоцитов к субэндотелию при участии фактора Виллебранда, ассоциированного с субэндотелиальным матриксом. Взаимодействие тромбоцитарного гликопротеина Ib с фактором Виллебранда, которое происходит после повреждения сосуда, инициирует адгезию тромбоцитов к субэндотелию в зоне повреждения и формирование гемостатической пробки. Кроме этого, данный домен имеет несколько сайтов связывания для белка-адаптера 14-3-3 ζ . Эти сайты имеют несколько функций: регулирование способности GPIb-IX-V связывать vWF и присоединение комплекса к белку цитоскелета – филламину А с последующей трансдукцией сигнала внутрь клетки. У беременных женщин, перенесших преэклампсию, отмечается повышение уровня vWF по сравнению с женщинами, не имевших осложнений при беременности [17].

Дальнейшее накопление и закрепление тромбоцитов на поврежденной поверхности осуществляется за счет взаимодействия коллагена с GPIa/IIa и GPVI. При этом GPIa/IIa способствует полной остановке и закреплению клетки на участке повреждения, а GPVI усиливает закрепление тромбоцита на поврежденной поверхности и инициирует ряд регуляторных механизмов приводящих к полной клеточной активации.

Передача сигналов посредством GPVI осуществляется за счет фосфорилирования двух остатков тирозина ITAM домена Fc γ -цепи. После этого остатки тирозина ITAM фосфорилируются Src киназами Lyn и Fyn, обеспечивая возможность связывания с Syk тирозинкиназой. Активация Syk запускает ряд следующих друг за другом реакций, приводящих к активации фосфолипазы C γ 2 (PLC γ 2), фосфатидилинозитол-3-киназы (PI $_3$ K), катализирующей образование фосфоинозитол-3,4,5-трифосфата (PIP $_3$) и малых G-белков, что в итоге приводит к мобилизации ионов кальция из внутриклеточных депо, секреции гранул и агрегации тромбоцитов.

Активация PLC γ 2 приводит к гидролизу фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (PIP $_2$) с образованием двух вторичных мессенджеров, инозитол-1,4,5-трифосфата (IP $_3$), повышающего внутриклеточную концентрацию ионов кальция и 1,2-диацилглицерина (DAG), вызывающего активацию протеинкиназы C (PKC) и секрецию тромбоцитов.

После изменения формы и частичной секреции гранул начинает формироваться тромбин, являющийся первичной эффекторной протеазой коагуляционного каскада [18]. Тромбин активирует тромбоциты через протеолитическое расщепление PAR рецепторов, связанных с G-белками (G $_q$ и G $_{12/13}$), вызывая изменение формы, а также секрецию вторичных индукторов агрегации (АДФ, тромбоксан А $_2$ (TxA $_2$), серотонин), которые дополнительно усиливают изменение формы тромбоцитов и их активацию.

Обильно секретируемые из плотных гранул активированных тромбоцитов АДФ и АТФ, являются лигандами P2 пуринорецепторов, расположенных на поверхности клеток. Сам по себе АДФ является относительно слабым агонистом тромбоцитов, вызывает обратимое изменение формы и слабую агрегацию. Однако его секреция тромбоцитами играет важную роль в усилении агрегации этих клеток и формировании тромба. Взаимодействуя с G $_q$ -связанным P2Y $_1$ рецептором, АДФ способствует активации фосфолипазы C и высвобождению кальция из внутриклеточных хранилищ, приводя к изменению формы тромбоцитов. Кроме этого, АДФ также связывается с P2Y $_{12}$, который посредством G $_i$ -белка ингибирует аденилатциклазу, приводя к снижению уровня цАМФ в клетке, что имеет важное значение для полного

ответа на АДФ-индуцированную агрегацию и стабилизацию агрегатов [19], а также усиление ответа тромбоцитов на другие агрегирующие агенты, в том числе тромбоксан А₂, тромбин и коллаген.

Третий тромбоцитарный пуринергический рецептор P2X₁ представляет собой кальцевый канал [20], который запускает приток внеклеточного кальция в тромбоциты в ответ на АДФ. Избирательная коактивация P2X₁ рецептора и либо P2Y₁₂, либо P2Y₁ рецепторов не вызывает агрегацию тромбоцитов, хотя рецептор P2X₁ потенцирует P2Y₁ рецептор-опосредованное увеличение внутриклеточного кальция [21]. Таким образом, P2X₁ рецептор-опосредованный быстрый приток кальция вызывает изменение формы тромбоцитов, но он не играет никакой существенной роли в АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. Быстрая активация и ответ на этот рецептор, вероятно, важна на первоначальных стадиях активации в условиях больших скоростей течения крови по кровяному руслу.

В литературе публикуется недостаточно сведений о функциональном состоянии различных типов пуриновых и протеаза-активируемых рецепторов при преэклампсии. Однако в ответ на действие АДФ и тромбина отмечается повышенная агрегация тромбоцитов беременных с данной патологией [22].

Поступление кальция в цитозоль активирует фосфолипазу А₂ (PLA₂), катализирующую образование арахидоновой кислоты, которая служит субстратом для синтеза ряда биологически активных веществ, в том числе тромбоксана А₂. ТхА₂ является достаточно слабым индуктором агрегации тромбоцитов, причем считается еще более слабым, чем АДФ, а его действие локально ограничено из-за короткого периода полураспада [11] и гидролиза до тромбоксана В₂. Его биологическое действие осуществляется через собственный TP рецептор, связанный с G_q и G₁₂/G₁₃ белками и приводит к активации фосфолипазы С и стимуляции Rho/Rho киназы с последующим фосфорилированием легких цепей миозина (MLC), приводя к изменениям в формировании актина и перегруппировке цитоскелета тромбоцитов [23].

В ходе образования ТхА₂ также образуются простаглицин (PGI₂) и простаглицин Е₁, выполняющие противоположную функцию – увеличивая уровень аденилициклазы и цАМФ в тромбоцитах, что приводит к ингибированию их агрегации. цАМФ активирует протеинкиназу А (РКА), которая фосфорилирует и ингибирует RhoA и RhoA-ROCK2-MLCP передачу сигнала, фосфорилирование легких цепей миозина и изменение формы тромбоцитов [23]. Существуют данные, что при преэклампсии нарушаются соотношения между тромбоксаном А₂ и его природными антагонистами – простаглицинами [24]. Повышенное формирование ТхА₂ и значительное понижение уровня цАМФ и цГМФ приводят к мобилизации ионов Ca²⁺ в цитоплазме клеток и их высокой агрегационной активности. Снижение уровня цГМФ в тромбоцитах беременных с преэклампсией может быть связано со снижением уровня оксида азота (NO) в плазме крови, поскольку существуют сведения [25] о благотворном влиянии нитратов, высвобождающих NO у больных с HELLP-синдромом, демонстрирующих снижение активации тромбоцитов и увеличение уровня цГМФ.

Увеличение уровня внутриклеточного кальция обычно происходит за счет мобилизации ионов Ca²⁺ из внутриклеточных хранилищ (IP₃-триггерное высвобождение), а затем еще более резкого прироста за счет внутриклеточных механизмов, запускающих поступление данного иона из внеклеточной среды (SOCE). Функционирование SOCE осуществляется за счет Ca²⁺-сенсорной молекулы взаимодействия стромы 1 (STIM1). STIM1 содержит два N-концевых EF домена в просвете DTS и OCS, способные связывать ионы кальция. После опустошения последних, это связывание нарушается и STIM1 перераспределяет и открывает кальций-транспортные каналы в мембране. Основным депо-управляемым кальцевым каналом на поверхности тромбоцитов приводящим к притоку внеклеточного кальция является белок Orai1 [26].

Вышеизложенное свидетельствует об изменении процессов регулирования Ca²⁺-гомеостаза в тромбоцитах беременных женщин с преэклампсией. Это также подтверждается тем, что у беременных с данной патологией, поступление ионов кальция в цитоплазму становится более интенсивным по сравнению с физиологически протекающей беременностью, что, вероятно, связано с усилением пассивного и/или ионообменного транспорта [22]. Кроме этого, при преэклампсии нарушается активность Ca²⁺-АТФаз тубулярной системы и кислотных органелл тромбоцитов, что замедляет отток ионов кальция из цитоплазмы во внутриклеточные депо [22].

Хотя все перечисленные события тесно связаны с изменением формы и происходят на начальных стадиях активации тромбоцитов, её критическим медиатором является интегрин αIIbβ3 [27].

Активация αIIbβ3, как предполагается, осуществляется за счет Ca²⁺ и диацилглицерол-управляемого фактора обмена гуаниновых нуклеотидов I (CalDAG-GEFI). Эта внутриклеточная сигнальная молекула участвует в активации малой ГТФазы RAP1 путем замещения ГДФ на ГТФ [28]. При клеточной стимуляции, приводящей к увеличению уровня цитоплазматического кальция, CalDAG-GEFI катализирует быструю, но обратимую активацию RAP1, в то время как его устойчивая активация требует передачи сигнала посредством РКС и фосфатидилинозитол-3-киназы, связанной с P2Y₁₂ рецептором [28].

Активированная PI_3K опосредует превращение PIP_2 в PIP_3 , что приводит к ингибированию RASA3 и устойчивой активации RAP1. Длительность активации RAP1 контролируется антагонистическим балансом между чувствительным к кальцию CalDAG-GEFI и ингибитором RAP1 – белком RASA3, катализирующим гидролиз ГТФ, переводя RAP1 в неактивную форму, активирующегося при ингибировании $P2Y_{12}$ рецептора [29].

Таким образом, повышение цитозольного кальция, приводящего к активации CalDAG-GEFI и инактивации RASA3, побуждает к активации тромбоцитов и значительному увеличению вероятности взаимодействия тромбоцитов между собой и формирования тромба.

Подводя итоги, следует отметить, что тромбоциты обладают набором различных адгезивных рецепторов и сложными механизмами их регулирования для соблюдения ответов на четко определенный набор стимулов. Активация тромбоцитов вызывается различными агонистами, высвобождаемыми из активированных тромбоцитов и/или образованными в каскаде коагуляции. Хотя эти агонисты действуют на разные рецепторы тромбоцитов и вызывают различные сигнальные пути, общим результатом их действия является увеличение в цитоплазме концентрации свободных ионов кальция, а в механизмах дезагрегации – повышение содержания циклических нуклеотидов.

Заключение

Исходя из вышеизложенного, можно сделать заключение, что для преэклампсии характерны нарушения микроциркуляции, связанные со стойкой повышенной агрегационной способностью тромбоцитов и постепенным снижением их числа.

Повышенная агрегационная активность тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией может быть вызвана следующими причинами:

- изменение фосфолипидного состава мембран вследствие активации процессов пероксидации, инициированных окислительным стрессом;
- снижением количества плотных телец в тромбоцитах (следовательно, уровня депонированных дезагрегантов: Ar_4A , АТФ);
- изменением Ca^{2+} обмена: более интенсивным поступлением ионов кальция в цитоплазму и замедлением их оттока из цитоплазмы во внутриклеточные депо, нарушая таким образом их соотношение с другими внутриклеточными мессенджерами (цАМФ, цГМФ);
- усиленным формированием TxA_2 , которое на фоне значительного понижения уровня цАМФ приводит к мобилизации Ca^{2+} в цитоплазму клеток и высокой агрегационной активности.

Понижение числа тромбоцитов в крови при преэклампсии определяется преимущественно нарушением регуляторных функций тромбопоэтина.

Воснову сдерживающих агрегацию механизмов положены процессы, регулирующие внутриклеточное содержание циклических нуклеотидов – цАМФ, цГМФ и простагландинов, регуляторная функция которых при преэклампсии нарушена.

Учитывая значимость роли тромбоцитарно-эндотелиальной дисфункции, изменений сосудистой стенки и нарушений эндотелия, восстановление содержания тромбоцитов и их функций будет способствовать нормализации структурно-функционального состояния эндотелия и тонуса сосудов. Следовательно, для профилактики и лечения преэклампсии следует применять биологически активные соединения, способные оказывать влияние в первую очередь на агрегационные свойства тромбоцитов.

Библиографические ссылки

1. Айламазян Э. К., Мозговая Е. В. Гестоз: теория и практика. М., 2008.
2. Проскурина А. С., Невзорова Е. В., Гулин А. В. и др. Состояние репродуктивной системы женщин в условиях неблагоприятной экологической обстановки окружающей среды // Вестник Тамбовского университета. Серия естественные и технические науки. 2015. Т. 20. № 2. С. 363–365.
3. Pinheiro M. B., Gomes K. B., Dusse L. M. Fibrinolytic system in preeclampsia // Clin. Chim. Acta. 2013. Vol. 416. P. 67–71. DOI: 10.1016/j.cca.2012.10.060.
4. Townsley D. M. Hematologic complications of pregnancy // Semin. Hematol. 2013. Vol. 50. № 3. P. 222–231. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2013.06.004.
5. Ghoshal K., Bhattacharyya M. Overview of Platelet Physiology: Its Hemostatic and Nonhemostatic Role in Disease Pathogenesis // The Scientific World Journal. 2014. Vol. 2014. P. 1–16. DOI: 10.1155/2014/781857.
6. McCrae K. R. Thrombocytopenia in pregnancy: differential diagnosis, pathogenesis, and management // Blood Rev. 2003. Vol. 17. № 1. P. 7–14. PMID: 12490206.
7. Погорелов В. М., Козинец Г. И., Макаров И. О. и др. Тромбоцитарные параметры при нормально протекающей беременности и гестозе // Акушерство гинекология и репродукция. 2012. Т. 6. № 3. С. 28–33.
8. Frölich M. A., Datta S., Corn S. B. Thrombopoietin in normal pregnancy and preeclampsia // Am. J. Obstet. Gynecol. 1998. Vol. 179. № 1. P. 100–104. PMID: 9704772.

9. Сидоренко В. Н., Лобанок Л. М., Можейко Л. Ф. Констрикторные эффекты сосудов плаценты при беременности, осложненной гестозом // Доклады Национальной Академии Наук Беларуси. 2007. Т. 51. № 5. С. 110–113.
10. Кузник Б. И. Физиологическая роль тромбоцитов в гемостазе // Казан. мед. журн. 1977. № 6. С. 25–29.
11. Rinehart B. K., Terrone D. A., May W. L., et al. Change in platelet count predicts eventual maternal outcome with syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count // J. Matern. Fetal. 2001. Vol. 10, № 1. P. 28–34. PMID: 11332416.
12. Felfernig-Boehm D., Salat A., Vogl S. E., et al. Early detection of preeclampsia by determination of platelet aggregability // Thromb. Res. 2000. Vol. 98, № 2. P. 139–146. PMID: 10713315.
13. Madazli R., Benian A., Gümüştaş K., et al. Lipid peroxidation and antioxidants in preeclampsia // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 1999. Vol. 85, № 2. P. 205–208. PubMed PMID: 10584636.
14. Hayashi M., Kiumi F., Hoshimoto K., et al. Platelet aggregation response and adenosine triphosphate secretion after abdominal total hysterectomy // Int. J. Clin. Pract. 2003. Vol. 57, № 6. P. 461–466. PMID: 12918883.
15. Lazarov R., Konijnenberg A., van der Post J. A., et al. Preeclampsia not (yet) predictable from the blood platelet count // Ned. Tijdschr. Geneesk. 1999. Vol. 143, № 1. P. 10–13. PMID: 10086090.
16. Борзова Н. Ю., Герасимов А. М., Скрипкина И. Ю. и др. Роль катепсина d в патогенезе гестоза // Вестник новых медицинских технологий. 2009. Т. XVI, № 3. С. 54–56.
17. Рубахова Н. Н., Гуляева Л. С., Рубахов К. О. и др. Дисфункция эндотелия после перенесенного гестоза как предиктор сердечно-сосудистой патологии // Медицинский журнал. 2014. № 1. С. 102–105.
18. Stalker T. J., Welsh J. D., Brass L. F. Shaping the platelet response to vascular injury // Curr. Opin. Hematol. 2014. Vol. 21, № 5. P. 410–417. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000070.
19. Gremmel T., Yanachkov I. B., Yanachkova M. I., et al. Synergistic Inhibition of Both P2Y1 and P2Y12 Adenosine Diphosphate Receptors As Novel Approach to Rapidly Attenuate Platelet-Mediated Thrombosis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2016. Vol. 36, № 3. P. 501–509. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.306885.
20. Mahaut-Smith M. P., Jones S., Evans R. J. The P2X1 receptor and platelet function // Purinergic Signal. 2011. Vol. 7, № 3. P. 341–356. DOI: 10.1007/s11302-011-9224-0.
21. Sage S. O., Yamoah E. H., Heemskerk J. W. The roles of P(2X1) and P(2T AC) receptors in ADP-evoked calcium signalling in human platelets // Cell Calcium. 2000. Vol. 28, № 2. P. 119–126. PMID: 10970768.
22. Бакунович А. В., Бичан О. Д., Лобанок Л. М. и др. Влияние диаденозин тетрафосфата на особенности депонирования ионов кальция в тромбоцитах беременных женщин с преэклампсией // Новости медико-биологических наук = News of biomedical sciences: научно-практический и научно-теоретический журнал. 2018. Т. 18, № 1. С. 147–155.
23. Aburima A., Wraith K. S., Raslan Z., et al. cAMP signaling regulates platelet myosin light chain (MLC) phosphorylation and shape change through targeting the RhoA-Rho kinase-MLC phosphatase signaling pathway // Blood. 2013. Vol. 122, № 20. P. 3533–3545. DOI: 10.1182/blood-2013-03-487850.
24. Friedman S. A. Preeclampsia: a review of the role of prostaglandins // Obstet. Gynecol. 1988. Vol. 71, № 1. P. 122–137. PMID: 3275908.
25. de Belder A. J., MacAllister R., Radomski M. W., et al. Effects of S-nitroso-glutathione in the human forearm circulation: evidence for selective inhibition of platelet activation // Cardiovasc. Res. 1994. Vol. 28, № 5. P. 691–694. PMID: 8025915.
26. Varga-Szabo D., Braun A., Nieswandt B. Calcium signaling in platelets // J. Thromb. Haemost. 2009. Vol. 7, № 7. P. 1057–1066. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03455.x.
27. Nieswandt B., Moser M., Pleines I., et al. Loss of talin1 in platelets abrogates integrin activation, platelet aggregation, and thrombus formation in vitro and in vivo // J. Exp. Med. 2007. Vol. 204, № 13. P. 3113–3118. PMID: 18086864.
28. Stefanini L., Boulaftali Y., Ouellette T. D., et al. Rap1-Rac1 circuits potentiate platelet activation // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2012. Vol. 32, № 2. P. 434–441. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.239194.
29. Stefanini L., Bergmeier W. RAP1-GTPase signaling and platelet function // J. Mol. Med (Berl). 2016. Vol. 94, № 1. P. 13–19. DOI: 10.1007/s00109-015-1346-3.

References

1. Aylamazyan E. K., Mozgovaya E. V. [Gestosis: Theory and Practice]. Moscow, 2008 (in Russ.).
2. Proskurina A. S., Nevzorova E. V., Gulina A. V., et al. [The state of the reproductive system of women in conditions of unfavorable environmental conditions of the environment]. *Bulletin of the Tambov University. A series of natural and technical sciences*. 2015. Vol. 20. No. 2. P. 363–365 (in Russ.).
3. Pinheiro M. B., Gomes K. B., Dusse L. M. [Fibrinolytic system in preeclampsia]. *Clin. Chim. Acta*. 2013. Vol. 416. P. 67–71. DOI: 10.1016/j.cca.2012.10.060.
4. Townsley D. M. Hematologic complications of pregnancy. *Semin. Hematol.* 2013. Vol. 50, № 3. P. 222–231. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2013.06.004.
5. Ghoshal K., Bhattacharyya M. Overview of Platelet Physiology: Its Hemostatic and Nonhemostatic Role in Disease Pathogenesis. *The Scientific World J.* 2014. Vol. 2014. P. 1–16. DOI: 10.1155/2014/781857.
6. McCrae K. R. Thrombocytopenia in pregnancy: differential diagnosis, pathogenesis, and management. *Blood Rev.* 2003. Vol. 17, No 1. P. 7–14. PMID: 12490206.
7. Pogorelov V. M., Kozinets G. I., Makarov I. O., et al. [Platelet parameters during normal pregnancy and preeclampsia]. *Obstetrics, gynecology and reproduction*. 2012. Vol. 6. No. 3. P. 28–33 (in Russ.).
8. Frölich M. A., Datta S., Corn S. B. Thrombopoietin in normal pregnancy and preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998. Vol. 179, № 1. P. 100–104. PMID: 9704772.
9. Sidorenko V. N., Lobanok L. M., Mozheiko L. F. [Constrictor effects of vessels of the placenta during pregnancy complicated by preeclampsia]. *Reports of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2007. Т. 51. № 5. P. 110–113 (in Russ.).
10. Kuznik B. I. [The physiological role of platelets in hemostasis]. *Kazan. Honey. J.* 1977. № 6. P. 25–29 (in Russ.).
11. Rinehart B. K., Terrone D. A., May W. L., et al. [Change in platelet count predicts eventual maternal outcome with syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count]. *J. Matern. Fetal.* 2001. Vol. 10. No 1. P. 28–34. PMID: 11332416.

12. Felfernig-Boehm D., Salat A., Vogl S. E., et al. Early detection of preeclampsia by determination of platelet aggregability. *Thromb. Res.* 2000. Vol. 98, No 2. P. 139–146. PMID: 10713315.
13. Madazli R., Benian A., Gümüştas K., et al. Lipid peroxidation and antioxidants in preeclampsia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 1999. Vol. 85, № 2. P. 205–208. PubMed PMID: 10584636.
14. Hayashi M., Kiumi F., Hoshimoto K., et al. Platelet aggregation response and adenosine triphosphate secretion after abdominal total hysterectomy. *Int. J. Clin. Pract.* 2003. Vol. 57, № 6. P. 461–466. PMID: 12918883.
15. Lazarov R., Konijnenberg A., van der Post J. A., et al. Preeclampsia not (yet) predictable from the blood platelet count. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 1999. Vol. 143, № 1. P. 10–13. PMID: 10086090.
16. Borzova N. Yu., Gerasimov A. M., Skripkina I. Yu., et al. [The role of cathepsin d in the pathogenesis of preeclampsia]. Bulletin of new medical technologies. 2009. Vol. XVI, No. 3. P. 54–56 (in Russ).
17. Rubakhova N. N., Gulyaeva L. S., Rubakhov K. O., et al. [Endothelial dysfunction after suffering gestosis, as a predictor of cardiovascular pathology]. *Medical J.* 2014. No. 1. P. 102–105 (in Russ).
18. Stalker T. J., Welsh J. D., Brass L. F. Shaping the platelet response to vascular injury. *Curr. Opin. Hematol.* 2014. Vol. 21, No 5. P. 410–417. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000070.
19. Gremmel T., Yanachkov I. B., Yanachkova M. I., et al. Synergistic Inhibition of Both P2Y1 and P2Y12 Adenosine Diphosphate Receptors As Novel Approach to Rapidly Attenuate Platelet-Mediated Thrombosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2016. Vol. 36, No 3. P. 501–509. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.306885.
20. Mahaut-Smith M. P., Jones S., Evans R. J. The P2X1 receptor and platelet function. *Purinergic Signal.* 2011. Vol. 7, No 3. P. 341–356. DOI: 10.1007/s11302-011-9224-0.
21. Sage S. O., Yamoah E. H., Heemskerck J. W. The roles of P(2X1) and P(2T AC) receptors in ADP-evoked calcium signalling in human platelets. *Cell Calcium.* 2000. Vol. 28, No 2. P. 119–126. PMID: 10970768.
22. Bakunovich A. V., Bichan O. D., Lobanok L. M., et al. [The effect of diadenosine tetraphosphate on the features of calcium ions deposition in platelets of pregnant women with preeclampsia]. *News of biomed. sciences: scien.-pract. and scien.-theoret. j.* 2018. Vol. 18, No 1. P. 147–155 (in Russ).
23. Aburima A., Wraith K. S., Raslan Z., et al. cAMP signaling regulates platelet myosin light chain (MLC) phosphorylation and shape change through targeting the RhoA-Rho kinase-MLC phosphatase signaling pathway. *Blood.* 2013. Vol. 122, № 20. P. 3533–3545. DOI: 10.1182/blood-2013-03-487850.
24. Friedman S. A. Preeclampsia: a review of the role of prostaglandins. *Obstet. Gynecol.* 1988. Vol. 71, No. 1. P. 122–137. PMID: 3275908.
25. de Belder A. J., MacAllister R., Radomski M. W., et al. Effects of S-nitroso-glutathione in the human forearm circulation: evidence for selective inhibition of platelet activation. *Cardiovasc. Res.* 1994. Vol. 28, No 5. P. 691–694. PMID: 8025915.
26. Varga-Szabo D., Braun A., Nieswandt B. Calcium signaling in platelets. *J. Thromb. Haemost.* 2009. Vol. 7, № 7. P. 1057–1066. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03455.x.
27. Nieswandt B., Moser M., Pleines I., et al. Loss of talin1 in platelets abrogates integrin activation, platelet aggregation, and thrombus formation in vitro and in vivo. *J. Exp. Med.* 2007. Vol. 204, № 13. P. 3113–3118. PMID: 18086864.
28. Stefanini L., Boulaftali Y., Ouellette T. D., et al. Rap1-Rac1 circuits potentiate platelet activation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012. Vol. 32, № 2. P. 434–441. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.239194.
29. Stefanini L., Bergmeier W. RAP1-GTPase signaling and platelet function. *J. Mol. Med (Berl).* 2016. Vol. 94, No 1. P. 13–19. DOI: 10.1007/s00109-015-1346-3.

Статья поступила в редколлегию 12.10.2018
Received by editorial board 12.10.2018

УДК 612.08[616+615.32]

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ЦИКЛИЧЕСКОГО ДИМЕРНОГО ГУАНОЗИНМОНОФОСФАТА И ЕГО СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ

М. М. ЗАФРАНСКАЯ¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

Приведены результаты по изучению эффектов циклического димерного гуанозинмонофосфата c-di-GMP и его структурных аналогов – циклического димерного 2-арагуанозинмонофосфата (c-di-araGMP) и циклического димерного 2-дезоксигуанозинмонофосфата (c-di-deoxyGMP) на вне- и внутриклеточную продукцию фактора некроза опухоли альфа, интерферонов 1-го и 2-го типов мононуклеарами периферической крови человека при неспецифической и миелин-специфической стимуляции *in vitro*. Установлено, что циклические динуклеотиды оказывают стимулирующее влияние на продукцию ФНО- α , ИФН- α и ИФН- γ митоген-активированными мононуклеарами периферической крови человека, при одновременном ингибировании c-di-GMP в концентрации 10^{-4} М и 10^{-5} М секреции *in vitro* внеклеточных интерферонов 1-го и 2-го типов при миелин-специфической стимуляции. Полученные результаты открывают широкую перспективу для разработки новых препаратов, направленных на регуляцию противoinфекционного иммунитета и поддержание периферической толерантности иммунной системы по отношению к собственным антигенам организма человека, а также свидетельствуют о важности проведения дальнейших исследований, направленных на изучение эффектов данных соединений при иммунопатологических состояниях.

Ключевые слова: иммуномодуляция; циклический димерный гуанозинмонофосфат; интерферон гамма; интерферон альфа; фактор некроза опухоли альфа.

IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF CYCLIC DIMERIC GUANOZINMONOPHOSPHATE AND ITS STRUCTURAL ANALOGUES

М. М. ZAFRANSKAYA^a

^aBelarusian State University,
International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus

The results of studying the effects of cyclic dimeric guanosine monophosphate (c-di-GMP) and its structural analogues – cyclic dimeric 2-araguanosine monophosphate (c-di-araGMP) and cyclic dimeric 2-deoxyguanosine monophosphate (c-di-deoxyGMP) on the extra- and intracellular production of tumor necrosis factor alpha, type 1 and type 2 interferons by human peripheral blood mononuclear cells during *in vitro* non-specific and myelin-specific stimulation are presented in the paper. Cyclic dinucleotides have been established to have a stimulating effect on the production of TNF- α , IFN- α and IFN- γ by mitogen-activated human peripheral blood mononuclear cells with a simultaneous inhibition

Образец цитирования:

Зафранская М. М. Иммуномодулирующие свойства циклического димерного гуанозинмонофосфата и его структурных аналогов // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 84–93.

For citation:

Zafranskaya M. M. Immunomodulating properties of cyclic dimeric guanozinmonophosphate and its structural analogues. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 84–93 (in Russ.).

Авторы:

Марина Михайловна Зафранская – доктор медицинских наук, доцент; заведующий кафедрой иммунологии и экологической эпидемиологии.

Authors:

Marina M. Zafranskaya, doctor of sciences (medical), associate professor; head of the department of immunology and environmental epidemiology.
zafranskaya@gmail.com

by c-di-GMP at concentration of 10^{-4} M and 10^{-5} M of extracellular type I and type II interferons during myelin-specific stimulation secretion *in vitro*. The obtained results open up a broad perspective for developing new drugs aimed at regulating anti-infective immunity and maintaining peripheral tolerance of the immune system in relation to the human organism own antigens, and also demonstrate the need in further research for studying the effects of these compounds in immunopathological conditions.

Key words: immunomodulation; cyclic dimeric guanozinmonophosphate; interferon gamma; interferon alfa; tumor necrosis factor alfa.

Введение

Для поиска средств и способов целенаправленного воздействия на развитие иммунологических процессов в условиях различного экологического воздействия необходимо понимание регуляторных механизмов, контролирующих иммуногенез и патогенез на молекулярном уровне. При этом в последнее время огромное внимание уделяется изучению закономерностей функционирования внутриклеточных сигнальных путей, реализующих эффекты биологически активных веществ, неспособных проникать через плазматическую мембрану клеток (гормонов, нейромедиаторов, цитокинов и т. д.). Такими «вторичными» посредниками являются инозитолтрифосфат, фосфатидилинозитол, диацилглицерол, а также циклические димерные пуриннуклеозидмонофосфаты (циклические аденозинмонофосфат и гуанозинмонофосфат) [1].

Система врожденного иммунитета действует как первая линия защиты. Иммунный ответ зависит от своевременного распознавания патогенных структур с участием различных паттерн-распознающих рецепторов (PRRs – Pattern recognition receptors) клеточной поверхности и передачи сигналов с участием адапторных и эффекторных молекул для проявления специфических реакций. PRRs узнают чужеродные структуры – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs – Pathogen-associated molecular patterns), присутствующие у бактерий, вирусов и грибов, а также собственные молекулярные структуры, связанные с повреждениями или гибелью клеток (DAMPs – Damage associated molecular pattern molecules). Они обеспечивают функционирование целого ряда перекрывающихся процессов (активация фактора NF- κ B, продукция интерферонов (IFN), созревание цитокинов и клеточная гибель) [2–4]. Первой линией инициации врожденного иммунитета являются четыре основных сигнальных пути, включающие активированные Toll-подобные рецепторы (TLR), RIG-I-подобные рецепторы (RLR), инфламасомы и сигнальную систему cGAS/STING, которые отличаются своей клеточной локализацией, специфичностью к лигандам и механизмом передачи сигнала [5; 6].

Появление чужеродной двухцепочечной ДНК в цитоплазме клеток млекопитающих служит «сигналом опасности», приводя к связыванию этой ДНК с синтетазой циклического димерного GMP-AMP (cGAS, рис. 1а). Активированная cGAS обладает выраженной иммуномодулирующей активностью, в частности катализирует образование вторичного мессенджера $c[G(2',5')pA(3',5')p]$ с необычной 2',5'-связью, который инициирует последующую активацию пути синтеза интерферонов I типа [5; 7–9]. Несмотря на высокую иммуностимулирующую активность $c[G(2',5')pA(3',5')p]$, его практическое применение затруднено и в значительной степени из-за малой доступности.

Аналогичной иммуномодулирующей активностью обладает также циклический димерный гуанозинмонофосфат (c-di-GMP), который представляет собой внутриклеточный вторичный мессенджер, участвующий в c-di-GMP-зависимых сигнальных путях (рис. 1б), реализуемых только у *Bacteria* и *Archea*.

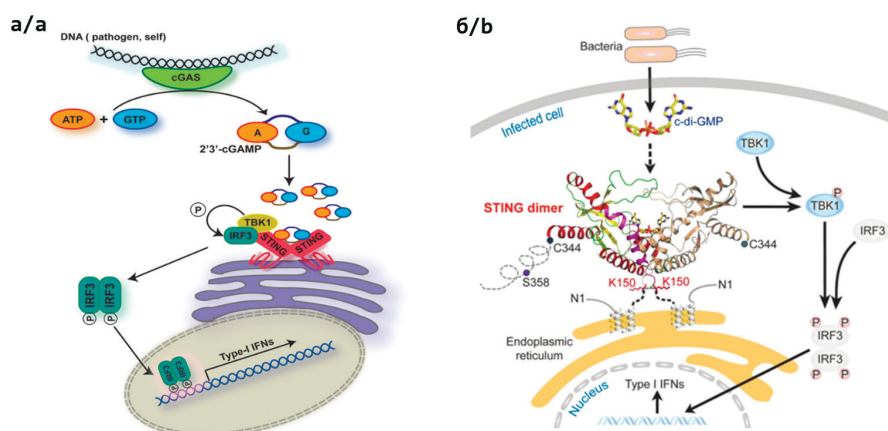


Рис. 1. Сигнальные пути, реализуемые с участием эффектора млекопитающих cGAS (а) и его бактериального аналога c-di-GMP (б) [5].

Fig. 1. Overview of signaling pathways realized with participation of an effector of mammal cGAS (a) and its bacterial analog c-di-GMP (b) [5].

В последнее время сигнальная ось cGAS/STING (синтетаза циклического гуанозинмонофосфат-аденозинмонофосфата/STING) вызывает повышенный интерес исследователей вследствие ее способности так распознавать цитоплазматическую чужеродную ДНК, связанную с бактериальной или вирусной инфекцией, как и появление в цитоплазме собственной ДНК, вызываемое нарушением функции клеток или стрессом. Цитоплазматическая ДНК, происходящая из вторгающихся патогенов или собственных ядерных и митохондриальных геномов, является мощным активатором системы врожденного иммунитета, взаимодействуя с PAMPs и DAMPs [10; 11]. Так, вирусная инфекция вызывает повреждение митохондрий, приводя к высвобождению митохондриальной ДНК, которая также узнается cGAS в качестве DAMP, приводя к активации иммунной системы [12]. Такая активация cGAS/STING сигнальной оси собственной ДНК может индуцировать развитие аутоиммунных болезней [9; 13]. Более того, cGAS/STING сигналинг распознает ДНК опухолевых клеток и стимулирует противоопухолевый иммунитет [14].

Бис-(3',5')-циклический димерный гуанозинмонофосфат (c-di-GMP) представляет собой внутриклеточный вторичный мессенджер, используемый подавляющим большинством бактерий для регуляции множества биологических процессов, включая подвижность и адгезию бактериальных клеток, межклеточные коммуникации, синтез экзополисахаридов, формирование биопленок и экспрессию генов вирулентности [15; 16].

С другой стороны, c-di-GMP способен действовать как «сигнал опасности» на эукариотические клетки и проявлять выраженную иммуномодулирующую адьювантную активность в отношении различных бактериальных инфекций, в том числе влиять на продукцию ИФН I типа клетками иммунной системы [17; 18]. Некоторыми авторами в экспериментах *in vivo* и *in vitro* продемонстрировано, что введение бактериального c-di-GMP лабораторным мышам приводит к стимуляции как клеток врожденного (моноциты, макрофаги, гранулоциты), так и приобретенного иммунитета (Т-лимфоциты, дендритные клетки) и вызывает развитие полноценного иммунного ответа в организме животных, в том числе синтез ИФН I типа [19–22].

Таким образом, механизмы, ответственные за иммуномодулирующие свойства c-di-GMP, рецепторное связывание c-di-GMP, пути трансляции и трансдукции сигнала в иммунокомпетентных клетках человека до сих пор остаются неизвестными. Показано, что природные и модифицированные аналоги c-di-GMP также обладают способностью стимулировать иммунную систему позвоночных. Они могут быть использованы в качестве терапевтического средства при инфекционных, онкологических и ряда других заболеваний [23]. Детальные исследования иммуномодулирующих свойств c-di-GMP и его аналогов оказались возможными в связи с разработкой в лаборатории молекулярной биотехнологии Института микробиологии НАН Беларуси эффективного метода биотехнологического получения данного циклического дигуанилата [24] и его 2'-деоху- и 2'-ага-производных в препаративных количествах [25]. В результате чего представляется важным изучение иммуномодулирующей активности данных циклических нуклеотидов, в том числе определение способности инициировать продукцию фактора некроза опухоли альфа, интерферона I и II типов и модулировать неспецифический и специфический Т-клеточный иммунный ответ. В свою очередь, понимание молекулярных основ регуляции иммуногенеза может являться основой поиска более эффективных терапевтических средств направленного действия на нейрехимические структуры иммунокомпетентных клеток и отдельные ключевые звенья сигнальных каскадов, в том числе опосредованных аденилат- и гуанилат-циклазами.

Материалы и методы исследований

Материал исследования: моноклеары периферической крови (МПК) здоровых доноров ($n = 10$).

Объект исследования: образцы циклического димерного гуанозинмонофосфата (c-di-GMP) и его структурных аналогов – циклического димерного 2'-арагуанозинмонофосфата (c-di-araGMP) и циклического димерного 2'-дезоксигуанозинмонофосфата (c-di-deoxyGMP), полученные в Институте микробиологии НАН Беларуси и предоставленные А. И. Зинченко, заведующим лабораторией молекулярной биотехнологии, доктором биологических наук, профессором, член-корреспондентом НАН Беларуси.

Выделение моноклеаров периферической крови. Моноклеары (МПК) выделяли из периферической крови центрифугированием на градиенте плотности (гистопак, $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$, «Sigma», Германия) при 1500 об/мин, 6°C в течение 30 мин. Образовавшееся интерфазное кольцо дважды промывали центрифугированием (10 мин, 1500 об/мин) в фосфатно-буферном растворе с добавлением 5 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС).

Культуральный метод. Выделенные МПК в концентрации 2×10^6 клеток/мл культивировали в полной культуральной среде RPMI-1640 в присутствии/отсутствии c-di-GMP или его аналогов. Полная культуральная среда включала питательную среду RPMI-1640 («Lonza», Бельгия), 10 % ЭТС («HyClone», Великобритания), 2 мМ глутамина («Lonza», Бельгия) и комплекс антибиотиков (100 Ед/мл

бензилпеницилин натрия, 100 Ед/мл стрептомицин сульфата и 100 Ед/мл неомицин сульфата, «Gibco», США). Для неспецифической стимуляции МПК использовали поликлональные миготены фитогемагглютинин (ФГА/РНА, «Sigma», Германия) в концентрации 2,5 мкг/мл, Pookweed mitogen (PWM, «Sigma», Германия) в концентрации 5 мкг/мл и липополисахарид (LPS, «Sigma», Германия) в концентрации 5 мкг/мл. Для специфической стимуляции использовали рекомбинантный миелин-олигодендроцитарный гликопротеин с аминокислотной последовательностью 1–125 (рМОГ, РНПЦ ТиМБ, Беларусь) в конечной концентрации 10 мкг/мл. Культивирование осуществляли при 37 °С в атмосфере с 5 % содержанием CO₂.

Для оценки иммуномодулирующего действия *c-di-GMP* и его структурных аналогов в пробы с нестимулированными или митоген/антиген-активированными МПК добавляли исследуемые вещества в концентрациях 10⁻⁴М, 10⁻⁵М, 10⁻⁶М.

Метод проточной цитометрии. Для количественного определения уровня внутриклеточной продукции цитокинов ИНФ-γ или ФНО-α за 12 ч до окончания культивирования к МПК добавляли форбол 12-миристат 13-ацетата (10 нг/мл) («Sigma», Германия), иономицин кальциевую соль (1 мкг/мл) («Invitrogen», Великобритания) и блокатор внутриклеточного транспорта белков – брэфелдин А (10 мкг/мл) («Invitrogen», Великобритания) с последующим окрашиванием клеток моноклональными антителами к CD3-PC7 («Beckman Coulter», США). Далее клетки фиксировали 4 % раствором параформальдегида («Carl Roth», Германия) в течение 10 мин при комнатной температуре. Пермеабиллизация МПК проводилась с использованием 2 % раствора Тритон X-100 («Sigma», Германия, 30 мин), после чего клетки инкубировали с мечеными фикоэритрином (РЕ) моноклональными антителами к ИНФ-γ или ФНО-α. После каждого из этапов окрашивания осуществляли отмывание клеточных культур путем их двукратного центрифугирования в фосфатно-буферном растворе с 0,05 % Твин-20 в течение 5 мин при 1500 об/мин. Учет результатов проводили на проточном цитометре FC500 («Beckman Coulter», США) на 50 тыс. клеточных событий.

Иммуноферментный анализ. Концентрации ИНФ-γ и ИНФ-α определяли в супернатантах от нестимулированных и митоген/антиген-активированных МПК, культивируемых в присутствии/отсутствии *c-di-GMP* или его аналогов. Для этого клетки осаждали центрифугированием, супернатант переносили в полипропиленовые пробирки и замораживали при –70 °С для дальнейшего определения концентрации цитокинов с использованием коммерческих тест-систем производства Вектор-Бест (РФ). Результаты регистрировали на спектрофотометре «ThermoScientific» (Германия) при длинах волн (λ) 450–620 нм.

Статистическая обработка результатов. Статистический анализ данных проводили с использованием стандартного пакета прикладной программы Statistica 8.0 непараметрическим критерием Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы (25 %–75 % процентиля).

Результаты исследований и их обсуждения

Влияние *c-di-GMP* на спонтанную и митоген/антиген-стимулированную внеклеточную продукцию интерферона-α и интерферона-γ мононуклеарами периферической крови. Спонтанная нестимулированная продукция интерферона-альфа (ИНФ-α) в культурах МПК составила 18,2(5,9–24,5) нг/л. Добавление различных концентраций *c-di-GMP* к нестимулированным клеточным культурам не оказывало статистически значимого влияния на продукцию ИНФ-α. В условиях митогенной/неспецифической стимуляции МПК наблюдалось повышение продукции ИНФ-α до 26,0(22,2–33,9) нг/л, $p = 0,02$. При этом добавление к митоген-стимулированным культурам МПК *c-di-GMP* в различных концентрациях приводило к статистически значимому дозозависимому повышению продукции ИНФ-α, $p = 0,03$ (рис. 2а).

В присутствии специфического миелинового аутоантигена рМОГ не наблюдалось статистически значимого изменения продукции ИНФ-α. Добавление *c-di-GMP* к рМОГ-активированным МПК приводило к повышению продукции ИНФ-α только в случае использования в конечной концентрации 10⁻⁶М, $p = 0,03$ (рис. 2б).

Индукция экспрессии генов ИНФ I типа является ключевым событием в иницировании противоинфекционного иммунного ответа. Передача сигнала от ИНФ I типа с участием активатора транскрипции STAT1 параллельно стимулирует экспрессию генов ИНФ II типа (ИНФ-γ), который участвует в регуляции механизмов врожденного и приобретенного иммунитета, клеточного цикла, процессов апоптоза и воспалительной реакции посредством контроля транскрипции широкого спектра генов [26].

Результаты определения концентраций интерферона-гамма (ИНФ-γ) в супернатантах нестимулированных и митоген/антиген-активированных МПК, культивируемых в присутствии/отсутствии *c-di-GMP*, представлены в табл. 1 и на рис. 3. Концентрация ИНФ-γ в нестимулированных МПК составила 14,3(13,0–15,6) нг/л и статистически значимо повышалась в условиях митогенной стимуляции ФГА (994(368–1621) нг/л. Добавление различных концентраций *c-di-GMP* к нестимулированным приводило к дозозависимому повышению продукции ИНФ-γ.

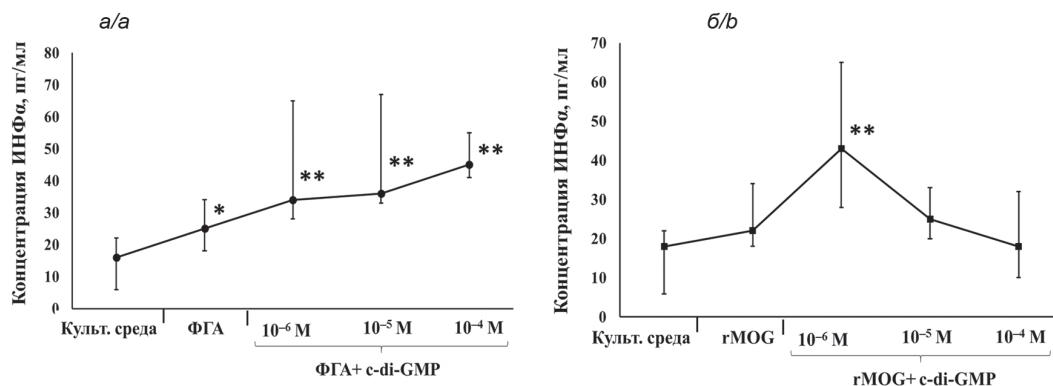


Рис. 2. Концентрация ИНФ-α в супернатантах митоген- (а) и антиген- (б) стимулированных культур МПК, пг/мл

Fig. 2. Concentration of IFN-α in supernatants of mitogen- (a) and antigen- (b) stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMKs), pg/ml

Таблица 1

Концентрация ИНФ-γ в супернатантах от нестимулированных /митоген-стимулированных МПК, культивируемых в присутствии/отсутствии c-di-GMP, пг/мл

Table 1

IFN-γ concentration in supernatants of non-stimulated/mitogen-stimulated PBMKs cultivated in presence/absence with c-di-GMP, pg/ml

	Концентрация c-di-GMP			
	—	10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M
Нестимулированные МПК	14,3 (13,0÷15,6)	22,6 * (17,4÷27,8)	79,1 * (76,0÷82,1)	175,6 * (140,0÷211,0)

* – $p < 0,05$ по сравнению с МПК, культивируемыми при отсутствии c-di-GMP.

Добавление c-di-GMP в митоген-активированных культурах МНК в низких концентрациях (10^{-6} M и 10^{-5} M) не оказывало влияние на синтез ИНФ-γ, тогда как при концентрации 10^{-4} M наблюдалось статистически значимое повышение продукции цитокина, $p = 0,03$ (рис. 3а).

Культивирование МПК в условиях миелиновой стимуляции сопровождалось статистически значимым увеличением антиген-специфической продукции ИНФ-γ (66,4(40,0÷92,9) пг/мл) по сравнению со спонтанным синтезом (28,3(20,0÷36,5) пг/мл).

При добавлении c-di-GMP в культуру миелин-стимулированных МПК отмечалось статистически значимое снижение внеклеточной секреции цитокина, независимо от концентрации c-di-GMP (рис. 3б).

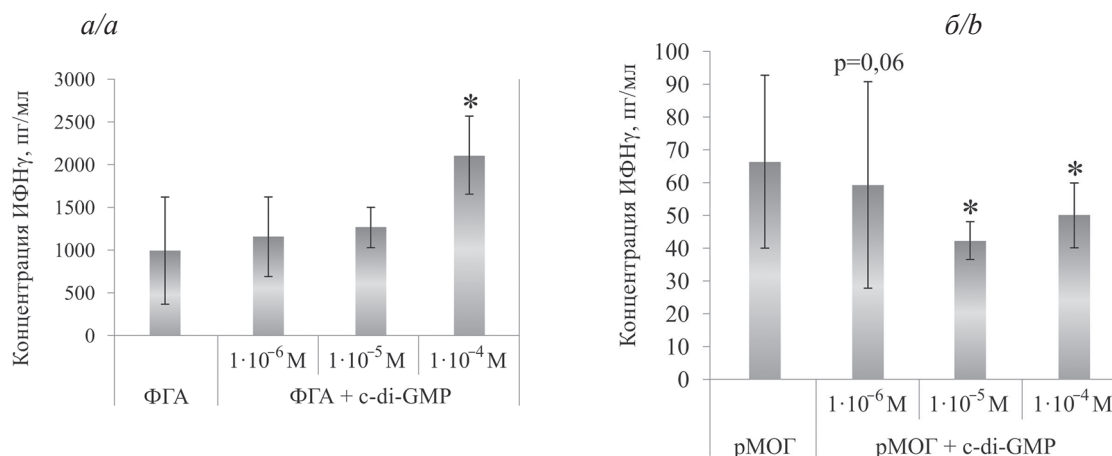


Рис. 3. Внеклеточная продукция ИНФ-γ (пг/мл) в митоген-стимулированных (а) и миелин-стимулированных (б) культурах МНК в присутствии различных концентраций c-di-GMP

Fig. 3. IFN-γ extracellular production (pg/ml) in mitogen-stimulated (a) and myelin-stimulated (b) PBMK cultures in the presence of c-di-GMP various concentrations

Согласно литературным источникам, в культуре клеток в ответ на стимуляцию аутоантигеном пролиферируют лишь потенциально аутореактивные Т-лимфоциты, Т-клеточный рецептор которых способен распознавать антигенную детерминанту рМОГ. К таким лимфоцитам относятся как $CD3^+CD4^+$ Т-хелперы, так и цитотоксические $CD3^+CD8^+$ Т-клетки. При этом и те, и другие обладают способностью к секреции ИФН- γ , который, в свою очередь, склонен проявлять не только иммуномодулирующее действие, но и инициировать иммунопатологические реакции аутоиммунного характера.

Внутриклеточная продукция интерферона- γ в мононуклеарах периферической крови, культивируемых в присутствии/отсутствии c-di-GMP и его аналогов. Следует отметить, что в нестимулированных культурах МПК основными клетками-продуцентами ИФН- γ являлись не экспрессирующие Т-клеточный маркер CD3 популяции, к которым относят натуральные киллеры (НК-клетки), НКТ-клетки, В-лимфоциты и специализированные антиген-презентирующие клетки. Так, в отсутствие c-di-GMP количество CD3-негативных клеток, синтезирующих внутриклеточный ИФН γ , в 21,4 раза превышало аналогичный показатель в субпопуляции $CD3^+$ Т-лимфоцитов (табл. 2).

При добавлении c-di-GMP к культурам МПК в концентрациях 10^{-6} – 10^{-4} М обнаружена тенденция к увеличению внутриклеточной продукции ИФН- γ CD3-негативными клетками в 1,29 (1,25÷1,3) раза (по медиане), в то время как удельное содержание $CD3^+$ ИФН γ^+ Т-лимфоцитов повышалось в 2,9 (2,5÷3,3) раза (по медиане).

Таблица 2

Уровень внутриклеточной продукции ИФН- γ нестимулированными $CD3^+$ и $CD3^-$ популяциями лимфоцитов, культивируемых в отсутствии/присутствии c-di-GMP, %

Table 2

Intracellular IFN- γ production by non-stimulated $CD3^+$ and $CD3^-$ lymphocyte populations cultivated in absence/presence of c-di-GMP, %

Фенотип клеток	Культуральная среда	c-di-GMP		
		10^{-6} М	10^{-5} М	10^{-4} М
$CD3^+$ ИФН γ^+	1,14 (0,9÷1,3)	3,78 (2,9÷4,2)	2,84 (2,6÷4,5)	3,36 (3,1÷4,9)
$CD3^-$ ИФН γ^+	24,4 (18,9÷26,2)	31,7 (28,7÷35,4)	30,5 (29,2÷36,1)	31,5 (28,3÷35,9)

К Т-лимфоцитам, активно синтезирующим ИФН- γ , относят цитотоксические $CD3^+CD8^+$ Т-клетки, $\gamma\delta$ Т-лимфоциты с фенотипом $CD3^+CD4^-CD8^-$ и некоторые популяции $CD3^+CD4^+$ Т-клеток. Полученные данные соответствуют результатам, полученным при определении концентрации ИФН- γ в супернатантах от МНК, культивируемых в присутствии/отсутствии c-di-GMP. Однако дозозависимого влияния исследуемого циклического нуклеотида на уровень внутриклеточной продукции ИФН- γ не выявлено (табл. 2).

Для определения внутриклеточной продукции ИФН- γ популяциями Т-лимфоцитов проведено культивирование МПК с циклическим нуклеотидом c-di-GMP и его аналогами c-di-araGMP и c-di-deoxyGMP (в конечных концентрациях 10^{-6} М, 10^{-5} М, 10^{-4} М) в условиях стимуляции поликлональным Т-клеточным (РНА) и В-клеточным (LPS) митогенами.

Установлено, что внутриклеточная продукция ИФН- γ $CD3^+$ Т-лимфоцитами повышалась в 5,3 и 6,4 раза, соответственно, в условиях РНА- и LPS-индуцированной стимуляции ($p < 0,01$). Добавление c-di-GMP в концентрациях 10^{-5} – 10^{-4} М, а также c-di-araGMP и c-di-deoxyGMP в концентрациях 10^{-6} – 10^{-4} М в культуру мононуклеаров периферической крови приводило к статистически значимому повышению митоген-индуцированного синтеза ИФН- γ $CD3^+$ Т-лимфоцитами и их основными субпопуляциями (рис. 4). При этом преимущественная продукция ИФН- γ отмечалась в субпопуляции цитотоксических $CD3^+CD8^+$ Т-лимфоцитов и варьировала от 11,7 до 27,7 %. В РНА- и LPS-стимулированных культурах при добавлении c-di-GMP регистрировался дозозависимый цитокин-стимулирующий эффект циклического нуклеотида по отношению ко всем исследуемым субпопуляциям Т-лимфоцитов.

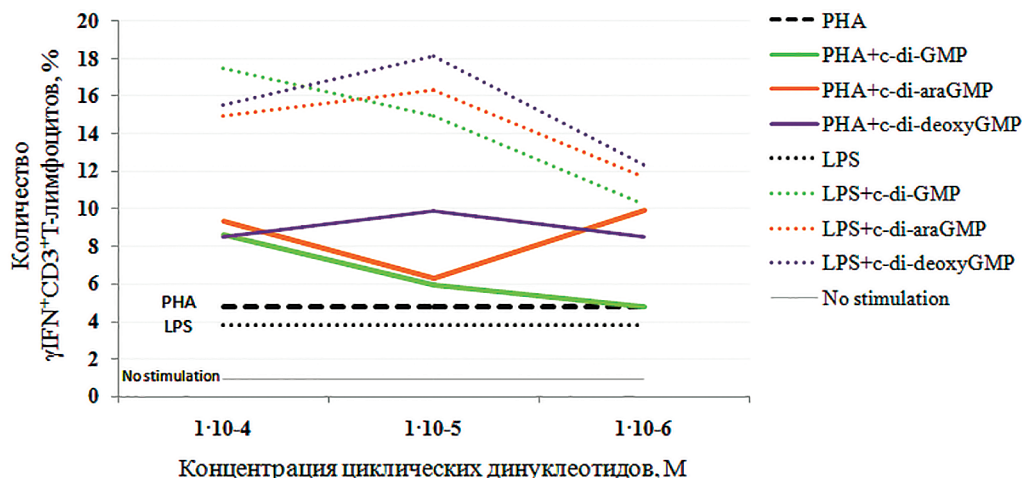


Рис. 4. Количество ИФН-γ-позитивных CD3⁺Т-лимфоцитов при стимуляции поликлональными митогенами при культивировании с c-di-GMP и его структурными аналогами c-di-araGMP и c-di-deoxyGMP, %

Fig. 4. Number of IFN-γ-positive CD3⁺T-lymphocytes cultivated with c-di-GMP and its structural analogues c-di-araGMP and c-di-deoxyGMP during polyclonal mitogens stimulation, %

Выявлено, что c-di-deoxyGMP в наибольшей степени стимулировал митоген-индуцированную внутриклеточную продукцию ИФН-γ по сравнению с другими циклическими нуклеотидами: максимальный РНА- и LPS-стимулированный синтез цитокина регистрировались при культивировании с c-di-deoxyGMP в концентрациях 10⁻⁴ М и 10⁻⁵ М соответственно.

Таким образом, циклический нуклеотид c-di-GMP и его аналоги c-di-araGMP и c-di-deoxyGMP могут быть использованы для стимуляции эффекторных механизмов Т-клеточной цитотоксичности посредством стимуляции синтеза ИФН-γ.

Внутриклеточная продукция фактора некроза опухоли альфа мононуклеарами периферической крови, культивируемыми в присутствии/отсутствии c-di-GMP и его аналогов. Фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α) – многофункциональный провоспалительный цитокин, оказывающий регулирующее влияние и на многие процессы в организме, тесно связанные с воспалительной реакцией и иммунным ответом. Системные проявления ответной реакции организма обусловлены кооперативным взаимодействием ФНО и других биологически активных веществ, которые могут выступать как синергисты или модуляторы его эффектов.

При оценке влияния c-di-GMP и его аналогов на внутриклеточный синтез ФНО-α Т-лимфоцитами в условиях *in vitro* поликлональной стимуляции установлено, что при неспецифической стимуляции РНА и LPS наблюдалась тенденция к увеличению продукции ФНО-α в Т-лимфоцитах при культивировании с c-di-GMP и его аналогами в концентрациях 10⁻⁵ М. Наиболее выраженный стимулирующий эффект на продукцию ФНО-α CD3⁺Т-лимфоцитами проявлялся при культивировании клеточных культур в присутствии LPS (рис. 5).

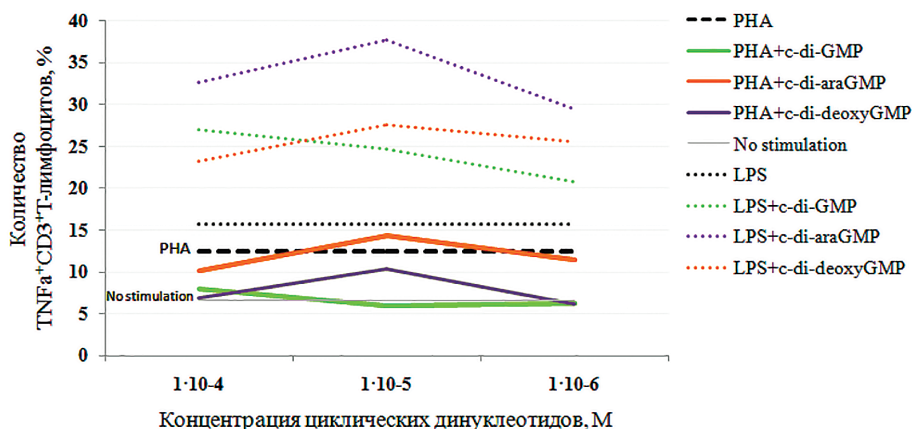


Рис. 5. Количество ФНО-α-позитивных CD3⁺Т-лимфоцитов при стимуляции поликлональными митогенами при культивировании с c-di-GMP и его структурными аналогами c-di-araGMP и c-di-deoxyGMP, %

Fig. 5. Number of TNF-α-positive CD3⁺T-lymphocytes cultivated with c-di-GMP and its structural analogues c-di-araGMP and c-di-deoxyGMP during polyclonal mitogens stimulation, %

При этом статистически значимые различия в количестве $CD3^+ \text{ФНО-}\alpha^+$ LPS-стимулированных Т-клеток, по сравнению с РНА-стимулированными культурами, наблюдались при использовании всех изучаемых концентраций динуклеотидов. Так, при 10^{-5} М, количество ФНО- α -позитивных Т-лимфоцитов составило: РНА+c-di-GMP – 6,0(4,5÷7,2) % и LPS+c-di-GMP – 24,6(19,8÷29,3) %, $p < 0,05$ соответственно; РНА+c-di-araGMP – 14,3(11,6÷17,5) % и LPS+c-di-araGMP – 37,7(31,8÷42,4) %, $p < 0,05$ соответственно; РНА+c-di-deoxyGMP – 10,3(8,7÷12,6) % и LPS+c-di-deoxyGMP – 27,5(24,8÷29,2) %, $p < 0,05$ соответственно.

Известно, что LPS является основным компонентом наружной мембраны грамотрицательных бактерий. В ответ на LPS в организме хозяина происходит экспрессия провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-12, ИФН- β) и белков (индуцибельная NO-синтаза) [27]. Распознавание LPS опосредовано тремя продуктами различных генов CD14, TLR4 и MD2. Однако первым белком, участвующим в распознавании LPS, является LPS, связывающий белок (LBP), вырабатываемый в печени как белок острой фазы. При помощи LBP облегчается взаимодействие тройного комплекса с CD14, что дает возможность перенести LPS на LPS-рецепторный комплекс (CD14-TLR4-MD2) и индуцировать димеризацию TLR4. Активированный TLR4 привлекает адапторный белок MyD88, ассоциированный с IRAK (серинтреониновая протеинкиназа, к IL-1 рецептор-ассоциированной киназе). IRAK в дальнейшем аутофосфорилируется и взаимодействует с TRAF6 адапторным белком (TNF-рецептор-ассоциированный фактор 6). Данные киназы фосфорилируют 1-kB по остаткам серина с последующей деградацией и высвобождением AP-1 и NF- κ B, которые перемещаются в ядро и стимулируют транскрипцию различных генов воспалительного иммунного ответа (рис. 6).

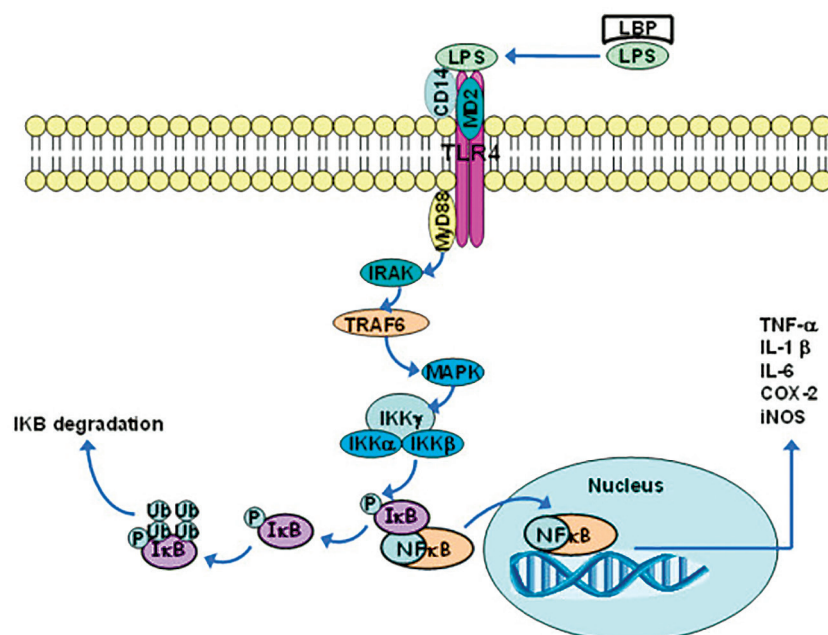


Рис. 6. Сигнальный путь, реализуемый с участием LPS и TLR4 [27]

Fig. 6. Overview of LPS and TLR4 signaling pathway [27]

Таким образом, предварительные результаты по изучению эффектов c-di-GMP и его аналогов на внутриклеточный синтез ФНО- α Т-лимфоцитами в условиях *in vitro* поликлональной неспецифической стимуляции свидетельствуют о влиянии циклических динуклеотидов (преимущественно) на клетки врожденного иммунитета, стимулируя продукцию провоспалительных цитокинов, возможно, через механизмы внутриклеточного сигналинга от PRRs, к которым относятся TLRs.

Заключение

Таким образом, бис-(3',5')-циклический димерный гуанозинмонофосфат (c-di-GMP) и его структурные аналоги оказывают стимулирующее влияние на продукцию ФНО- α , ИФН- α и ИФН- γ митоген-активированными мононуклеарами периферической крови человека, при одновременном ингибировании c-di-GMP в концентрации 10^{-4} М и 10^{-5} М секреции *in vitro* внеклеточных интерферонов 1-го и 2-го типов клетками при миелин-специфической стимуляции.

Полученные результаты характеризуют, с одной стороны, физиологические регуляторные механизмы иммунной системы при воспалительных реакциях и, с другой стороны, открывают перспективу разработки новых препаратов для поддержания периферической толерантности иммунной системы по отношению к собственным антигенам организма человека.

Библиографические ссылки

1. Shaw N., Ouyang S., Liu Z. J. Binding of bacterial secondary messenger molecule c di-GMP is a STING operation // *Protein Cell*. 2013. Vol. 4, issue 2. P. 117–129. DOI 10.1007/s13238-012-2071-0.
2. Pandey S., Kawai T., Akira S. Microbial sensing by Toll-like receptors and intracellular nucleic acid sensors // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014. Vol. 7, No 1. DOI: 10.1101/cshperspect.a016246.
3. Wu J., Chen Z. J. Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids // *Annu. Rev. Immunol.* 2014. Vol. 32. P. 461–488. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120156.
4. Goubau D., Deddouch S., Reis e Sousa C. Cytosolic sensing of viruses // *Immunity*. 2013. Vol. 38, No 5. P. 855–869. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.05.007.
5. Yin Q., Fu T. M., Li J., et al. Structural biology of innate immunity // *Annu. Rev. Immunol.* 2015. Vol. 33. P. 393–416. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032414-112258.
6. Vajjhala P. R., Ve T., Bentham A., et al. The molecular mechanisms of signaling by cooperative assembly formation in innate immunity pathways // *Mol. Immunol.* 2017. Vol. 86. P. 23–37. DOI: 10.1016/j.molimm.2017.02.012.
7. Li X. D., Wu J., Gao D., et al. Pivotal roles of cGAS–cGAMP signaling in antiviral defense and immune adjuvant effects // *Science*. 2013. Vol. 341, No 6152. P. 1390–1394. DOI: 10.1126/science.1244040.
8. Ablasser A., Goldeck M., Cavlar T., et al. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING // *Nature*. 2013. Vol. 498, No 7454. P. 380–384. DOI: 10.1038/nature12306.
9. Gray E. E., Treuting P. M., Woodward J. J., et al. Cutting edge: cGAS is required for lethal autoimmune disease in the Trex1-deficient mouse model of Aicardi-Goutières syndrome // *J. Immunol.* 2015. Vol. 195, No 5. P. 1939–1043. DOI: 10.4049/jimmunol.1500969.
10. O'Neill L. A. Sensing the dark side of DNA // *Science*. 2013. Vol. 339, No 6121. P. 763–764. DOI: 10.1126/science.1234724.
11. Barbalat R., Ewald S. E., Mouchess M. L., et al. Nucleic acid recognition by the innate immune system // *Annu. Rev. Immunol.* 2011. Vol. 29. P. 185–214. DOI: 10.1146/annurev-immunol-031210-101340.
12. West A. P., Khoury-Hanold W., Staron M., et al. Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response // *Nature*. 2015. Vol. 520, No 7548. P. 553–557. DOI: 10.1038/nature14156.
13. Gao D., Li T., Li X. D., et al. Activation of cyclic GMP–AMP synthase by self-DNA causes autoimmune diseases // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. Vol. 112, No 42. E5699–5705. DOI: 10.1073/pnas.1516465112.
14. Barber G. N. STING: infection, inflammation and cancer // *Nat. Rev. Immunol.* 2015. Vol. 15, No 12. P. 760–770. DOI: 10.1038/nri3921.
15. Römling U., Galperin M. Y., Gomelsky M. Cyclic di-GMP: the First 25 years of a universal bacterial second messenger // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2013. Vol. 77, No 1. P. 1–52. DOI: 10.1128/MMBR.00043-12.
16. Kalia D., Mery G., Nakayama S., et al. Nucleotide, c-di-GMP, c-di-AMP, cGMP, cAMP, (p)ppGpp signaling in bacteria and implications in pathogenesis // *Chem. Soc. Rev.* 2013. Vol. 42. P. 305–341. DOI: 10.1039/c2cs35206k.
17. Gray P. M., Forrest G., Wisniewski T., et al. Evidence for cyclic diguanylate as a vaccine adjuvant with novel immunostimulatory activities // *Cell Immunol.* 2012. Vol. 278. P. 113–119. DOI: 10.1016/j.cellimm.2012.07.006.
18. Burdette D. L., Monroe K. M., Sotelo-Troha K., et al. STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP // *Nature*. 2011. Vol. 478, No 7370. P. 515–518. DOI: 10.1038/nature10429.
19. Karaolis D. K., Newstead M. W., Zeng X., et al. Cyclic di-GMP stimulates protective innate immunity in bacterial pneumonia // *Infect. Immun.* 2007. Vol. 75, issue 10. P. 4942–4950.
20. Karaolis D. K., Means T. K., Yang D., et al. Bacterial c-di-GMP is an immunostimulatory molecule // *J. Immunol.* 2007. Vol. 178, No 4. P. 2171–2181.
21. Ebensen T., Schulze K., Riese P., et al. The bacterial second messenger cdiGMP exhibits promising activity as a mucosal adjuvant // *Clin. Vaccine Immunol.* 2007. Vol. 14, issue 8. P. 952–958.
22. Ebensen T., Schulze K., Riese P., et al. The bacterial second messenger cyclic diGMP exhibits potent adjuvant properties // *Vaccine*. 2007. Vol. 25, issue 8. P. 1464–1469.
23. Hyodo M., Hayakawa Y. Synthesis, chemical properties and biological activities of cyclic bis (3'-5') diguanylic acid (c-di-GMP) and its analogues // Herdewijn P. (ed.), *Modified Nucleosides: In Biochemistry, Biotechnology and Medicine*. Weinheim. 2008. P. 343–363.
24. Korovashkina A. S., Rymko A. N., Kvach S. V., et al. Enzymatic synthesis of c-di-GMP using inclusion bodies of *Thermotoga maritima* full-length diguanylate cyclase // *J. Biotechnol.* 2012. Vol. 164, No 2. P. 276–280. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2012.12.006.
25. Shchokolova A. S., Rymko A. N., Kvach S. V., et al. Enzymatic synthesis of 2'-ara and 2'-deoxy analogues of c-di-GMP // *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2015. Vol. 34. P. 416–423. DOI: 10.1080/15257770.2015.1006775.
26. Schroder K., Hertzog P. J., Ravasi T., et al. Interferon-γ: an overview of signals, mechanisms and functions // *J. Leukoc. Biol.* 2004. Vol. 75. P. 163–189.
27. Rogero M. M., Calder P. C. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids // *Nutrients*. 2018. Vol. 10 (4). DOI: 10.3390/nu10040432.

References

1. Shaw N., Ouyang S., Liu Z. J. Binding of bacterial secondary messenger molecule c di-GMP is a STING operation. *Protein Cell*. 2013. Vol. 4, issue 2. P. 117–129. DOI 10.1007/s13238-012-2071-0.

2. Pandey S., Kawai T., Akira S. Microbial sensing by Toll-like receptors and intracellular nucleic acid sensors. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014. Vol. 7, No. 1. DOI: 10.1101/cshperspect.a016246.
3. Wu J., Chen Z. J. Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids. *Annu. Rev. Immunol.* 2014. Vol. 32. P. 461–488. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120156.
4. Goubau D., Deddouche S., Reis e Sousa C. Cytosolic sensing of viruses. *Immunity.* 2013. Vol. 38, No. 5. P. 855–869. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.05.007.
5. Yin Q., Fu T. M., Li J., et. al. Structural biology of innate immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 2015. Vol. 33. P. 393–416. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032414-112258.
6. Vajjhala P. R., Ve T., Bentham A., et. al. The molecular mechanisms of signaling by cooperative assembly formation in innate immunity pathways/ *Mol. Immunol.* 2017. Vol. 86. P. 23–37. DOI: 10.1016/j.molimm.2017.02.012.
7. Li X. D., Wu J., Gao D., et. al. Pivotal roles of cGAS–cGAMP signaling in antiviral defense and immune adjuvant effects. *Science.* 2013. Vol. 341, No. 6152. – P. 1390–1394. DOI: 10.1126/science.1244040.
8. Ablasser A., Goldeck M., Cavlar T., et. al. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING // *Nature.* 2013. Vol. 498, No. 7454. P. 380–384. DOI: 10.1038/nature12306.
9. Gray E. E., Treuting P. M., Woodward J. J., et. al. Cutting edge: cGAS is required for lethal autoimmune disease in the Trex1-deficient mouse model of Aicardi-Gouti'eres syndrome. *J. Immunol.* 2015. Vol. 195, No. 5. P. 1939–1043. DOI: 10.4049/jimmunol.1500969.
10. O'Neill L. A. Sensing the dark side of DNA. *Science.* 2013. Vol. 339, No. 6121. P. 763–764. DOI: 10.1126/science.1234724.
11. Barbalat R., Ewald S. E., Mouchess M. L., et. al. Nucleic acid recognition by the innate immune system. *Annu. Rev. Immunol.* 2011. Vol. 29. P. 185–214. DOI: 10.1146/annurev-immunol-031210-101340.
12. West A. P., Khoury-Hanold W., Staron M., et. al. Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response. *Nature.* 2015. Vol. 520, No. 7548. P. 553–557. DOI: 10.1038/nature14156.
13. Gao D., Li T., Li X. D., et. al. Activation of cyclic GMP–AMP synthase by self-DNA causes autoimmune diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015. Vol. 112, No. 42. – E5699–5705. DOI: 10.1073/pnas.1516465112.
14. Barber G. N. STING: infection, inflammation and cancer. *Nat. Rev. Immunol.* 2015. Vol. 15, No. 12. P. 760–770. DOI: 10.1038/nri3921.
15. Römling U., Galperin M. Y., Gomelsky M. Cyclic di-GMP: the First 25 years of a universal bacterial second messenger. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2013. Vol. 77, No. 1. P. 1–52. DOI: 10.1128/MMBR.00043-12.
16. Kalia D., Merey G., Nakayama S., et. al. Nucleotide, c-di-GMP, c-di-AMP, cGMP, cAMP, (p)ppGpp signaling in bacteria and implications in pathogenesis. *Chem. Soc. Rev.* 2013. Vol. 42. P. 305–341. DOI: 10.1039/c2cs35206k.
17. Gray P. M., Forrest G., Wisniewski T., et. al. Evidence for cyclic diguanylate as a vaccine adjuvant with novel immunostimulatory activities. *Cell Immunol.* 2012. Vol. 278. P. 113–119. DOI: 10.1016/j.cellimm.2012.07.006.
18. Burdette D. L., Monroe K. M., Sotelo-Troha K., et. al. STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP. *Nature.* 2011. Vol. 478, No. 7370. P. 515–518. DOI: 10.1038/nature10429.
19. Karaolis D. K., Newstead M. W., Zeng X., et. al. Cyclic di-GMP stimulates protective innate immunity in bacterial pneumonia. *Infect. Immun.* 2007. Vol. 75, issue 10. P. 4942–4950.
20. Karaolis D. K., Means T. K., Yang D., et. al. Bacterial c-di-GMP is an immunostimulatory molecule. *J. Immunol.* 2007. Vol. 178, No. 4. P. 2171–2181.
21. Ebensen T., Schulze K., Riese P., et. al. The bacterial second messenger cdiGMP exhibits promising activity as a mucosal adjuvant. *Clin. Vaccine Immunol.* 2007. Vol. 14, issue 8. P. 952–958.
22. Ebensen T., Schulze K., Riese P., et. al. The bacterial second messenger cyclic diGMP exhibits potent adjuvant properties. *Vaccine.* 2007. Vol. 25, issue 8. P. 1464–1469.
23. Hyodo M., Hayakawa Y. Synthesis, chemical properties and biological activities of cyclic bis (3'-5') diguanylic acid (c-di-GMP) and its analogues. Herdewijn P. (ed.) in *Modified Nucleosides: In Biochemistry, Biotechnology and Medicine.* Weinheim. 2008. P. 343–363.
24. Korovashkina A. S., Rymko A. N., Kvach S. V., et. al. Enzymatic synthesis of c-di-GMP using inclusion bodies of *Thermotoga maritima* full-length diguanylate cyclase. *J. Biotechnol.* 2012. Vol. 164, No. 2. P. 276–280. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2012.12.006.
25. Shchokolova A. S., Rymko A. N., Kvach S. V., et. al. Enzymatic synthesis of 2'-ara and 2'-deoxy analogues of c-di-GMP. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2015. Vol. 34. P. 416–423. DOI: 10.1080/15257770.2015.1006775.
26. Schroder K., Hertzog P. J., Ravasi T., Hume DA. Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.* 2004. Vol. 75. P. 163–189.
27. Rogero M. M., Calder P. C. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. *Nutrients.* 2018. Vol. 10 (4). DOI: 10.3390/nu10040432.

Статья поступила в редколлегию 28.10.2018
Received by editorial board 28.10.2018

УДК 616.33-006.6-089.87]:575.191(476)

МОЛЕКУЛЯРНО–БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА АДЕНОКАРЦИНОМ ИЗ НЕВЫЯВЛЕННОГО ПЕРВИЧНОГО ОЧАГА

Р. М. СМОЛЯКОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

Представлена иммуногистохимическая характеристика 160 аденокарцином известной локализации (рак молочной железы, предстательной железы, яичников, легкого, поджелудочной железы, толстой кишки) и 50 метастазов аденокарцином из невыявленного первичного очага. На основе морфологической оценки микропрепаратов и определения экспрессии тканевых антигенов GCDFP15, ER, TTF1, WT1, CA-125 и CDX2 установлены нозологические формы метастатических опухолей. У 23 пациентов с метастатическим поражением лимфатических узлов из невыявленного первичного источника диагностированы: метастаз аденокарциномы легкого у 18 пациентов, метастаз рака молочной железы – у 3, метастаз серозного рака яичников – у 2. При метастатическом поражении надключичных лимфатических узлов у 18 пациентов установлено: метастаз аденокарциномы легкого у 16 пациентов, метастаз рака молочной железы – у 2. У 9 пациентов с метастазами в подмышечных лимфатических узлах из неустановленного первичного очага выявлено: метастаз рака молочной железы у 7 пациенток, метастаз аденокарциномы легкого – у 2.

Ключевые слова: аденокарцинома из невыявленного первичного очага; метастазы; иммуногистохимия; экспрессия; тканевые антигены; иммунофенотип.

MOLECULAR BIOLOGICAL DIAGNOSTICS OF ADENOCARCINOMAS FROM AN UNDETECTED PRIMARY FOCUS

R. M. SMALYAKOVA^A

^ABelarusian State University,
International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus

The immunohistochemical characteristics of 160 adenocarcinomas of known localization (breast, prostate, ovarian, lung, pancreas, colon cancer) and 50 adenocarcinoma metastases from an undetected primary focus were analyzed. Nosological forms of metastatic tumors were established on the basis of the morphological assessment of microscopic preparations and the determination of the expression of tissue antigens GCDFP15, ER, TTF1, WT1, CA-125 and CDX2. In 23 patients with metastatic lymphatic lesions from an unexplained primary source, the following metastases were diagnosed: metastasis of lung adenocarcinoma in 18 patients, metastasis of breast cancer – in 3 patients, metastasis of serous ovarian cancer – in 2 patients. In metastatic lesions of supraclavicular lymph nodes in 18 patients the following metastases were diagnosed: metastasis of lung adenocarcinoma in 16 patients, metastasis of breast cancer – in 2 patients. In 9 patients with metastases in axillary lymph nodes from an unknown primary focus the following metastases were diagnosed: metastasis of breast cancer in 7 patients, metastasis lung adenocarcinoma in 2 patients.

Образец цитирования:

Смолякова Р. М. Молекулярно-биологическая диагностика аденокарцином из невыявленного первичного очага // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 94–100.

For citation:

Smalyakova R. M. Molecular biological diagnostics of adenocarcinomas from an undetected primary focus. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 94–100 (in Russ.).

Авторы:

Раиса Михайловна Смолякова – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой общей экологии, биологии и экологической генетики.

Authors:

Raisa M. Smalyakova, doctor of science (biology), associate professor, head of the department of general ecology, biology and ecological genetics.
smol60@mail.ru

Key words: adenocarcinoma from an undetected primary lesion; metastases; immunohistochemistry; expression; tissue antigens; immunophenotype.

Введение

Аденокарциномы являются самым частым злокачественным новообразованием, 2–5 % от их общего числа составляют аденокарциномы из невыявленного первичного очага [1].

Проблема лечения пациентов с аденокарциномами из невыявленного первичного очага является одной из самых актуальных и не решенных до настоящего времени [2].

Несмотря на значительные достижения в изучении процесса канцерогенеза на молекулярно-генетическом уровне и формирование различных гипотез процесса развития злокачественной опухоли остаются нерешенными фундаментальные аспекты моно- и поликлонального развития неоплазий; механизмы, приводящие к активации протоонкогенов и их переход в онкогены; подавление активности генов-супрессоров опухолевого роста; пусковые механизмы трансформации клеток и др.

Неясными остаются пусковые механизмы, приводящие к развитию эпителиальных опухолей в различных органах и спорными остаются вопросы относительно плюропотентности их развития исходя из гистогенетических характеристик [3].

Опухоли неизвестной первичной локализации (Cancer of unknown primary (CUP)) – заболевание, при котором опухолевые клетки обнаруживаются вдалеке от места их первоначального возникновения в организме, а изначальную локализацию процесса не удается установить. Эти опухоли представляют собой разнородную группу, объединяемую высоким метастатическим потенциалом и превалированием клинических проявлений метастазов над симптоматикой первичного очага. В структуре смертности от злокачественных новообразований они занимают 8-е место [4]. Аденокарциномы из невыявленного первичного очага можно охарактеризовать как группу различных видов злокачественных заболеваний, которые диагностируются в отдаленных от места своего возникновения органах и тканях организма.

Метастазы злокачественной опухоли из невыявленного первичного очага – понятие, включающее в себя случаи онкологического заболевания, проявляющегося метастатическими опухолями, в то время как первичный очаг невозможно установить ни на основании анамнеза, ни при обследовании. Правильное определение места локализации опухоли имеет прогностическое и терапевтическое значение.

Среди пациентов с данным заболеванием мужчины встречаются несколько чаще, чем женщины. Средний возраст пациентов составляет 51–52 года. Локализация поражений, распространенность опухолевого процесса, морфологическая структура метастатических опухолей чрезвычайно разнообразны. При метастазах без первичного очага не предложено классификаций, аналогичных общепризнанной системе TNM [5].

Морфологическому исследованию принадлежит основная роль в постановке диагноза. Проводится стандартное цито- и гистологическое исследование, иммуногистохимический анализ тканевых антигенов, при необходимости – электронная микроскопия, а также определяются гормональные рецепторы. Результат морфологического исследования позволяет диагностировать лимфопролиферативное заболевание, подтвердить метастаз эпителиальной опухоли, меланомы, злокачественного новообразования без уточнения гистогенеза. Установление морфологической структуры метастаза позволяет предположительно определить локализацию первичной опухоли, что значительно сужает поиск первичного очага [6].

Большое диагностическое значение имеет степень дифференцировки опухоли. Для высокодифференцированных опухолей важно установить ее эпителиальную или неэпителиальную природу. В ряде случаев морфологическое исследование дает возможность предположительно установить первичный очаг и определить направление дальнейшего клинического поиска.

Диагностика различных генетических нарушений в опухолевой ткани способна помочь в определении локализации первичной опухоли. К используемым генетическим нарушениям могут быть отнесены хромосомные аномалии и профили экспрессии отдельных генов. Весьма перспективным представляется использование молекулярных профилей экспрессии генов для определения происхождения первичной опухоли [7].

Прогноз у пациентов с метастазами злокачественной опухоли с невыявленным первичным очагом относительно неблагоприятный. Средняя выживаемость пациентов составляет приблизительно 3–4 мес., годовичная – 25 %, пятилетняя выживаемость – 10 %.

Аденокарциномы из невыявленного первичного очага представляются крайне гено- и фенотипически гетерогенной разновидностью опухолей. Морфологическое строение опухоли и характер

распространения злокачественного процесса не позволяют сделать вывод об органной принадлежности новообразования, с одной стороны, а высокий агрессивный потенциал и невозможность правильной постановки диагноза и выбора тактики лечения, с другой стороны, обуславливают актуальность изучения и решения данной проблемы.

Биология аденокарцином, развивающихся из невыявленного первичного очага, до настоящего времени является недостаточно изученной проблемой во всем мире. Данные новообразования, как правило, отличаются быстрым характером роста, агрессивным клиническим течением, крайне неблагоприятным прогнозом. В большинстве случаев (80 %) у данной категории пациентов не представляется возможным правильная постановка диагноза при жизни, а также при исследовании аутопсийного материала.

Поскольку наиболее частый первичный очаг недифференцированной аденокарциномы – рак молочной железы, поджелудочной железы, лёгкого и толстой кишки, то диагностику начинают с рентгенографии органов грудной клетки, УЗИ и КТ брюшной полости, колоноскопии [8].

У женщин проводимые исследования необходимо дополнить маммографией и исследованием органов малого таза, а также определением рецепторов гормонов.

У мужчин обязательным является определение сывороточной фосфатазы, простат-специфического антигена, хорионического гонадотропина, α -фетопротеина и лактатдегидрогеназы для исключения рака простаты и герминогенных опухолей.

В группе метастазов аденокарциномы без выявленного первичного очага целесообразно рассматривать только высоко- и умеренно дифференцированные аденокарциномы, поскольку за метастаз низкодифференцированной аденокарциномы солидного или скirroзного строения возможно ошибочно принять опухоль иного гистогенеза.

При выявлении метастазов аденокарциномы задача иммуногистохимического исследования состоит в определении вероятного источника метастазирования, и алгоритм исследования напрямую зависит от пола пациента и преобладающего типа строения опухоли.

Аденокарцинома железистого строения у мужчин – преимущественно первичный очаг при метастазах аденокарциномы железистого строения локализующийся в легком или органах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), на которые суммарно приходится 50–70 % выявленных очагов. Поэтому рекомендуется применять исследование экспрессии у мужчин цитокератинов (СК7 и СК20), TTF1, Cdx2, а также рецепторов андрогенов при наличии метастатического поражения костей. Использование этой панели позволяет заподозрить локализацию первичной опухоли в легком при коэкспрессии СК7 и TTF1, а локализацию в органах ЖКТ – коэкспрессии СК20 и Cdx2. При подозрении на метастазы рака предстательной железы (СК7-/СК20-/рецептор андрогенов +): простат-специфический антиген [9].

При подозрении на метастазы рака щитовидной железы целесообразно провести исследование комплекса маркеров (СК7+/TTF1+): тиреоглобулин или тиреопероксидазу. При подозрении на метастазы рака легкого – (СК7+/TTF1+): сурфактантный протеин-В, раковый эмбриональный антиген (РЭА). При подозрении на метастазы рака желудка, поджелудочной железы, желчевыводящих путей – СК7+, СК20-/+, Cdx2-/+: виллин.

При *аденокарциноме папиллярного строения у мужчин* легкие являются одной из частых локализаций первичного очага при метастазах аденокарциномы папиллярного строения. С аденокарциномами папиллярного строения морфологически может быть схожа мезотелиома. Диагностический поиск целесообразно осуществлять по экспрессии маркеров: СК7 и 20, TTF1, кальретинину, Ер-САМ (эпителиальная молекула клеточной адгезии). Для аденокарциномы легкого характерна коэкспрессия СК 7, TTF1 и Ер-САМ, для мезотелиомы – СК7 и кальретинина.

При *аденокарциноме железистого или папиллярного строения* при метастазах рака с невыявленным первичным очагом у женщин одной из возможных локализаций могут быть органы женской репродуктивной системы: при метастазах аденокарциномы железистого строения – в молочной железе, папиллярного строения – яичниках. При аденокарциноме молочной железы исследуется экспрессия антигенов: СК7 и СК20, TTF1, Cdx2, рецепторов эстрогенов и прогестерона, GCDFP15. Во втором случае – СК7 и СК20, TTF1, WT1, рецепторов эстрогенов и прогестерона. Коэкспрессия СК7, рецепторов эстрогенов и прогестерона и/или GCDFP15 характерна для рака молочной железы, коэкспрессия СК7, WT1 и рецепторов эстрогенов – для серозной папиллярной аденокарциномы яичников [10].

При подозрении на метастаз эндометриоидной аденокарциномы яичников диагностически важно исследовать (СК7+, рецепторы эстрогенов+ – иммунофенотип схож с иммунофенотипом рака молочной железы) экспрессию виментина и РЭА. При эндометриоидной аденокарциноме чаще диагностируется экспрессия виментин+, РЭА-, а при раке молочной железы – виментин-, РЭА+. Кроме этого, при изолированном поражении лимфатических узлов подмышечной области у женщин в метастазах аденокарциномы целесообразно определять экспрессию c-erbB-2 и Ki-67 [12].

Материалы и методы исследования

Изучение молекулярно-биологических характеристик аденокарцином из неустановленного первичного очага проведено у 210 пациентов, получавших полное диагностическое обследование и специальное лечение в РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова.

Исследование основано на изучении тканевого операционного и биопсийного материала 210 случаев аденокарцином с известной локализацией и метастазов аденокарцином с неустановленным первичным очагом, собранного в базе данных патологоанатомического отделения РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, а также анализе данных медицинской документации.

В настоящее исследование включено 160 пациентов, страдающих аденокарциномами известной локализации: 30 пациенток с раком молочной железы, раком легкого – 30, раком толстой кишки – 30, раком яичников – 30, раком поджелудочной железы – 20 и раком предстательной железы – 20.

Вторую группу составили 50 пациентов с метастазами аденокарциномы неизвестной локализации.

Изучение фенотипических характеристик аденокарцином различных органов проводилось иммуногистохимическим методом.

Иммуногистохимическое исследование выполнено на срезах опухолевой ткани толщиной 4 мкм (ткань опухоли предварительно фиксировалась в 10 % забуференном формалине и заключена в парафин) по стандартным методикам и в соответствии с рекомендациями производителя, с проведением позитивного и негативного контроля. Результаты оценивались полуколичественно и обрабатывались статистически. Антитела, применявшиеся в работе, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Антитела, использованные для иммунофенотипирования аденокарцином

Table 1

Antibodies, used for immunophenotyping adenocarcinomas

	Антитело	Клон	Спецификация	Разведение	Поставщик
1	TTF1	8G7G3/1	мышинные	готовые к использованию	DakoCytomation, Дания
2	ER	1D5	мышинные	готовые к использованию	DakoCytomation
3	CDX2	DAK-CDX2	мышинные	готовые к использованию	DakoCytomation
4	CA-125	M11	мышинные	1:150	DakoCytomation
5	WT1	6F-H2	мышинные	готовые к использованию	DakoCytomation
6	GCDFP15	23A3	мышинные	1:150	DakoCytomation

Примечания. 1. TTF1 – тиреоидный транскрипционный фактор; ER – рецепторы эстрогенов; WT1 – белок опухоли Вильмса; GCDFP15 – протеин жидкости кистозных болезней.

2. Опухоли градируются по характеру экспрессии антигенов на негативные (отсутствие позитивных клеток), слабо позитивные (≤ 49 % позитивных клеток) и сильно позитивные (> 50 % позитивных клеток).

Notes. 1. TTF1 – thyroid transcription factor; ER – estrogen receptors; WT1 – Wilms tumor protein; GCDFP15 – cystic disease fluid protein.

2. Tumors were graded by the expression pattern of antigens to negative (no positive cells), weakly positive (≤ 49 % positive cells), and strongly positive (> 50 % positive cells).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ проведенных исследований *аденокарцином молочной железы* свидетельствует, что экспрессия рецепторов эстрогенов (ER) была выявлена у 21 пациентки. Высокий уровень экспрессии рецепторов эстрогенов установлен в 33,3 % случаев, слабая экспрессия – у 36,7 % пациенток, страдающих раком молочной железы. Иммунофенотип аденокарцином молочной железы в 11 случаях характеризовался экспрессией антигенов WT1, характер которой не зависел от степени дифференцировки опухоли. Сравнительный анализ установил низкий уровень экспрессии антигена GCDFP15 у 17 % пациенток, отсутствие экспрессии антигенов TTF1 – во всех исследуемых опухолях.

Молекулярно-биологическая характеристика *аденокарцином предстательной железы* была представлена ядерной экспрессией рецепторов андрогенов в опухолевых клетках у 15 (75%) из 20 пациентов, в 11 случаях отмечена экспрессия антигенов WT1, характер которой не зависел от степени

дифференцировки опухоли. Слабая экспрессия тканевого антигена CDX2 выявлена у 15 % пациентов, страдающих раком предстательной железы. Иммуногистохимический анализ установил, что ни одна из аденокарцином предстательной железы не экспрессировала антигены CA-125, TTF1, GCDFP15.

Результаты выполненных исследований показали, что у всех пациенток ($n = 16$) с серозной *аденокарциномой яичников* диагностирована экспрессия антигенов WT1 в форме диффузной ядерной экспрессии в более чем 50 % опухолевых клеток, в 2 из 3 случаев светлоклеточного рака (66,7 %). Особо следует отметить, что при эндометриоидной ($n = 6$) и муцинозной ($n = 5$) аденокарциномах экспрессия антигена WT1 отсутствовала в опухолевой ткани пациенток, страдающих распространенным раком яичников.

Экспрессия карбогидратного антигена CA-125 отмечена у всех пациенток с серозным ($n = 16$), светлоклеточным ($n = 3$) и эндометриоидным ($n = 6$) раком яичников.

Антигены рецепторов эстрогенов не экспрессировались клетками светлоклеточного ($n = 3$) и клетками серозного рака яичников (43,8 %). У всех пациенток с эндометриоидной аденокарциномой выявлена экспрессия ER.

Экспрессия антигенов TTF1 и GCDFP15 у всех пациенток ($n = 30$), страдающих раком яичников, отсутствовала. Иммунофенотип эндометриоидной аденокарциномы во всех случаях характеризовался отсутствием экспрессии CDX2, а при муцинозной аденокарциноме отмечена слабая экспрессия данного антигена.

Аденокарцинома легкого в преимущественном (90 %) большинстве случаев экспрессировала антиген TTF1 в диффузной ядерной форме. По характеру экспрессии преобладали аденокарциномы с более чем 50 % позитивных опухолевых клеток ($n = 21$; 77,8 %), слабо-позитивные опухоли выявлены в 22,2 % случаев и были представлены муцинозными аденокарциномами. Отсутствие экспрессии TTF1 ($n = 3$; 10 %) отмечено при муцинозном бронхоальвеолярном раке. Характер экспрессии не зависел от степени дифференцировки опухоли.

У всех проанализированных пациентов с аденокарциномой легкого не наблюдалось экспрессии антигенов ER, WT1, GCDFP15 и CA-125.

Слабая экспрессия тканевого антигена CDX2 была выявлена в 2 случаях (6,67 %) рака легкого муцинозного морфотипа.

Аденокарциномы поджелудочной железы иммунофенотипически характеризовались умеренным уровнем экспрессии антигенов CDX2 ($n = 18$; 9 %) и CA-125 ($n = 17$; 56,7 %). У 75 % пациентов, страдающих раком поджелудочной железы, отмечена умеренно выраженная экспрессия тканевого антигена WT1.

В опухолевой ткани аденокарцином поджелудочной железы не выявлено экспрессии антигенов TTF1, GCDFP15 и ER.

Проведенная иммуногистохимическая оценка *аденокарцином толстой кишки* позволила установить диффузную ядерную экспрессию антигена CDX2 ($n = 28$; 93,3 %) в более чем 90 % опухолевых клеток. Отсутствие экспрессии данного антигена отмечено при аденокарциномах с низкой степенью дифференцировки (G3) опухоли.

В анализируемой группе пациентов при аденокарциноме толстой кишки не установлено экспрессии антигенов TTF1, рецепторов эстрогенов, GCDFP15. Слабая экспрессия CA-125 была отмечена в единственном случае (3,3 %) аденогенного рака толстой кишки. Слабая экспрессия ER диагностирована у 5 (16,7 %) пациентов, страдающих раком толстой кишки.

Дифференциально-диагностическое исследование с использованием иммунофенотипического профилирования проведено у 50 пациентов, имеющих метастазы *аденокарциномы с невыявленного первичного очага*.

Возраст пациентов, включенных в исследование, варьировал от 20 до 74 лет. Средний возраст пациентов составил $55,2 \pm 7,5$ лет.

Метастатическое поражение лимфатических узлов шеи диагностировано у 46,3 % пациентов, надключичных лимфоузлов – у 37,4 %, подмышечные лимфоузлы были поражены в 16,3 % случаев.

На основе морфологической оценки микропрепаратов и определения экспрессии панели исследуемых тканевых маркеров GCDFP15, ER, TTF1, WT1, CA-125 и CDX2 установлены нозологические формы метастатических опухолей.

У 23 пациентов с метастатическим поражением лимфатических узлов шеи из невыявленного первичного очага диагностировано: метастаз аденокарциномы легкого у 18 пациентов, метастаз рака молочной железы – у 3, метастаз серозного рака яичников – у 2.

При метастатическом поражении надключичных лимфатических узлов у 18 пациентов установлено: метастаз аденокарциномы легкого у 16 пациентов, метастаз рака молочной железы – у 2.

У 9 пациентов с метастазами в подмышечных лимфатических узлах из неустановленного первичного очага выявлено: метастаз рака молочной железы у 7 пациенток, метастаз аденокарциномы легкого – у 2.

Иммунофенотип метастазов аденокарциномы легкого характеризовался отсутствием экспрессии тканевых антигенов GCDP15, ER, WT1, CA-125, CDX2 (n = 34) и повышенным уровнем экспрессии TTF1, CDX2 (n = 2 – при муцинозном типе).

Иммунопрофиль метастазов рака молочной железы (n=15) представлен экспрессией антигенов: GCDP15+ (n = 5); ER+ (n = 12); отсутствием продукции антигенов: TTF1– (n = 15), WT1– (n = 15), CA-125– (n = 15), CDX2– (n = 14), +(n = 1 – муцинозный тип).

Иммунофенотипическая характеристика метастазов серозного рака яичников (n = 2) представлена экспрессией тканевых антигенов CA125+ (n = 2), WT1+ (n = 2) и отсутствием экспрессии GCDP15– (n = 2), ER– (n = 2), TTF1– (n = 2), CDX2– (n = 2).

Заключение

Таким образом, установлена иммунофенотипическая характеристика аденокарцином известной локализации на основе иммуногистохимической оценки экспрессии тканевых антигенов в опухолевой ткани 160 пациентов. Иммунофенотипические профили аденокарцином характеризовались: карцинома молочной железы экспрессией рецепторов эстрогенов у 70 % пациенток, антигенов WT1 – 36,6 %, низким уровнем экспрессии GCDP15 – у 17 %; аденокарцинома предстательной железы – экспрессией рецепторов эстрогенов – у 75 %, антигена WT1 – у 55 %, низкой экспрессией CDX2 – у 15 %; серозная аденокарцинома яичников экспрессировала WT1 в 50 %, антиген CA-125 – в 83,3 %; при аденокарциноме легкого отмечена экспрессия в диффузной ядерной форме антигена TTF1 у 90 % опухолевых клеток.

Аденокарциномы поджелудочной железы иммунофенотипически характеризовались умеренным уровнем экспрессии антигенов CDX2 у 90 % пациентов, CA-125 – у 56,7 %, тканевого антигена WT1 – у 75 %; при аденокарциноме толстой кишки выявлена диффузная ядерная экспрессия антигена CDX2 у 93,3 %, слабая экспрессия рецепторов эстрогенов диагностирована в 16,7 % случаев.

У пациентов с метастатическим поражением лимфатических узлов шеи из невыявленного первичного очага диагностированы метастаз аденокарциномы легкого у 18 пациентов, метастаз рака молочной железы – у 3, метастаз серозного рака яичников – у 2.

При метастатическом поражении надключичных лимфатических узлов установлены: метастаз аденокарциномы легкого – у 16, метастаз рака молочной железы – у 2 пациентов.

У пациентов с метастазами в подмышечных лимфатических узлах из неустановленного первичного очага выявлены: метастаз рака молочной железы у 7 пациенток, метастаз аденокарциномы легкого – у 2.

Библиографические ссылки

1. Hillen H. F. Unknown primary tumours review // *Postgrad. Med. J.* 2000. Vol. 76. P. 690–693.
2. Fizazi K., Greco F. A., Pavlidis N., et al. Cancers of unknown primary site: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // *Ann. Oncol.* 2015. Vol. 26, issue 5. P. 133–138.
3. Nystrom J. S., Weiner J. M., Heffelfinger-Juttner J. Metastatic and histologic presentation in unknown primary cancer // *Semin. Oncol.* 1997. Vol. 4. P. 53–58.
4. Pavlidis N., Fizazi K. Cancer of unknown primary (CUP) // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2009. Vol. 69. P. 271–278.
5. Varadhachary G. R., Raber M. N. Cancer of unknown primary site // *N. Engl. J. Med.* 2014. Vol. 371. P. 757–765.
6. Pentheroudakis G., Briassoulis E., Pavlidis N. Cancer of unknown primary site: missing primary or missing biology // *Oncologist.* 2007. Vol. 12. P. 418–425.
7. Varadhachary G. R., Abbruzzese J. L., Lenz R. Diagnostic strategies for unknown primary cancer // *Cancer.* 2004. Vol. 100. P. 1776–1785.
8. Zhu L., Wang N. 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography as a diagnostic tool in patients with cervical nodal metastases of unknown primary site: a meta-analysis // *Surg. Oncol.* 2013. Vol. 22. P. 190–194.
9. Rubin B. P., Skarin A. T., Pisick E., et al. R. Use of cytokeratins 7 and 20 in determining the origin of metastatic carcinoma of unknown primary, with special emphasis on lung cancer // *Eur. J. Cancer. Prev.* 2001. Vol. 10 (1). P. 77–82.
10. Vozmitel M., Dubrovskij A., Smoljakova R. et al. Molecular subtypes of breast cancer according to expression of surrogate immunohistochemical markers: study of 152 cases // *Virchows Archiv.* 2012. Vol. 461, issue 1. P. 257.
11. Chorost M. I., Lee M. C., Yeoh C. B. Unknown primary // *J. Surg. Oncol.* 2004. Vol. 87. P. 191–203.
12. Blaszyk H., Hartmann A., Bjornsson J. Cancer of unknown primary: clinicopathologic correlations // *APMIS.* 2003. Vol. 111. P. 1089–1094.

References

1. Hillen H. F. Unknown primary tumours review. *Postgrad. Med. J.* 2000. Vol. 76. P. 690–693.
2. Fizazi K., Greco F. A., Pavlidis N., et al. Cancers of unknown primary site: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2015. Vol. 26, issue 5. P. 133–138.

3. Nystrom J. S., Weiner J. M., Heffelfinger-Juttner J. Metastatic and histologic presentation in unknown primary cancer. *Semin. Oncol.* 1997. Vol. 4. P. 53–58.
4. Pavlidis N., Fizazi K. Cancer of unknown primary (CUP). *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2009. Vol. 69. P. 271–278.
5. Varadhachary G. R., Raber M. N. Cancer of unknown primary site. *N. Engl. J. Med.* 2014. Vol. 371. P. 757–765.
6. Pentheroudakis G., Briasoulis E., Pavlidis N. Cancer of unknown primary site: missing primary or missing biology. *Oncologist.* 2007. Vol. 12. P. 418–425.
7. Varadachary G. R., Abbruzzese J. L., Lenz R. Diagnostic strategies for unknown primary cancer. *Cancer.* 2004. Vol. 100. P. 1776–1785.
8. Zhu L., Wang N. 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography as a diagnostic tool in patients with cervical nodal metastases of unknown primary site: a meta-analysis. *Surg. Oncol.* 2013. Vol. 22. P. 190–194.
9. Rubin B. P., Skarin A. T., Pisick E., et al. Use of cytokeratins 7 and 20 in determining the origin of metastatic carcinoma of unknown primary, with special emphasis on lung cancer. *Eur. J. Cancer. Prev.* 2001. Vol. 10 (1). P. 77–82.
10. Vozmitel M., Dubrovskij A., Smoljakova R. et al. Molecular subtypes of breast cancer according to expression of surrogate immunohistochemical markers: study of 152 cases. *Virchows Archiv.* 2012. Vol. 461, issue 1. P. 257.
11. Chorost M. I., Lee M. C., Yeoh C. B. Unknown primary. *J. Surg. Oncol.* 2004. Vol. 87. P. 191–203.
12. Blaszyk H., Hartmann A., Björnsson J. Cancer of unknown primary: clinicopathologic correlations. *APMIS.* 2003. Vol. 111. P. 1089–1094.

Статья поступила в редколлегию 08.11.2018
Received by editorial board 08.11.2018

УДК 616.33-006.6-089.87]:575.191(476)

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОЦЕНКИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Р. М. СМОЛЯКОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, Минск, Беларусь

Проанализирована экспрессия генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT* и *DPD*, характеризующая лекарственную чувствительность к препаратам платины и фторпиримидинового ряда у пациентов, страдающих колоректальным раком. Комплексная молекулярно-генетическая оценка уровней экспрессии генов метаболизма 5-фторурацила *TYMS* и *TYMP* позволяет стратифицировать пациентов в группу с высокой химиорезистентностью и риском прогрессирования заболевания с целью выбора второй линии адъювантной цитостатической терапии. Установлена достоверная связь между уровнями экспрессии генов *TYMP*, *OPRT*, *DPD* и степенью распространенности опухолевого процесса, наличием метастазов при колоректальном раке. Экспрессии генов *TYMS*, *TYMP* и *OPRT* коррелируют с риском развития рецидива заболевания, химиоустойчивостью, неблагоприятным прогнозом и снижением общей выживаемости пациентов, страдающих колоректальным раком.

Ключевые слова: колоректальный рак; экспрессия генов; химиочувствительность; рецидив; полихимиотерапия; прогноз; полимеразная цепная реакция; стратификация.

THE PREDICTIVE VALUE OF THE ASSESSMENT OF MEDICINAL SENSITIVITY IN COLORECTAL CANCER

R. M. SMALYAKOVA

Belarusian State University,
International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya 23/1, 220070, Minsk, Belarus

The expression of *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT* and *DPD* genes, which characterizes medicinal sensitivity to platinum and fluoropyrimidine medicines in patients with colorectal cancer, is analyzed. A complex molecular genetic assessment of the expression levels of the *TYMS* and *TYMP* 5-fluorouracil metabolism genes allows patients to be stratified into a group with high chemoresistance and the risk of disease progression in order to select a second-line adjuvant cytostatic therapy. A significant correlation was established between the levels of *TYMP*, *OPRT*, *DPD* gene expression and the extent of the tumor process, the presence of metastases in colorectal cancer. The expression of the *TYMS*, *TYMP* and *OPRT* genes correlates with the risk of disease relapse, chemotherapy, poor prognosis and reduced overall survival of patients with colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer; gene expression; chemosensitivity; relapse; polychemotherapy; prognosis; polymerase chain reaction; stratification.

Образец цитирования:

Смолякова Р. М. Прогностическая значимость оценки лекарственной чувствительности при колоректальном раке // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 101–108.

For citation:

Smalyakova R. M. The predictive value of the assessment of medicinal sensitivity in colorectal cancer. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 101–108 (in Russ.).

Авторы:

Раиса Михайловна Смолякова – доктор биологических наук, доцент; заведующий кафедрой общей экологии, биологии и экологической генетики.

Authors:

Raisa M. Smalyakova, doctor of science (biology), associate professor; head of the department of general ecology, biology and ecological genetics.
smol60@mail.ru

Введение

Рак толстой кишки занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями во всех странах мира. Риск развития рака толстой кишки (РТК) в возрастной группе старше 50 лет возрастает в два раза в течение каждого последующего десятилетия и достигает пика к 75 годам. Отмечается резкий рост заболеваемости и смертности от колоректального рака (КРР) в возрастных группах до 34 лет и 45–49 лет, особенно в странах Европы, США и Канаде [1]. В 30 % случаев опухоль выявляется во второй стадии, в 60–70 % – в третьей.

В Республике Беларусь, как и во многих странах Европы и Северной Америки, заболеваемость КРР в последние годы неуклонно возрастает. В течение последних десяти лет число ежегодно выявляемых пациентов с КРР в республике увеличилось в 1,3 раза.

Пятилетняя выживаемость при КРР достигает 60 % в развитых странах и менее 40 % в государствах с ограниченными ресурсами. Важнейшим фактором, влияющим на 5-летнюю выживаемость, является степень распространения опухолевого процесса. У пациентов 5-летняя выживаемость при выявлении метастазов в регионарных лимфатических узлах составляет около 40 %, без поражения – 75 %, при прорастании серозной оболочки и без прорастания – 42 % и 98 % соответственно [2].

Этиология колоректального рака до настоящего времени остается до конца не выясненной. Однако известно, что трансформация клеток и возникновение КРР вызываются динамическими изменениями клеточного генома, связанными как с герминальными, так и с соматическими мутациями. Стремительное развитие геномики и внедрение фундаментальных знаний в прикладную онкологию позволили достичь нового понимания патогенеза заболевания, предоставить возможность разработки эффективных способов первичной профилактики, улучшить результаты диагностики, а также индивидуализировать тактику лечения и прогнозирования течения заболевания.

Методами молекулярного и цитогенетического анализа показано, что опухолевая трансформация клеток происходит в результате комплекса aberrаций, к которым могут относиться как аномалии числа хромосом, так и качественные нарушения в генах. Анализ мутационных нарушений и последующих изменений в транскрипционной программе клетки составляет основу молекулярной диагностики онкологических заболеваний, которая является областью для научных исследований, а также играет важную роль в клинической практике [3].

Выявление специфических генетических нарушений при колоректальном раке необходимо для выбора патогенетически обоснованной противоопухолевой терапии. Использование молекулярно-генетического анализа, характеризующего различные этапы канцерогенеза при колоректальном раке, является важным звеном доказательной диагностики, повышающем выявляемость опухолей на ранних стадиях развития, обоснованным подходом к назначению цитостатической терапии и увеличением бессобытийной и общей выживаемости. В связи с этим изучение молекулярно-генетических маркеров чувствительности к используемым химиотерапевтическим средствам представляется актуальным для индивидуализации подходов к лечению онкологических пациентов [4; 5].

Основным препаратом выбора при лечении пациентов, страдающих колоректальным раком, являются препараты фторпиримидинового ряда, в частности, 5-фторурацил (5-Fu) и ингибиторы топоизомеразы (препараты платины) [6].

Главной молекулярной мишенью препаратов фторпиримидинового ряда является фермент тимидилатсинтаза (TYMS, thymidylate synthase). Тимидилатсинтаза – ключевой фермент, участвующий в процессе метилирования флуородеоксиуридина до дезоксиуридин-монофосфата, один из основных в процессе синтеза ДНК. Механизм противоопухолевого действия 5-фторурацила связан с угнетением фермента тимидилатсинтазы. Активный метаболит 5-Fu, 5-фтор-2'-дезоксиуридин-монофосфат (FdUMP) взаимодействует с TYMS в присутствии кофактора 5,10-метилентетрагидрофолата (CH₂FH₄) [7], образуя тройной комплекс, что приводит к блокированию *de novo* синтеза дезокситимидин-монофосфата, являющегося одним из предшественников ДНК. В результате биохимических процессов прекращается синтез новых молекул ДНК в ядре опухолевой клетки, что приводит к ее гибели.

Частота химиочувствительных опухолей толстой кишки с низким значением TYMS составляет около 15–20 %. Отдельными исследованиями установлено, что у пациентов с колоректальным раком высокий уровень экспрессии гена TYMS связан с неблагоприятным прогнозом и низким ответом на терапию 5-Fu [8]. Показано, что объективный ответ, время до прогрессирования заболевания и общая выживаемость пациентов выше при низком уровне TYMS. Считается, что эффективность 5-Fu у пациентов с низким уровнем этого фермента в 3 раза выше по сравнению с пациентами при высоком уровне экспрессии TYMS. Уровень экспрессии данного гена может рассматриваться как молекулярный маркер, прогнозирующий эффективность терапии фторпиримидинами у пациентов, страдающих колоректальным раком [9].

Вместе с тем имеющиеся в современной мировой литературе отдельные данные по поводу значимости *TYMS* как маркера чувствительности к химиотерапии фторпиримидинами неоднозначны: не у всех пациентов с низким уровнем экспрессии *TYMS* отмечается выраженный терапевтический ответ. Важно отметить, что уровень экспрессии гена *TYMS* в первичной и метастатической опухолях не одинаков. Подобное противоречие принято объяснять фундаментальными биологическими различиями между сформировавшимся макроскопическим метастатическим очагом и единичными опухолевыми клетками. Следовательно, при выборе тактики лечения распространенных форм опухоли необходимо проводить молекулярно-генетический анализ метастатической ткани. Доказано, что уровень экспрессии *TYMS* может увеличиваться в процессе лечения фторпиримидинами. Предполагается, что активация транскрипции гена *TYMS* является одним из механизмов приобретенной вторичной устойчивости к 5-Fu [10].

Проведенный анализ современной мировой литературы свидетельствует, что при оценке химиоустойчивости опухоли к лекарственной терапии с использованием фторпиримидинов при КРР, принципиально важным является комплексное определение уровней экспрессии генов-ферментов метаболизма 5-Fu тимидилатсинтазы и тимидилатфосфорилазы (*TYMP*, thymidylatephosphorylase) [11].

Тимидилатфосфорилаза не только участвует в метаболизме азотистых оснований ДНК, но и способствует процессам ангиогенеза. Его экспрессия повышена в большинстве опухолей и коррелирует с неблагоприятным прогнозом и низким ответом на стандартную химиотерапию с применением 5-Fu. Однако, согласно отдельным данным, высокая экспрессия *TYMP* может коррелировать с чувствительностью опухоли к пероральным фторпиримидинам, в частности, к капецитабину. Таким образом, высокая внутриопухолевая активность *TYMP* связана с прогрессированием заболевания, а с другой стороны, с избирательностью действия пероральных форм фторпиримидинов [12].

На основе достижений фундаментальной науки в настоящее время разработаны принципиально новые препараты, обладающие противоопухолевой активностью. К ним относятся непрямые ингибиторы тимидилатсинтазы, например, ралтитриксид (томудекс), ингибиторы топоизомеразы (препараты платины), а также дериваты камптотецинов СРТ-11 (иринотекан, кампто) и топотекана. В связи с этим фундаментальный и прикладной интерес вызывают молекулярно-генетические aberrации, которые могут приводить к нарушению метаболизма цитостатических и мишень-направленных (таргетных) препаратов.

Так, низкий внутриопухолевый уровень ключевого фермента инактивации 5-фторурацила – дигидропиримидин-дегидрогеназы (*DPD*, dihydropyrimidine dehydrogenase) свидетельствует о чувствительности опухоли к данному препарату. Однако установлено, что у 0,5 % популяции населения наблюдается наследственный дефект данного гена и назначение стандартных терапевтических доз фторпиримидинов сопровождается тяжелейшими осложнениями. Следует отметить, что экспрессия фермента *DPD* может снижаться в процессе злокачественной трансформации, что создает определенное «терапевтическое окно» для действия фторурацила и его производных [13].

Доказано, что в активации фторпиримидинов принимает участие фермент оротатфосфорибозилтрансфераза (*OPRT*, orotate phosphoribosyltransferase), его внутриопухолевая активация ассоциирована с повышением эффективности терапии 5-Fu у пациентов с колоректальным раком. Комплексность метаболизма 5-Fu дает основание предположить, что эффективность его применения зависит от комбинации функциональных характеристик нескольких ферментативных каскадов [14].

Механизм действия производных платины связан с нарушением функции нитей ДНК и образованием внутри- и межспиральных сшивок, что сопровождается нарушением структуры и подавлением синтеза ДНК. Среди механизмов устойчивости к платиновым производным наиболее значимыми маркерами являются *NER* (фермент нуклеотидной эксцизионной репарации) и *ERCC1* [15]. Функция *ERCC1* связана с разрезанием повреждений ДНК 5'-концевой цепи, вызванных препаратами платины [16].

Многочисленные исследования демонстрируют взаимосвязь между низким уровнем экспрессии *ERCC1* и ответом опухоли на цисплатин, карбоплатин или оксалиплатин. Подобная закономерность была отмечена для ряда карцином, включая рак пищевода, желудка, толстой кишки, яичников, легкого [17]. Таким образом, можно предположить, что уровень экспрессии этого фермента является предиктивным маркером чувствительности опухоли к химиотерапии первой линии на основе платины.

Материалы и методы исследования

Материалом исследования послужили данные о 50 пациентах, страдающих раком толстой кишки I–III стадии, получавших полное диагностическое обследование и специальное лечение в РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова. У всех пациентов, включенных в исследование, диагноз подтвержден морфологически. Пациентами дано информированное согласие на участие в настоящем исследовании.

Возраст пациентов, включенных в исследование, варьировал от 45 до 83 лет. Средний возраст составил $66,0 \pm 9,18$ лет.

По степени распространенности опухолевого процесса диагностирована I стадия у 6 % пациентов, II ст. – у 72 %, III ст. – у 22 %.

В анализируемой группе пациентов выявлена высокодифференцированная аденокарцинома в 13 % случаев, умеренно дифференцированная – в 66 %, низкодифференцированная – в 21 %.

В зависимости от локализации опухолевого процесса установлено, что опухоль выявлена в сигмовидной кишке у 25 % пациентов, ректосигмоидном соединении – у 39 %, слепой кишке – у 17 %, восходящей ободочной кишке – 8 %. Аденокарцинома диагностирована в печеночном и селезеночном изгибах ободочной кишки, а также в нисходящей и поперечной ободочной кишке в 4 % случаев. В прямой кишке опухолевый процесс наблюдался у 7 % пациентов.

В исследуемой группе метастазы диагностированы у 16 % пациентов, метастазов не выявлено – в 84 %.

Определение экспрессии изучаемых генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT* и *DPD* проводили в опухолевой ткани, забранной во время хирургического лечения, с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на амплификаторе «iCycler» (BioRad, США).

В качестве исследуемого биологического материала использовали опухолевую, а также морфологически нормальную ткань толстой кишки. Непосредственно после иссечения и осмотра опухолевой и нормальной ткани патологоанатомом ее помещали в жидкий азот для транспортировки. Хранение биоматериала осуществляли при температуре минус 70 °С в низкотемпературном морозильном шкафу. Для проведения анализа использовали 4 среза опухолевой ткани и один срез морфологически нормальной ткани.

Для выделения общей фракции РНК из ткани использовали набор реагентов «RNAqueous-4PCR Kit» (Ambion, США) согласно инструкции производителя.

Для получения кДНК использовали 500–1000 нг общей фракции РНК с применением набора для обратной транскрипции High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Ambion, США) по инструкции производителя в амплификаторе «iCycler».

Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени проводили с использованием набора для амплификации кДНК генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT* и *DPD* в формате TaqMan (табл. 1).

Таблица 1

Последовательность праймеров и зондов для анализа уровня экспрессии генов *ERCC1*, *OPRT*, *TYMS*, *TYMP* и *DPD*

Table 1

The sequence of primers and probes for analyzing the level of *ERCC1*, *OPRT*, *TYMS*, *TYMP* and *DPD* genes expression

№ п/п	Ген	Прямой праймер	Обратный праймер	Проба
1	<i>OPRT</i>	TCCTGGGCAGATCTA GTAAATGC	TGCTCCTCAGCCA TTCTAACC	6FAM-5'-CTCCTTATTG CGGAAATGAGCTC- CACC-3'TAMRA
2	<i>TYMS</i>	GGCCTCGGTGTGCCTTT	GATGTGCGCAATTC ATGTACGT	6FAM 5'-AACATCGCCAGCTA CGCCCTGC-3'TAMRA
3	<i>TYMP</i>	CCTGCGGACGGAATCCT	TCCACGAGTTTCTTACT GAGAATGG	6FAM5'-CAGCCAGAGATGTG ACAGCCACCG-3'TAMRA
4	<i>DPD</i>	TCACTGGCAGACTCGA GACTGT	TGGCCGAAGTGGAACACA	6FAM5'- CCGCCGACTCCTTACTGAGC ACACAGG-3'TAMRA
5	<i>ERCC1</i>	GGCGACGTAATT CCCGACTA	AGTTCTTCCCCAGGCTCTGC	6FAM5'-ACCACAACCTGCAC CCAGACTACATCCA-3'TAMRA

ПЦР-анализ выполняли на амплификаторе «iCycler» со считыванием флуоресценции по каналу FAM в соответствии с программой термоциклирования для набора реагентов Maxima Hot Start DNA polymerase kit (Fermentas, Литва) (50 °С – 2 мин (1 цикл); 95 °С – 5 мин (1 цикл); 95 °С – 10 с (45 циклов); 60 °С – 1 мин).

Вычисляли значения 2^{-ddCp} . Уровень экспрессии гена считали повышенным при значении 2^{-ddCp} , превышающего $2^{-CT. ОТКЛ. dCp(норма)}$ и пониженным – при значении 2^{-ddCp} , ниже $2^{-CT. ОТКЛ. dCp(норма)}$ (табл. 2).

Таблица 2

Критерии оценки уровня экспрессии генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT*, *DPD* у пациентов, страдающих КРР

Table 2

Criteria for assessing the expression level of *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT*, *DPD* genes in patients with CRC

Уровень экспрессии	<i>TYMS</i>	<i>TYMP</i>	<i>ERCC1</i>	<i>OPRT</i>	<i>DPD</i>
Гипоэкспрессия	<0,6	<0,15	<0,15	<0,02	<0,10
Умеренная экспрессия	0,6–1,81	0,15–6,78	0,15–6,62	0,02–4,31	0,10–9,82
Гиперэкспрессия	>1,81	>6,78	>6,62	>44,31	>9,82

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием программы Statistica 6,0. Для сравнения уровней экспрессии генов у пациентов с колоректальным раком применялся непараметрический метод – критерий Манна–Уитни (U , $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ выполненных исследований свидетельствуют, что экспрессии гена *TYMS* у пациентов с КРР варьировала от 0,03 до 8,23 отн. ед. Так, при I ст. заболевания он составил 1,82 отн. ед., II ст. – 1,54 отн. ед., III ст. – 2,01 отн. ед.

Особо следует отметить, что у пациентов с рецидивом заболевания диагностирована гиперэкспрессия гена *TYMS* в 83,4 % случаев, без рецидива заболевания отмечена умеренная экспрессия у 47,6 % пациентов.

Проведенными динамическими исследованиями установлено, что экспрессия гена фермента *TYMP* у пациентов, страдающих КРР, колебалась в пределах от 0,02 до 16,56 отн. ед. При I ст. заболевания уровень экспрессии гена составил 6,90 отн. ед., II ст. – 2,1 отн. ед., III ст. – 0,94 отн. ед. Прогрессирование заболевания у пациентов с КРР характеризовалось умеренным уровнем экспрессии гена *TYMP* у 66,8 %, без прогрессирования процесса отмечена умеренная экспрессия фермента у 47,6 %.

Анализ проведенных исследований экспрессии гена *ERCC1* установил вариацию его значений от 0,01 до 20,25 отн. ед. У пациентов с колоректальным раком уровень экспрессии составил при I ст. 3,13 отн. ед., II ст. – 3,39 отн. ед., III ст. – 2,33 отн. ед. У пациентов с диагностированным возвратом заболевания экспрессия гена *ERCC1* характеризовалась относительным ее понижением у 66,7 % пациентов, при благоприятном течении заболевания – умеренным уровнем экспрессии в 38,1 % случаев.

Молекулярно-генетический анализ экспрессии гена *OPRT* у пациентов, страдающих КРР, выявил его изменение от 0,01 до 12,3 отн. ед. Сравнительные исследования показали, что при локализованном опухолевом процессе уровень экспрессии исследуемого гена составил при I ст. 5,3 отн. ед., II ст. – 2,67 отн. ед., III ст. – 0,29 отн. ед. У всех пациентов с эффективно проведенным лечением диагностирована умеренная экспрессия гена *OPRT*, при развитии рецидива заболевания гипоэкспрессия фермента установлена в 50 % случаях.

Результаты выполненной работы позволили определить у пациентов, страдающих раком толстой кишки, экспрессию гена *DPD* в пределах от 0,05 до 14,64 отн. ед. У пациентов с КРР уровень экспрессии при I ст. составил 2,7 отн. ед., II ст. – 2,96 отн. ед., III ст. – 1,45 отн. ед. Проведенный в сравнительном аспекте анализ не выявил различий в экспрессии гена *DPD* у пациентов с рецидивом заболевания и в группе пациентов, не имеющих возврата болезни.

Изучение взаимосвязи уровней экспрессии генов *TYMS*, *TYMP*, *OPRT*, *ERCC1*, *DPD* с морфологическими показателями опухолевого процесса (степень дифференцировки опухоли, распространенность опухолевого процесса и количество пораженных лимфоузлов) выявил статистически значимую связь между уровнем экспрессии гена *TYMP* и степенью распространенности опухолевого процесса ($R = -0,407$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$), уровнями экспрессии генов *OPRT*, *DPD* и степенью распространенности опухолевого процесса ($R = -0,454$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ и $R = -0,408$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ соответственно), наличием метастазов ($R = -0,404$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ и $R = -0,488$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ соответственно).

Проведенный статистический анализ взаимосвязи уровня экспрессии генов *TYMS*, *TYMP*, *OPRT*, *ERCC1*, *DPD* и риска развития рецидива заболевания у пациентов, страдающих КРР, выявил статистически значимую связь между гиперэкспрессией гена *TYMS* ($R = 0,433$, $p < 0,05$) и низкой экспрессией гена *OPRT* ($R = 0,662$, $p < 0,05$) (табл. 3).

Таблица 3

Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии генов и риском развития рецидива заболевания

Table 3

The correlation between the level of gene expression and the risk of disease relapse

Ген	Уровень экспрессии	Рецидив заболевания
<i>TYMS</i>	выс.	$R = 0,433, p < 0,05$
	низк.	$R = -0,071, p > 0,05$
<i>TYMP</i>	выс.	$R = 0,028, p > 0,05$
	низк.	$R = -0,152, p > 0,05$
<i>ERCC1</i>	выс.	$R = -0,221, p > 0,05$
	низк.	$R = 0,662, p > 0,05$
<i>OPRT</i>	выс.	$R = -0,254, p > 0,05$
	низк.	$R = 0,662, p < 0,05$
<i>DPD</i>	выс.	$R = -0,071, p > 0,05$
	низк.	$R = 0,203, p > 0,05$

Изучение молекулярно-генетического профиля аденокарцином толстой кишки и риска развития рецидива заболевания установило статистически значимую связь между гиперэкспрессией гена *TYMS*, гипо/умеренной экспрессией гена *TYMP* ($R = 0,786, p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$); гиперэкспрессией гена *TYMS*, гипо/умеренной экспрессией гена *TYMP*, гипо/умеренной экспрессией гена *OPRT* ($R = 0,785, p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$) и возвратом заболевания (табл. 4).

Таблица 4

Корреляционные взаимосвязи между профилем экспрессии генов и риском развития рецидива заболевания

Table 4

Correlations between gene expression profile and risk of disease relapse

Профиль экспрессии генов	Рецидив заболевания
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (норм.)	$R = 0,662, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (норм.)/(низк.)	$R = 0,786, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>OPRT</i> (низк.)	$R = 0,661, p < 0,05$
(<i>TYMS</i> выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>OPRT</i> (низк.)/(норм.)	$R = 0,785, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>DPD</i> (выс.)	$R = -0,367, p > 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>OPRT</i> (норм.)	$R = -0,367, p > 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>ERCC1</i> (норм.)	$R = 0,529, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>OPRT</i> (норм.)/(низк.)	$R = 0,566, p < 0,05$
<i>ERCC1</i> (норм.)/(низк.) <i>OPRT</i> (норм.)/(низк.)	$R = 1,0, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>ERCC1</i> (норм.)/(низк.)	$R = 0,786, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>ERCC1</i> (низк.)	$R = 0,529, p < 0,05$

Таким образом, профили экспрессии генов *TYMS* (выс.), *TYMP* (низк.)/(норм.) и *TYMS* (выс.), *TYMP* (низк.)/(норм.), *OPRT* (низк.)/(норм.) могут служить маркерами риска развития рецидива заболевания и химиоустойчивости опухоли к препаратам фторпиримидинового ряда у пациентов, страдающих колоректальным раком.

Анализ молекулярно-генетических исследований установил, что у пациентов с рецидивом заболевания и неблагоприятным прогнозом детектирована гиперэкспрессия гена *TYMS*, умеренная экспрессия гена *TYMP*, *OPRT*, *DPD* и гипоекспрессия гена *ERCC1*. Эффективно проведенная комбинированная терапия у пациентов без возврата заболевания характеризовалась умеренной экспрессией генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *DPD*, умеренной и гипоекспрессией гена *OPRT*.

Заключение

Таким образом, у пациентов, страдающих колоректальным раком I–III ст., определена экспрессия генов *TYMS*, *TYMP*, *OPRT*, *ERCC1*, *DPD*, характеризующих лекарственную устойчивость к препаратам платины и фторпиримидинового ряда. Комплексная оценка экспрессии генов метаболизма 5-фторурацила *TYMS* со значением выше 1,0 отн. ед. и гена *TYMP* при значении ниже 10,0 отн. ед. позволяет стратифицировать пациентов в группу с высокой химиорезистентностью и риском прогрессирования заболевания с целью выбора второй линии адъювантной цитостатической терапии.

Установлена статистически значимая связь между уровнями экспрессии генов *TYMP* ($R = -0,407$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$), *OPRT* ($R = -0,454$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$), *DPD* ($R = -0,408$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$) и степенью распространенности опухолевого процесса, наличием метастазов ($R = -0,404$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ и $R = -0,488$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ соответственно) при колоректальном раке.

Гиперэкспрессия гена *TYMS*, гипо/умеренная экспрессия гена *TYMP* ($R = 0,786$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$); гиперэкспрессия гена *TYMS*, гипо/умеренная экспрессия гена *TYMP*, гипо/умеренная экспрессия гена *OPRT* ($R = 0,785$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$) статистически значимо связаны с возвратом заболевания, химиоустойчивостью, неблагоприятным прогнозом и снижением общей выживаемости пациентов, страдающих колоректальным раком.

Библиографические ссылки

1. Keighley M. R. B. Gastrointestinal cancers in Europe // *Alim. Pharmacol. Ther.* 2003. Vol. 18, № 3. P. 7–30.
2. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation // *J. Cell.* 2011. Vol. 144. P. 646–674.
3. Stöhlmacher J. Pharmacogenetics in gastrointestinal tumors // *Onkologie.* 2005. Vol. 28. P. 435–440.
4. Al-Shammaa Hassan Alaa H., Li Y., Yonemura Y. Current status and future strategies of cytoreductive surgery plus intraperitoneal hyperthermic chemotherapy for peritoneal carcinomatosis // *World J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 14. № 8. P. 1159–1166.
5. D'Angelica M., Gonen M., Brennan M. F. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma // *Ann Surg.* 2004. Vol. 240. № 5. P. 808–816.
6. Watters J. W., McLeod H. L. Cancer pharmacogenomics: current and future applications // *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. Vol. 1603 (2). P. 99–111.
7. Longley D. B., Harkin D. P., Johnston P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies // *Nat. Rev. Cancer.* 2003. Vol. 3 (5). P. 330–338.
8. Aschele C., Lonardi S., Monfardini S. Thymidylate Synthase expression as a predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy in advanced colorectal cancer // *Cancer. Treat. Rev.* 2002. Vol. 28 (1). P. 27–47.
9. Formentini A., Henne-Bruns D., Kornmann M. Thymidylate synthase expression and prognosis of patients with gastrointestinal cancers receiving adjuvant chemotherapy: a review // *Langenbecks. Arch. Surg.* 2004. Vol. 389 (5). P. 405–413.
10. Gonen M., Hummer A., Zervoudakis A. et al. Thymidylate synthase expression in hepatic tumors is a predictor of survival and progression in patients with resectable metastatic colorectal cancer // *J. Clin. Oncol.* 2003. Vol. 21 (3). P. 406–412.
11. Smorenburg C., Peters G., van Groeningen C., et al. Phase II study of tailored chemotherapy for advanced colorectal cancer with either 5-fluorouracil and leucovorin or oxaliplatin and irinotecan based on the expression of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase // *Ann. Oncol.* 2006. Vol. 17 (1). P. 35–42.
12. Toi M., AtiqurRahman M., Bando H., et al. Thymidine phosphorylase (platelet-derived endothelial-cell growth factor) in cancer biology and treatment // *Lancet. Oncol.* 2005. Vol. 6 (3). P. 158–166.
13. Kidd E.A., Yu J., Li X., et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11(7). P. 2612–2619.
14. Kidd E. A., Yu J., Li X. et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (7). P. 2612–2619.
15. Shirota Y., Stöhlmacher J., Brabender J. et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19 (23). P. 4298–4304.
16. Shirota Y., Stöhlmacher J., Brabender J. et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19, № 23. P. 4298–4304.
17. Dervieux T., Meshkin B., Neri B. Pharmacogenetic testing: proofs of principle and pharmacoeconomic implications // *Mutat. Res.* 2005. Vol. 573 (1–2). P. 180–94.

References

1. Keighley M. R. B. Gastrointestinal cancers in Europe. *Alim. Pharmacol. Ther.* 2003. Vol. 18, No 3. P. 7–30.
2. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *J. Cell.* 2011. Vol. 144. P. 646–674.
3. Stöhlmacher J. Pharmacogenetics in gastrointestinal tumors. *Onkologie.* 2005. Vol. 28. P. 435–440.
4. Al-Shammaa Hassan Alaa H., Li Y., Yonemura Y. Current status and future strategies of cytoreductive surgery plus intraperitoneal hyperthermic chemotherapy for peritoneal carcinomatosis. *World J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 14. No 8. P. 1159–1166.
5. D'Angelica M., Gonen M., Brennan M. F. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma. *Ann Surg.* 2004. Vol. 240. No 5. P. 808–816.
6. Watters J.W., McLeod H. L. Cancer pharmacogenomics: current and future applications. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. Vol. 1603 (2). P. 99–111.
7. Longley D. B., Harkin D. P., Johnston P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat. Rev. Cancer.* 2003. Vol. 3 (5). P. 330–338.

8. Aschele C., Lonardi S., Monfardini S. Thymidylate Synthase expression as a predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy in advanced colorectal cancer. *Cancer. Treat. Rev.* 2002. Vol. 28 (1). P. 27–47.
9. Formentini A., Henne-Bruns D., Kornmann M. Thymidylate synthase expression and prognosis of patients with gastrointestinal cancers receiving adjuvant chemotherapy: a review. *Langenbecks. Arch. Surg.* 2004. Vol. 389 (5). P. 405–413.
10. Gonen M., Hummer A., Zervoudakis A., et al. Thymidylate synthase expression in hepatic tumors is a predictor of survival and progression in patients with resectable metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2003. Vol. 21 (3). P. 406–412.
11. Smorenburg C., Peters G., van Groeningen C., et al. Phase II study of tailored chemotherapy for advanced colorectal cancer with either 5-fluorouracil and leucovorin or oxaliplatin and irinotecan based on the expression of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase. *Ann. Oncol.* 2006. Vol. 17 (1). P. 35–42.
12. Toi M., AtiqurRahman M., Bando H., et al. Thymidine phosphorylase (platelet-derived endothelial-cell growth factor) in cancer biology and treatment. *Lancet. Oncol.* 2005. Vol. 6 (3). P. 158–166.
13. Kidd E.A., Yu J., Li X., et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (7). P. 2612–2619.
14. Kidd E. A., Yu J., Li X., et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (7). P. 2612–2619.
15. Shirota Y., Stoehlmacher J., Brabender J., et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19 (23). P. 4298–4304.
16. Shirota Y., Stoehlmacher J., Brabender J., et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19, No 23. P. 4298–4304.
17. Dervieux T., Meshkin B., Neri B. Pharmacogenetic testing: proofs of principle and pharmacoeconomic implications. *Mutat. Res.* 2005. Vol. 573 (1–2). P. 180–94.

Статья поступила в редколлегию 17.10.2018
Received by editorial board 17.10.2018

УДК: 612.821.3:577.170:546.15

ИЗУЧЕНИЕ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ СЕЛЕНА, ЙОДА, ЖЕЛЕЗА И ЦИНКА НАСЕЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ РЕГИОНОВ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ С ВЫСОКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

С. В. ПЕТРЕНКО¹, Б. Ю. ЛЕУШЕВ¹, Л. С. ГУЛЯЕВА², Д. А. НИКИТИН³, С. В. ЛАПТЕНОК⁴

¹Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь,

²Белорусский государственный медицинский университет,
пр. Держинского, 83, 220117, г. Минск, Беларусь,

³УЗ «6-ая городская клиническая больница»,
ул. Уральская, 5, 220037, г. Минск, Беларусь,

⁴Белорусский национальный технический университет,
пр. Независимости, 65, 220013, г. Минск, Беларусь

В Республике Беларусь принимаются профилактические меры по ликвидации йодного дефицита, однако нами установлено, что содержание йода в организме детей школьного возраста в 2018 г. из Брестской обл. является самым низким из всех регионов страны. Показатель экскреции йода с мочой составляет 117,0 мкг/л при значении республиканского показателя равным 191,3 мкг/л. Распространенность йодного дефицита, то есть распределение детей с недостаточным содержанием йода в организме (менее 100 мкг/л), составляет 39,9 %, в то время как республиканский показатель равен 25,9 %. Причина недостаточного йодного обеспечения: только 33,1 % обследованных детей регулярно употребляют йодированную соль. Распространенность простого зоба составила 11,2 %, а республиканский показатель равен 8,5 %. Отмечены высокие показатели распространенности сонографических признаков аутоиммунного тиреоидита. В г. Береза они составили 22 % у детей и 20 % – у беременных женщин, йодированную соль регулярно употребляют 22 % обследованных школьников и 36 % беременных женщин. У детей из школы-интерната в г. п. Телеханы содержание йода в организме еще ниже – медиана экскреции йода с мочой – 97,2 мкг/л, при норме свыше 100 мкг/л, зоб выявлен у 14,4 %, а подозрение на АИТ установлено у 12,9 % детей,

Образец цитирования:

Петренко С. В., Леушев Б. Ю., Гуляева Л. С., Никитин Д. А., Лаптенко С. В. Изучение обеспеченности микроэлементами селена, йода, железа и цинка населения различных экологических регионов Республики Беларусь с высокими показателями заболеваемости щитовидной железы // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 109–118.

For citation:

Petrenko S. V., Leushev B. Yu., Gulyaeva L. S., Nikitin D. A., Laptенок S. A. Se, I, Fe, and Zn supply in population of various ecological regions of the Republic of Belarus with high incidence of thyroid disorders. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 109–118 (in Russ.).

Авторы:

Сергей Владимирович Петренко – кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник.

Борис Юрьевич Леушев – кандидат медицинских наук, доцент, научный сотрудник.

Людмила Станиславовна Гуляева – кандидат медицинских наук, доцент; доцент кафедры «Акушерство».

Дмитрий Анатольевич Никитин – кандидат медицинских наук; заведующий отделением 6-ой городской клинической больницы.

Сергей Антонович Лаптенко – кандидат технических наук, доцент кафедры «Экология».

Authors:

Seregej V. Petrenko, PhD (medical), associate professor; leading research fellow.

tpetrenko51@yahoo.com

Boris Yu. Leushev, PhD (medical), associate professor; research fellow.

leushevb@gmail.com

Ludmila S. Gulyaeva, PhD (medical), associate professor; associate professor of the department «Obstetrics».

ginecolog@bsmu.by

Dmitrij A. Nikitin, PhD (medical); head of the department of 6th City Clinical Hospital.

uz6gk@tu.by

Sergej A. Laptенок, PhD (technical); associate professor of the department «Ecology».

267413@mail.ru

распространенность йодного дефицита составила 54 %. Содержание йода в организме регулируется частотой употребления йодированной соли и в меньшей степени другими компонентами рациона. Содержание йода, селена, цинка и железа в молоке со своего подворья в г. Береза (Брестская обл.) снижено на 58,5; 40; 7,5 и 19,7 % соответственно. В организме детей из г. Береза в волосах установлено также сниженное содержание микроэлементов цинка на 31,4 % и селена на 61,7 % от контроля. Уровень железа находился в пределах нормальных значений.

Ключевые слова: медиана экскреции йода; зоб; дети; беременные женщины.

Благодарность. Авторы выражают благодарность за поддержку научных исследований следующим организациям: Представительству Белорусского Детского Фонда ООН (UNICEF); Представителям Международной Организации «Глобальная Сеть по Йоду» (IGN); Министерству образования Республики Беларусь.

SE, I, FE, AND ZN SUPPLY IN POPULATION OF VARIOUS ECOLOGICAL REGIONS OF THE REPUBLIC OF BELARUS WITH HIGH INCIDENCE OF THYROID DISORDERS

S. V. PETRENKO^A, B. Yu. LEUSHEV^A, L. S. GULYEVA^B, D. A. NIKITIN^C, S. A. LAPTENOK^D

^ABelarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus,

^BBelarusian State Medical University,
Derzhynskij avenue, 83, 220117, Minsk, Belarus,

^CCity Clinical Hospital No. 6,
Uralskaja street, 5, 220037, Minsk, Belarus,

^DBelarusian National Technical University,
Nezavisimosty avenue, 65, 220013, Minsk, Belarus

Corresponding author: S. V. Petrenko (tpetrenko51@yahoo.com)

Regardless conducted preventive measures aimed at iodine deficiency elimination in Belarus, we have found that iodine concentration in the bodies of schoolchildren from Brest region in 2018 is the lowest one comparing to the other regions of the country. Iodine excretion with urine (ioduria) in the considered region is 117.0 $\mu\text{g} / \text{l}$, at that national index is equal to 191.3 $\mu\text{g} / \text{l}$. Iodine deficiency prevalence i.e. distribution of children with inadequate iodine concentration in the body (less than 100 $\mu\text{g} / \text{l}$) is 39.9 %, and this national index is 25.9 %. The reason of such situation could be explained by the fact that only 33.1 % of examined children use iodized salt. Prevalence of simple goiter is 11.2 %, at that the national index is 8.5 %. Sonographic signs of autoimmune thyroiditis were recorded in 22 % of schoolchildren and 20 % of pregnant women from the town of Bereza, where only 22 % of schoolchildren and 36 % of pregnant women used iodized salt. Iodine concentration in the children bodies from orphanage school of the town of Telekhany was even lower. Median value of iodine excretion in urine there was 97.2 $\mu\text{g} / \text{l}$, goiter was recorded in 14.4 %, signs of autoimmune thyroiditis was found in 12.9 % of children, and prevalence of iodine deficiency was 54 %. Iodine concentration in the body is regulated by the amount of iodized salt intake, and to less extend by other foodstuffs. Concentration of I, Se, Zn and Fe in milk from private courtyards in the town of Bereza (Brest region) was lower by 58,5; 40; 7,5 and 19,7 %, correspondingly. In the hair of schoolchildren from the town of Bereza decreased concentration of Zn by 31.4 % and Se by 61.7 % was recorded. Fe concentration was in norm range.

Key words: iodine excretion median; goiter; children; pregnant women.

Acknowledgment. The authors would like to thank the following organizations for supporting research: United Nations Children's Fund Belarus Office; Iodine Global Network (IGN); Ministry of Education of the Republic of Belarus.

Введение

Широкий спектр патологических состояний, обусловленных недостатком йода в организме в 1983 г. назван термином «йоддефицитные заболевания» (ЙДЗ) [1]. По данным ВОЗ, в мире на 1997 г. 740 млн чел. (13 %) страдало эндемическим зобом, у 11 млн чел. выявлены клинические признаки эндемического кретинизма, обусловленного врожденным, длительным и тяжелым йодным дефицитом, а еще 38 % жителей планеты проживают в условиях высокого риска развития заболеваний, вызванных недостатком йода в окружающей среде.

Как установлено в результате многолетних исследований, проводимых под эгидой ВОЗ и ЮНИСЕФ во многих странах мира [1], йодная недостаточность негативно влияет на развитие общества по двум направлениям. Во-первых, в своих клинических проявлениях, каковыми являются эндемический зоб и эндемический кретинизм; во-вторых, в «скрытых» эффектах – задержке психического и физического

развития, йодный дефицит охватывает многие миллионы людей и представляет собой глобальную проблему для здоровья населения нашей планеты [2].

Принимая во внимание чрезвычайно важную роль йодного дефицита в формировании нарушений репродуктивной функции и в снижении интеллектуального потенциала населения планеты, ООН в своей декларации о правах ребенка, принятой в сентябре 1990 г. в Нью-Йорке, поставила перед мировым сообществом задачу – ликвидировать к 2000 г. на Земле йодный дефицит.

Республика Беларусь является одной из 130 стран мира, в которых по определению ВОЗ, йододефицитные заболевания представляют собой глобальную проблему здравоохранения вследствие их повсеместной распространенности. Наличие зобной эндемии и других заболеваний щитовидной железы в Беларуси было известно еще в 20–30 гг. прошлого столетия [3]. Широкомасштабные работы по изучению и профилактике зобной эндемии, проведенные на протяжении 50–70-х годов XX в., позволили значительно снизить в Республике Беларусь распространенность и тяжесть клинических проявлений патологии щитовидной железы [4]. Однако с начала 80-х годов массовая профилактика йододефицита была практически прекращена, что явилось одной из важнейших причин формирования после аварии на Чернобыльской АЭС чрезвычайно высоких уровней поглощенных доз облучения щитовидной железы радиоизотопами йода у значительной части населения и, особенно у беременных и кормящих женщин, а также у детей и подростков. Биологические эффекты влияния радиоiodа на фоне дефицита стабильного йода привели к росту заболеваемости щитовидной железы, в том числе и онкопатологией [5; 6], что потребовало незамедлительных мероприятий по детальному изучению распространенности и профилактике йододефицитных расстройств на всей территории республики.

В результате проведенного первого национального исследования по изучению йодной недостаточности и распространенности зоба у детей в 1996–1999 гг. был выявлен йодный дефицит средней степени тяжести, с медианой экскреции йода с мочой равной 44,5 мкг/л при нормативе ВОЗ у детей – 100–300 мкг/л. Йодный дефицит у детей имел мозаичный характер и хорошо коррелировал с распространенностью зобной эндемии [7]. Периодическое употребление йодированной соли было зарегистрировано только у 30–40 % обследованных детей, индивидуальная и групповая профилактика препаратами йода практически не проводилась.

Степень выраженности зобной эндемии и йодного дефицита у детей из регионов Беларуси, в соответствии со стандартами ВОЗ, оценивалась как средняя тяжесть – тяжелая и требовала проведения срочных профилактических противозобных мероприятий. Проведенные авторским коллективом исследования явились научным обоснованием для принятия Постановления Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь № 11 от 21.03.2000 г. и Постановления Совета Министров Республики Беларусь № 484 от 6.04.2001 г. [8] «О предупреждении заболеваний, связанных с дефицитом йода», в которых указывалось обязательное наличие йодированной соли в торговой сети, а для производителей была определена йодосодержащая добавка – йодат калия – как источник йода и нормировалось содержание йода в пищевой соли (40 ± 15 мг/кг), а также определена система контроля за производством и продажей йодированной соли. В соответствии с указанными постановлениями в нашей стране при содействии Представительства ЮНИСЕФ в Республике Беларусь проведено переоснащение производителей йодированной соли (ОАО «Мозырьсоль» и ПО «Беларуськалий»), а санитарной службой республики проведено нормирование и осуществляется выборочный мониторинг за содержанием йода в пищевых рационах различных групп населения [9]. В настоящее время йодированная соль используется при производстве большинства пищевых продуктов (за исключением сыров и сырных продуктов, продуктов переработки океанических рыб и морепродуктов). Таким образом, в Беларуси решение поставленной задачи – ликвидация йодного дефицита – обеспечено в результате внедрения подзаконных актов и последующим принятием Закона № 217-З от 29.06.2003 г. «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека», что обеспечило достижение уровня адекватного потребления йода с продуктами питания.

Как установлено, в настоящее время дисбаланс микроэлементов, формирующийся в организме в результате поступления недостатка/или избытка таких микроэлементов, как йод, селен, железо и в меньшей степени – магний, цинк и медь, является экологическим фактором, влияющим на формирование патологии щитовидной железы [10; 11]. В то время, как йодный дефицит в Республике Беларусь ликвидирован, рост показателей заболеваемости щитовидной железы в стране продолжается, что свидетельствует о том, что, кроме йодного дефицита, существуют другие природные факторы, например, дефицит селена, способствующий персистенции патологии щитовидной железы. Селен является активным центром ферментов дейодиназ, регулирующих синтез активного Т3 из неактивного Т4 в крови, а также переводящих Т4 в неактивную форму гормона-реверсивный Т3. Кроме того, селен входит в активный центр другого фермента – глутатионпероксидазы, защищающего щитовидную железу и организм в целом

от оксидативного стресса, инактивируя перекись водорода и свободные радикалы [12]. При дефиците селена формируется недостаток дейодиназ, снижается образование ТЗ, приводящее к стимуляции гипоталамо-гипофизарной системы и увеличению синтеза тиреотропного гормона, который в свою очередь стимулирует образование перекиси водорода в железе, что вызывает развитие фиброза [13]. Популяционным исследованием [14] установлено, что в регионе с достаточным потреблением селена статистически реже встречается субклинический гипотиреоз, манифестный гипотиреоз и аутоиммунный тиреоидит. Суммарно распространенность этих заболеваний была почти в 2 раза меньше в регионе с достаточным обеспечением селеном по сравнению с селенодефицитным регионом [14].

Применение препаратов селена оказалось эффективным для снижения сонографических признаков АИТ и продукции антител к тиреоидпероксидазе и тиреоглобулина [15;16]. Недостаток селена в организме в сочетании с дефицитом йода ассоциирован с повышенным риском как диффузного, так и узлового зоба [10; 17]. Из ряда исследований следует, что сниженное содержание селена в ткани щитовидной железы установлено при раке и узловом зобе [18]. В то же время не было получено достаточно убедительных доказательств генетической предрасположенности к развитию АИТ, тогда как намного большее значение для развития аутоиммунного тиреоидита играет дисбаланс микроэлементов йода и селена [19]. Литературные данные о содержании селена в продуктах питания жителей Республики Беларусь свидетельствуют о том, что его концентрация в 10–50 раз ниже, чем в аналогичных продуктах из России и Украины, а среднее ежедневное потребление селена в стране может быть в 4–5 раз ниже, чем рекомендовано ВОЗ [20]. Кроме того, как показано многолетними исследованиями, селен обладает существенным онкопротекторным эффектом, действующим на молекулярном уровне и стабилизирующим геном организма [21].

Анализ индикаторов, определяемых ВОЗ, включающих медиану экскреции йода с мочой у школьников, беременных на национальном и/или субнациональном уровне более 100 мкг/л; долю хозяйств, использующих адекватно йодированную соль; меры по изменению подходов к йодированию соли; долю йодированной соли, покрывающую потребность страны местной продукцией или за счет импорта; отсутствия различий в цене йодированной и нейодированной соли; наличие национального закона об использовании йодированной соли; тестирование образцов соли на содержание в них достаточного количества йода и др., позволил экспертам рекомендовать Международному совету по контролю за йододефицитными заболеваниями (ICCIDD) отнести в 2013 г. Беларусь к странам с адекватной йодной обеспеченностью [22].

Цель настоящего исследования – изучение обеспеченности микроэлементами селена, йода, железа и цинка населения различных экологических регионов Беларуси с высокими показателями заболеваемости щитовидной железы.

Материалы и методы исследования

Исследования 2017–2018 гг. проводились в группах детей в возрасте 9–12 лет обоих полов, а также включали 1014 практически здоровых детей. Вторую группу обследованных составляли 700 практически здоровых беременных женщин. Всего обследовано 1714 человек, проживающих в 16 населенных пунктах Республики Беларусь.

Степень обеспеченности йодом организма устанавливалась по содержанию йода в утренней порции мочи, которое определялось спектрофотометрическим церий-арсенитным методом, рекомендованным ВОЗ [23]. Статус тиреоидной системы оценивался по УЗИ щитовидной железы с использованием портативного сканера «Медисон», оснащенного линейным датчиком 7,5 Мгц. Полученные размеры щитовидной железы сравнивались с национальными нормативами, принятыми в системе Минздрава Республики Беларусь. Оценка путей поступления йода в организм осуществлялась методом анкетирования. Содержание микроэлементов (железа, селена, меди и цинка) в образцах продуктов питания (молоко) и образцах волос, весом 100–300 мг, состриженных с затылочной части головы, осуществлялась методом рентгено-флуоресцентного анализа с использованием спектрометра «Elva X» [24]. Измерение содержания микроэлементов проводили согласно инструкции фирмы-производителя, а статистическую обработку – методом непараметрической статистики с расчетом медианы вариационных рядов.

Результаты исследования и их обсуждение

По данным официальной статистики Министерства здравоохранения Республики Беларусь (Сравнительная характеристика деятельности эндокринологической службы Республики Беларусь 2007–2017 гг.), в Гомельской обл. за последние 8 лет установлены высокие темпы прироста показателей заболеваемости простым зобом у детей и подростков над годовыми республиканскими показателями (рис. 1). Прирост показателей заболеваемости простым зобом в 2007–2008 гг. составлял 314,29, а в 2015–2016 гг. – 447,12 на 100 тыс. населения. На этот период в Могилевской области прирост заболеваемости

простым зобом был намного меньше и составил в 2007–2008 гг. – 92,91, а в 2015–2016 гг. – 137,54 случаев на 100 тыс. населения. Таким образом, если в Могилевской области разница в приросте показателей в указанные временные параметры составила 44,62 случаев, то в Гомельской области – 132,83 случаев на 100 тыс. населения, то есть в 2,98 раза выше.

В то же время в Брестской и Гродненской областях отмечено снижение показателей заболеваемости простым зобом у детей. Показатели заболеваемости по Брестской обл. в 2007–2009 гг. были ниже на 27,78 чел. на 100 тыс. чел, а в 2015–2016 уже на 131,12 чел. на 100 тыс. детского населения, чем по стране в целом. Аналогично снижение показателей заболеваемости простым зобом установлено у детей из Гродненской обл. За 10 лет прирост над республиканским фоном показателя заболеваемости простым зобом снизился на 109,29 детей на 100 тыс. детского населения.

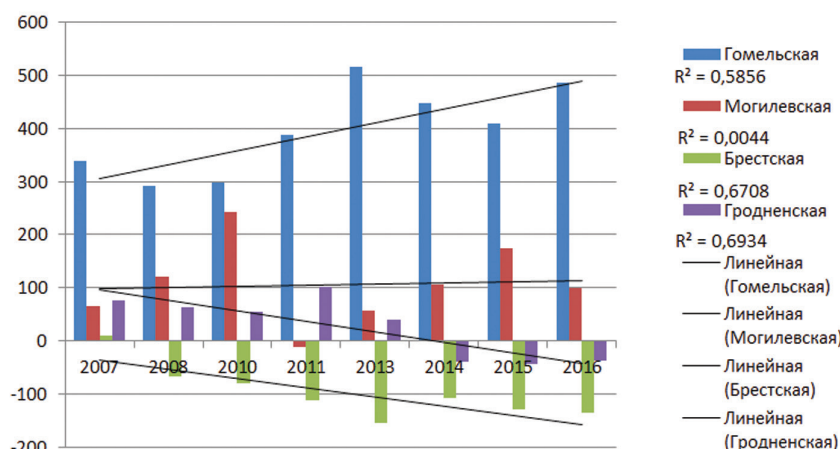


Рис. 1. Прирост показателей заболеваемости детского населения простым (эндемическим) зобом (на 100 тыс. детского населения) в Гомельской, Могилевской, Брестской и Гродненской областях над республиканскими годовыми показателями

Fig. 1. Growth of the endemic goiter incidence of the child population (per 100 thousand children's population) in the Gomel, Mogilev, Brest and Grodno regions over the national annual rates

Показана устойчивая тенденция к снижению прироста показателей заболеваемости узловым зобом у детей Гомельской области с 45,58 в 2007–2009 гг., до 25,71 в 2015–2016 гг. над общереспубликанскими значениями (рис. 2.). В то же время, в Могилевской, Брестской и Гродненской областях отмечена противоположная картина – тенденция устойчивого прироста показателей заболеваемости узловым зобом над республиканскими показателями. В Могилевской области этот показатель вырос на 24,5, а в Гродненской области на 13,29 чел на 100 тыс. детского населения.

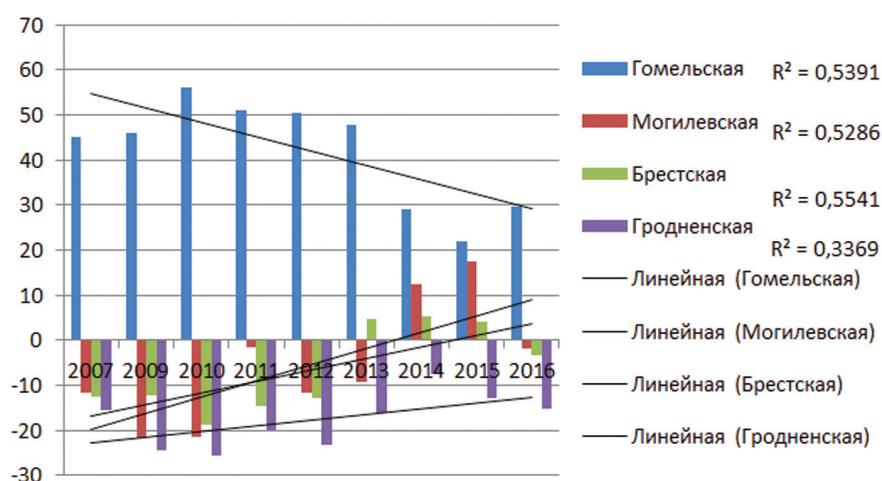


Рис. 2. Прирост показателей заболеваемости детского населения узловым зобом (на 100 тыс. детского населения) в Гомельской, Могилевской, Брестской и Гродненской областях над республиканскими годовыми показателями

Fig. 2. Growth of the nodular goiter incidence of the child population (per 100 thousand children's population) in the Gomel, Mogilev, Brest and Grodno regions over the national annual rates

Прирост показателей заболеваемости раком щитовидной железы значительно снизился в Гомельской и Гродненской областях (рис. 3, нижние столбики), в то время как в Могилевской и Брестской областях отмечается существенный прирост показателей рака щитовидной железы у детей (рис. 3, верхние столбики).

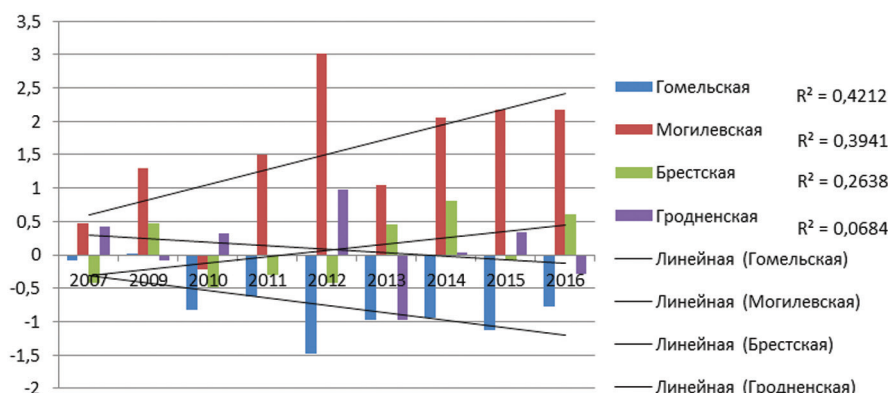


Рис. 3. Прирост показателей заболеваемости детского населения раком щитовидной железы (на 100 тыс. детского населения) в Гомельской, Могилевской, Брестской и Гродненской областях над республиканскими годовыми показателями

Fig. 3. Growth of the thyroid cancer incidence of the child population (per 100 thousand children's population) in the Gomel, Mogilev, Brest and Grodno regions over the national annual rates

По Брестской области среди взрослых регистрируется рост показателей заболеваемости раком щитовидной железы, ежегодно выявляется до 250 пациентов с данной патологией. В 2016 г. заболеваемость раком щитовидной железы составила 20,78 чел. на 100 тыс. населения. Это практически в 3,5 раза больше, чем в Гродненской обл. и в два раза выше значения республиканского показателя (belta.by).

Таким образом, показатели заболеваемости простым эндемическим зобом растут, в то время как показатели заболеваемости узловым зобом у детей в Гомельской обл. снижается. В то же время по Могилевской, Брестской и Гродненской областях динамика показателей по исследованным нозологическим формам диаметрально противоположена Гомельской обл. Показатели заболеваемости раком щитовидной железы у детей достоверно выросли за изученный период в Могилевской и Брестской областях. Динамика показателей первичной заболеваемости зобом (на 100 тыс.), медианы экскреции йода (мкг/л) и частота потребления йодированной соли (%) у детей и подростков Беларуси в 1998–2016 гг. приведены на рис. 4.

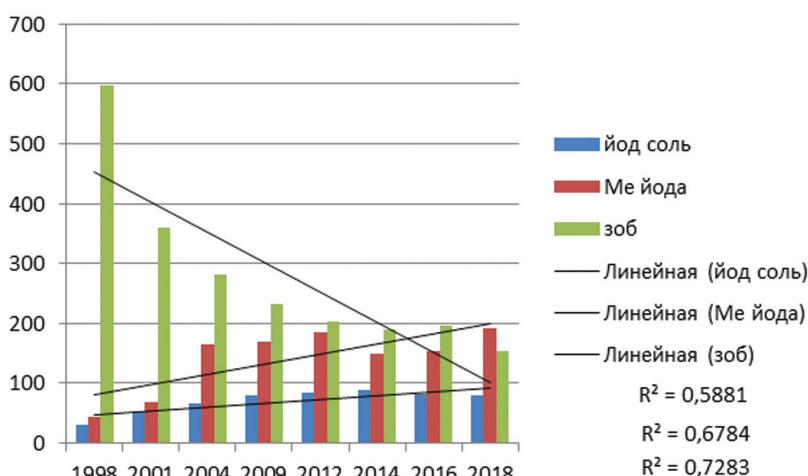


Рис. 4. Показатели первичной заболеваемости зобом (на 100 тыс.), медианы экскреции йода (мкг/л) и потребления йодированной соли (%) у детей и подростков Беларуси в 1998–2018. (в графе 2018 г. использованы данные по заболеваемости зобом у детей за 2017 г.).

Обозначения: 1) потребление йодированной соли (%); 2) медиана экскреции йода (мкг/л); 3) распространенность зоба (на 100,000 детского населения).

Fig. 4. Goiter prevalence (in per cent, on 100.000 population, bars No 1), median of urinary iodine excretion (μg/L, bars No 2) and amount of household iodized salt (in per cent, bars No 3) in school-children of Belarus. (In the data for 2018 the goiter prevalence figure presented for 2017).

Динамика показателей йодного обеспечения детского населения Беларуси по результатам национальных исследований представлена в табл. 1.

Таблица 1

Сравнительный анализ показателей обеспеченности питания йодом и распространенность заболеваемости зобом детского населения Беларуси в 1997, 2006 и 2018 гг.

Table 1

Comparative analysis of food supply with iodine and the prevalence of goiter incidence in the child population of Belarus in 1997, 2006 and 2018

Область	Медиана экскреции йода с мочой, мкг/л			Распространенность йодного дефицита, %			Распространенность зоба по УЗИ в %		
	1997	2006	2018	1997	2006	2018	1997	2006	2018
Гродненская	47,0	199,3	171,4	78,8	6,1	22,7	17,4	16,0	8,1
Брестская	27,3	166,9	117,0	92,1	24,8	39,9	27,8	16,8	11,2
Гомельская	79,8	169,3	193,4	61,8	8,4	19,3	5,6	11,2	6,7
Могилевская	49,0	191,2	287,5	79,0	14,0	22,4	14,3	11,5	2,8
Витебская	40,3	188,7	190,8	85,1	14,4	26,0	23,4	5,0	15,5
Минская	38,1	166,5	186,5	88,7	17,9	26,0	14,6	15,4	6,7
Беларусь	44,5	179,2	191,3	80,9	14,0	25,9	17,2	12,8	8,5

Как следует из табл. 1, медианная концентрация йода в моче (Me) в целом по Республике Беларусь незначительно увеличилась по сравнению с 2006 г. и остается стабильной. Все обследованные группы детей в областях имели адекватное йодное обеспечение. Распространенность йодного дефицита в целом по стране с 2006 г. увеличилась (с 14,0 % до 25,9 %), то есть большее число детей стало попадать в категорию с экскрецией йода с мочой менее 100 мкг/л, а рост медианы объясняется ростом числа детей с экскрецией йода более 300 мкг/л, то есть происходит расслоение групп детей по йодному питанию. Основной причиной, объясняющей рост распространенности йододефицита, является снижение числа детей и, соответственно, их семей употребляющих в пищу йодированную соль. Если в 1996–1999 гг. в целом по республике только 30–40 % населения использовало дома йодированную соль, а в 2006 г. уже 93,6 % жителей использовали йодированную соль, из них постоянно – 63 %, то в 2018 г. употребление йодированной соли в семьях снизилось до 81,25 %, а регулярное ее употребление установлено у 46,3 % респондентов. Несмотря на это, как видно по росту медианы экскреции йода с мочой, произошло улучшение йодного обеспечения населения. Определенную роль в этом, по-видимому, сыграл рост употребления в пищу продуктов промышленного производства (колбасы, консервированные продукты и т. д.), производимых с использованием йодированной соли. Если в 2006 г. 73,4 % обследованного населения употребляло основные продукты питания (мясо, молоко, сало, картофель) со своего подворья, то в 2018 г. – только 30,3 % обследованных семей по стране питались основными продуктами со своего хозяйства.

Распространенность зоба как по областям, так и в целом по Республике Беларусь достоверно снизилась с 17,2 % до 12,8 %, а в 2018 г. этот показатель составил 8,5 %. Если степень тяжести йододефицита в общем, по стране в 1999 г. определялась как средняя, то в 2006 и 2018 гг. она оценивалась уже как легкая.

Таблица 2

Источники поступления йода в организм, содержание йода в организме (по медиане экскреции йода с мочой) у детей 9–12 лет Республики Беларусь в 2017–2018 гг.

Table 2

Sources of iodine intake, iodine concentration in the body (by the median iodine excretion in the urine) in children of 9–12 years of Belarus in 2017–2018

Область, населенный пункт	Чел.	Употребление йодированной соли, %		Медиана йода, мкг/л
		всего	постоянно	
Гродненская	150	87,0	48,8,0	171,4
Брестская	154	89,3	33,1	117,0
Гомельская	150	84,6	50,0	193,4
Могилевская	167	73,8	65,4	287,5
Витебская	102	70,1	26,5	190,8
Минская	150	78,7	54,0	186,5
Минск	50	84,0	50,0	204,5
Беларусь	873	81,25	46,3	191,3

Таким образом, как представлено в табл. 2, наименьшее число респондентов, регулярно употребляющих йодированную соль, установлено в Брестской и Витебской областях, а наиболее максимальное число респондентов, регулярно употребляющих йодированную соль, выявлено в Могилевской и Минской областях. Полученные результаты согласуются с полученными значениями Ме экскреции йода с мочой в этих областях.

В настоящем исследовании впервые в стране проведено обследование состояния йодного обеспечения беременных женщин на национальном уровне. Полученные в 2018 г. результаты свидетельствуют о существовании йодного дефицита у беременных женщин Беларуси. Норматив ВОЗ по Ме для беременных женщин составляет 250–400 мкг йода в сутки. По полученным нами результатам, значение Ме у беременных женщин страны равно 121,2 мкг/л, с наибольшими значениями в Могилевской обл. – 147,0 и в г. Черикове – 242,5 мкг/л и наименьшими значениями в Витебской и Гомельской областях – 104,5 и 113,3 мкг/л соответственно. Выраженный йодный дефицит обнаружен у беременных женщин г. Лепеля с Ме 73,5 мкг/л и г. Кормы – 85,0 мкг/л. Высокая частота распространенности йодного дефицита (Ме мене 20 мкг/л) установлена у 16,0 % женщин из г. Лепеля и Верхнедвинска, и у – 14,0 % женщин из г. Ветки. Распространенность зоба высокая у женщин из г. Кормы – достигает 26,0 % и г. Лепеля – 24,0 %. В среднем по Беларуси этот показатель у беременных женщин составляет 15,1 %.

Исследование причин недостаточного йодного обеспечения беременных женщин показало, что только 42,0 % респондентов из г. Кормы и 62,0 % из Верхнедвинска и г. Минска периодически используют йодированную соль, а постоянно используют йодированную соль значительно меньше женщин (в Верхнедвинске и Лепеле только 16,0 %, в г. Мяделе – 18,0 %). Отмечена недостаточная информированность беременных женщин о пользе йодированной соли для развития плода: только 28,7 % женщин нашей страны регулярно используют в питании йодированную соль.

Другая важная причина формирования дефицита йода в организме беременных – недостаточный прием йодных препаратов (йодомарин, йодбаланс), которые назначаются в настоящее время в Беларуси всем беременным. Так, в Корме только 16,0 %, Любани – 20,0 %, в Лепеле и Наровле – 24,0 % беременных женщин принимают йодсодержащие препараты. В целом по Беларуси йодные препараты принимают 55,5 % беременных женщин. В качестве положительного примера можно указать г. Чериков, где 100,0 % женщин используют йодные препараты. Содержание йода в организме у них составляет 242,5 мкг/сутки, что практически соответствует требованиям ВОЗ.

Проведенные корреляционные исследования показали, что у детей содержание йода в организме достоверно ($p < 0,05$) положительно коррелировало с частотой постоянного употребления йодированной соли с коэффициентом, по Пирсону, равным 0,495. У беременных женщин установлена очень тесная достоверная ($p < 0,01$) положительная корреляционная взаимосвязь между частотой приема йодсодержащих препаратов и содержанием йода в организме с коэффициентом, по Пирсону, равным 0,803.

С целью определения содержания изучаемых микроэлементов нами был проведен сбор 45 образцов волос и 45 образцов молока из частных хозяйств, употребляемого детьми, проживающими в населенных пунктах г. Береза и г. п. Телеханы Брестской обл. Полученные результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Значение медианы микроэлементов в молоке, употребляемого детьми из районов с высоким уровнем заболеваемости аутоиммунным тиреоидитом Брестской области (n = 45).

Table 3

The median rate of trace elements in milk consumed by children from areas with a high incidence of autoimmune thyroiditis in the Brest region (n = 45).

№	Микроэлементы	Референтное значение (Ме)	Результат (Ме) молоко	Изменение в %
1	Железо, мкг/кг	80,0	65,0 (65,8±1,35)	Ниже на 19,7
3	Цинк, мг/кг	4,0	3,7 (3,95±0,06)	Ниже на 7,5
4	Селен, мкг/кг	20,0	12,0 (12,26±0,28)	Ниже на 40,0
5	Йод, мкг/кг	190,0	79,0 (78,3±0,9)	Ниже на 58,5

Таким образом, установлено, что содержание всех изученных микроэлементов в молоке из обследованных частных хозяйств снижено. Наиболее выраженное снижение установлено по содержанию йода на 58,5 % и селена на – 40,0 % по отношению к нормативным значениям.

Результаты, представленные в табл. 4, указывают на сниженное содержание микроэлементов цинка – на 31,4 % и селена на 61,7 %, по отношению к нормативным данным у детей из Брестской обл. Уровень железа находился в пределах нормальных значений.

Таблица 4

Значение медианы микроэлементов в волосах детей из районов с высоким уровнем заболеваемости аутоиммунным тиреоидитом Брестской области (n = 45).

Table 4

The median rate of trace elements in the hair of children from areas with a high incidence of autoimmune thyroiditis in the Brest region (n = 45).

Элемент	Me	M±m (Изменение в %)	Референтные значения (Me)
Железо, мкг/кг	20,0	21,35±1,04 (нет)	13,0–27,0 (20,0)
Селен, мкг/кг	0,59	0,597±0,02↓ (61,7%)	0,65–2,43 (1,54)
Цинк, мкг/кг	95,0	95,2±3,06↓ (31,4%)	94–183 (138,5)

Таким образом, полученные результаты подтверждают выводы других авторов о существовании выраженного дефицита йода, селена и цинка в молоке со своих подворьев, наличии дефицита цинка и селена, а также в меньшей степени йода в организме детей из регионов с высокой заболеваемостью щитовидной железы. Вышесказанное свидетельствует о необходимости детального и дальнейшего изучения роли этих микроэлементов в росте показателей заболеваемости щитовидной железы в Республике Беларусь.

Заключение

1. Белорусская модель ликвидации йодного дефицита, основанная на облигатном использовании йодированной соли в промышленном производстве продуктов питания, показала свою многолетнюю эффективность у населения, а также и в одной группе риска по развитию йододефицита – у детей школьного возраста.

2. Установлена необходимость дополнительного использования препаратов йода беременными женщинами в сельских регионах, обусловленная недостаточной информированностью этой категории населения о пользе йодированной соли, употреблении ее на регулярной основе (по нашим данным, используют только 28,7 % респондентов) и приема йодных препаратов (по нашим данным, получают только 55,5 % женщин).

3. Необходимо активировать пропагандистскую работу о пользе регулярного употребления йодированной соли среди всех слоев населения, особенно среди беременных женщин из сельских регионов.

4. Необходимо расширить исследования по влиянию микроэлемента селена на показатели заболеваемости, особенно аутоиммунной патологии щитовидной железы. На республиканском уровне рассмотреть возможность формирования отдельной программы по изучению селеновой обеспеченности населения.

Библиографические ссылки

1. Delange F., Robertson A., McLoughney E., et al. Elimination of Iodine Deficiency Disorders (IDD) in Central and Eastern Europe, the Commonwealth of Independent States, and the Baltic States. Geneva, 1998. P. 1–168.
2. Delange F. Iodine deficiency as a cause of brain damage // Postgrad. Med. J. 2001. Vol. 77. P. 217–220.
3. Дразнин Н. М. К вопросу о зобной болезни в Белоруссии // Здравоохран. Белоруссии. 1956. № 7. С. 3–7.
4. Герасимов Г. А. Йододефицитные заболевания (ЙДЗ) в Российской Федерации: политика в области профилактики и тенденция в эпидемиологической ситуации (1950–2002). М., 2003.
5. Герасимов Г. А., Фигге Д. Чернобыль двадцать лет спустя. Клиническая и экспериментальная тиреоидология. 2006. Т. 2. С. 5–14.
6. Robbins J., Dunn J. T., Bouville A., et al. Iodine Nutrition and Risk from Radioactive Iodine: A Workshop Report in the Chernobyl Long-Term Follow-Up Study // Thyroid. 2001. No 11(5). P. 487–491.
7. Arinichin A., Gembicki M., Moschik K., et al. Goiter Prevalence and Urinary Iodine Excretion in Belarus Children Born after the Chernobyl Accident, IDD // News Letter. 2000. Vol. 16., No 1. P 7–9.
8. Постановление Совета Министров Республики Беларусь № 484 от 6 апреля 2001 г. «О предупреждении заболеваний, связанных с дефицитом йода». Минск, 2001.
9. Петренко С. В., Мохорт Т. В. Опыт успешной ликвидации йодного дефицита у населения Беларуси. Минск, 2013.
10. Zimmermann M. B., Kohrle J. The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: biochemistry and relevance to public health // Thyroid. 2002. Vol. 12 (10). P. 867–878.
11. Кубасова Е. Д. Физиологическая характеристика биоэлементного статуса и его влияние на состояние щитовидной железы детей Архангельской области: дис. ... канд. биол. наук. Архангельск, 2007.
12. Schomburg L. Selenium, Selenoproteins, and thyroid gland: interactions in health and disease // Nature Reviews Endocrinology. 2012. Vol. 8(3). P. 160–171.
13. Saranac L., Zivanovic S., Bjelakovic B., et al. Why is thyroid so prone to autoimmune disease? // Hormone research in pediatrics. 2011. Vol. 75(3). P. 157–165.

14. Wu Q., Rayman M. P., Lu H., Schomburg L., et al. Low population selenium status is associated with increased prevalence of thyroid disease // *J. Clin Endocrinol Metab.* 2015. Vol. 100. P. 4037–4047.
15. Gatner R., Gasnier B. C., Dietrich J. W., et al. Selenium supplementation in patient with autoimmune thyroiditis decreases thyroid peroxidase antibodies concentrations // *The J. of clinical endocrinology and Metabolism.* 2002. Vol. 87 (4). P. 1687–1691.
16. Turker O., Kumanlioglu K., Karapolat I., et al. Selenium treatment in autoimmune thyroiditis: 9-month follow-up with variable doses // *J. Endocrinol.* 2006. Jul;190(1):151–6.
17. Rasmussen L. B., Schomburg L., Kohrle J., et al. Selenium status, thyroid volume, and multiple nodule formation in area with iodine deficiency // *European J. of Endocrinology.* 2011. Vol. 164 (4). P. 585–590.
18. Jonklaas J., Daniels M., Wang H. A pilot study of serum selenium, vitamin D, and thyrotropin concentration in patient with thyroid cancer // *Thyroid.* 2013. Vol. 23 (9). P. 1079–1086.
19. Rapoport B., McLachlan S. M. Thyroid autoimmunity // *J. Clin. Invest.* 2001. Nov. 1;108(9): 1253–1259.
20. Зайцев В. А., Коломиец Н. Д., Мурохов В. И. Содержание селена в основных пищевых продуктах, потребляемых населением Беларуси // *Питание и обмен веществ: сб. науч. ст. Гродно, 2002. С. 34–45.*
21. Beckett G. V., Arthur J. R. Selenium and endocrine systems // *J. Endocrinol.* 2005. – 184(3). – P. 455–465.
22. American Thyroid Association (ATA) Issues Statement On The Potential Risks Of Excess Iodine Ingestion And Exposure. 2013. Jun 5,
23. Данн Д., Ф. ван дер Хаар. Практическое руководство по устранению йодной недостаточности: техническое пособие № 3. ICCIDD, UNICEF, WHO. 1994.
24. Маленченко А. Ф., Бажанова Н. Н., Канаши Н. В. и др. Содержание плутония и некоторых микроэлементов в волосах жителей Беларуси, проживающих на территории, пострадавшей при аварии на Чернобыльской АЭС // *Гигиена и санитария.* 1997. № 5. С. 19–22.

References

1. Delange F., Robertson A., McLoughney E., et al. Elimination of Iodine Deficiency Disorders (IDD) in Central and Eastern Europe, the Commonwealth of Independent States, and the Baltic States. *Geneva*, 1998. P. 1–168.
2. Delange F. Iodine deficiency as a cause of brain damage. *Postgrad. Med. J.* 2001. Vol. 77. P. 217–220.
3. Drasnin N. M. [K voprosu o zobnoi bolezni v Belorussii] *Zdravookhranenie Belorussii.* 1956. No 7. P. 3–7 (in Russ.).
4. Gerasimov G. A. [Iododeficitnye zaboлевania (IDZ) v Rossijskoj federazii: politika v oblasti profilaktiki i tendenzija v epidemiologicheskoi situazii (1950–2002)]. Moscow, 2003 (in Russ.).
5. Gerasimov G. A., Figgee D. [Chernobyl dvadzat let spustja]. *Klinicheskaya i eksperimentalnaja tireodologia.* 2006. Vol. 2. P. 5–14 (in Russ.).
6. Robbins J., Dunn J. T., Bouville A., et al. Iodine Nutrition and Risk from Radioactive Iodine: A Workshop Report in the Chernobyl Long-Term Follow-Up Study. *Thyroid.* 2001. No 11 (5). P. 487–491.
7. Arinchin A., Gembicki M., Moschik K., et al. Goiter Prevalence and Urinary Iodine Excretion in Belarus Children Born after the Chernobyl Accident, IDD. *News Letter.* 2000. Vol. 16., No 1. P 7–9.
8. [Resolution, Council of Ministers, Republic of Belarus # 484 of April 6, 2001 «On prevention of diseases related to iodine deficiency»]. Minsk, 2001 (in Russ.).
9. Petrenko S. V., Mokhort T. V. [Opyt uspeschnoi likvidazii iodnogo gefizita u naselenia Belarusi]. Minsk, 2013 (in Russ.).
10. Zimmermann M. B., Kohrle J. [The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: biochemistry and relevance to public health]. *Thyroid.* 2002. 12 (10). P. 867–878.
11. Kubasova E. D. [Physiological characteristics of bioelemental status and its effect to thyroid state of children from Arkhangelsk region. Thesis abstract]. Arkhangelsk. 2007 (in Russ.).
12. Schomburg L. Selenium, Selenoproteins, and thyroid gland: interactions in health and disease. *Nature Reviews Endocrinology.* 2012. Vol. 8 (3). P. 160–171.
13. Saranac L., Zivanovic S., Bjelakovic B., et al. Why is thyroid so prone to autoimmune disease? *Hormone research in pediatrics.* 2011. Vol. 75 (3). P. 157–165.
14. Wu Q., Rayman M. P., Lu H., Schomburg L. et al. Low population selenium status is associated with increased prevalence of thyroid disease. *J. Clin Endocrinol Metab.* 2015. Vol. 100. P. 4037–4047.
15. Gatner R., Gasnier B. C., Dietrich J. W., et al. Selenium supplementation in patient with autoimmune thyroiditis decreases thyroid peroxidase antibodies concentrations. *The J. of clinical endocrinology and Metabolism.* 2002. Vol. 87 (4). P. 1687–1691.
16. Turker O., Kumanlioglu K., Karapolat I., et al. Selenium treatment in autoimmune thyroiditis: 9-month follow-up with variable doses. *J. Endocrinol.* 2006 Jul;190(1):151–6.
17. Rasmussen L. B., Schomburg L., Kohrle J., et al. Selenium status, thyroid volume, and multiple nodule formation in area with iodine deficiency. *European J. of Endocrinology.* 2011. Vol. 164 (4). P. 585–590.
18. Jonklaas J., Daniels M., Wang H. A pilot study of serum selenium, vitamin D, and thyrotropin concentration in patient with thyroid cancer. *Thyroid.* 2013. Vol. 23 (9). P. 1079–1086.
19. Rapoport B., McLachlan S. M. Thyroid autoimmunity. *J. Clin. Invest.* 2001. Nov. 1;108(9): 1253–1259.
20. Zajtsev V. A., Kolomiets N. D., Murokh V. I. Selenium concentration in the main foodstuffs consumed by Belarusian population, *Nourishment and metabolism.* Grodno, 2002. P. 34–45.
21. Beckett G. V., Arthur J. R. Selenium and endocrine systems. *J. Endocrinol.* 2005. 184 (3). P. 455–465.
22. American Thyroid Association (ATA) Issues Statement On The Potential Risks Of Excess Iodine Ingestion And Exposure. 2013. Jun 5,
23. Dunn J., F. van der Haar [Practical guide for iodine deficiency elimination. Manual. No. 3]. ICCIDD, UNICEF, WHO. 1994 (in Russ.).
24. Malenchenko A. F., Bazhanova N. N., Kanash N. V., et al. Concentration of plutonium and some other trace elements in the hair of Belarusian population living on the territories affected by the Chernobyl accident]. *J. Hygiene and Sanitary.* 1997. No 5. P. 19–22 (in Russ.).

Статья поступила в редакцию 17.10.2018
Received by editorial board 17.10.2018

УДК 547.823+54.056

СИНТЕЗ ЭФИРОВ ЭМОКСИПИНА

М. В. ЛИСОВСКАЯ¹⁾, Е. И. КВАСЮК²⁾

¹⁾Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
ул. Академика В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Беларусь

²⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

Разработан эффективный способ получения эфиров 6-метил-2-этилпиридин-3-ола (**3**) (эмоксипина), являющихся его депо-формами и потенциально обладающих повышенной проницаемостью через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Производные алкил-(6-метил-2-этилпиридин-3-ил) бутандиоатов (**13–16**) получены реакцией конденсации *n*-бутилового, *n*-амилового, изо-амилового и бензилового моноэфиров янтарной кислоты **4**, **6–8** с эмоксипином **3** в присутствии дициклогексилкарбодиимида, а также реакцией взаимодействия натриевой соли эмоксипина с хлорангидами соответствующих моноэфиров янтарной кислоты. Структуры синтезированных соединений подтверждены данными УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Ключевые слова: эмоксипин; 6-метил-2-этилпиридин-3-ол; гидроксипиридин; липофильные производные; спектроскопия.

SYNTHESIS OF ESTERS OF EMOXYPINE

M. V. LISOVSKAYA^A, E. I. KVASYUK^B

^AInstitute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus,
Academic V. F. Kuprevich street, 5/2, 220141, Minsk, Belarus

^BBelarusian State University,
International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus
Corresponding author: E. I. Kvasyuk (ekvasyuk@inbox.ru)

A new and effective method for preparation of esters of *emoxypine* as potentially having increased permeability of the Blood-Brain Barrier was developed. Some new (2-ethyl-6-methylpyridine-3-yl)butandioate derivatives **13–16** were obtained by condensation of *emoxypine* **3** with previously synthesized *n*-butyl, *n*-amyl, *i*-amyl and benzyl monoesters of succinic acid **4**, **6–8** in presence of dicyclohexylcarbodiimide or by reaction of sodium salt of *emoxypine* with chloroanhydride of corresponding esters. The structures of synthesized compounds were confirmed by UV-, IR-, NMR-spectroscopy and mass-spectrometry.

Key words: *emoxypine*; 2-ethyl-6-methylpyridine-3-ol; hydroxypyridine; lipophilic derivatives; spectroscopy.

Образец цитирования:

Лисовская М. В., Квасюк Е. И. Синтез эфиров эмоксипина // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 119–127.

For citation:

Lisovskaya M. V., Kvasyuk E. I. Synthesis of esters of *emoxypine*. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 119–127 (in Russ.).

Авторы:

Марина Владимировна Лисовская – младший научный сотрудник лаборатории химии липидов.

Евгений Иванович Квасюк – доктор химических наук, профессор; профессор кафедры экологической химии и биохимии.

Authors:

Maryna V. Lisovskaya, junior researcher of the laboratory of lipids chemistry.

marusia.lisoavskaya@yandex.by

Evgeny I. Kvasyuk, doctor of science (chemistry), professor; professor of the department of environmental chemistry and biochemistry.

ekvasyuk@inbox.ru

Введение

На стыке экологии и медицины во второй половине XX столетия возникло новое направление, получившее название экологическая медицина. Ее объектом исследования являются разнообразные факторы воздействия окружающей среды на здоровье человека. Однако среди них нет упоминания о проблемах недостаточно эффективного действия лекарственных препаратов и вызываемых ими побочных эффектах, хотя они, безусловно, относятся к факторам риска. Одним из способов снижения побочного действия препаратов и повышения эффективности лечения различных заболеваний является создание новых лекарственных средств. Наиболее распространенным решением этих проблем является получение модифицированных производных на основе уже существующих препаратов. Среди лекарственных препаратов различного профиля присутствует большое число соединений, содержащих в своем составе структурные фрагменты пиридина. Интенсивное развитие химии и фармакологии его производных позволило получить лекарственные средства, которые являются наиболее востребованными в медицинской практике. Так, среди наиболее значимых и жизненно важных фармакологических препаратов присутствует ингибитор протонного насоса *эзомеразол* **1**, который относится к классу 4-гидроксипиридина (рис. 1).

Существенный интерес среди пиридинов вызывают также производные 3-гидроксипиридина [1–4]. Изучение химических и фармакологических свойств последних обусловлено тем, что они являются структурными аналогами соединений группы витамина B₆, а именно *пиридоксала* **2**, выполняющего важную роль в жизнедеятельности организма человека и животных за счет участия в процессах обмена аминокислот. Одним из наиболее известных лекарственных средств на основе производных гидрокси-пиридинов является 6-метил-2-этилпиридин-3-ол (**3**) (*эмоксипин*), обладающий широким спектром биологического действия [5] и применяемый в медицинской практике (рис. 1).

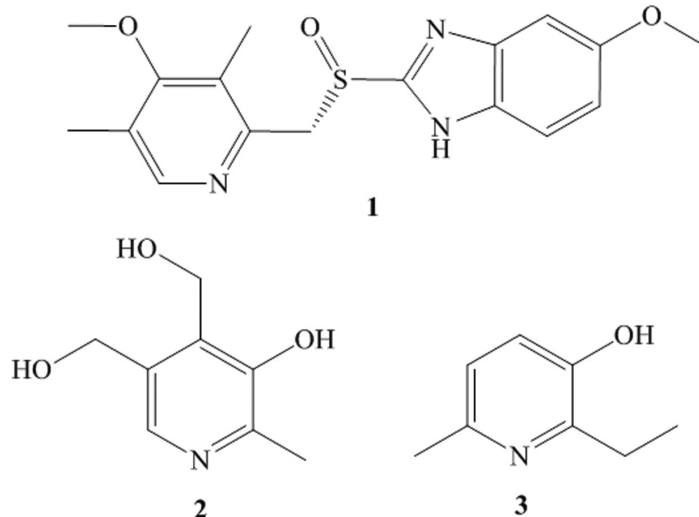


Рис. 1. Структурные формулы эзомеразола **1**, пиридоксина **2** и эмоксипина **3**

Fig. 1. The structures of Esomeprazole **1**, Pyridoxole **2** and Emoxygen **3**

Действие *эмоксипина* направлено в первую очередь на процессы свободно-радикального окисления в биомембранах и внутри клетки. С одной стороны, он ингибирует процессы перекисного окисления липидов, активно реагируя со свободными радикалами, снижает в мозге повышенный при патологии уровень оксида азота (NO), а с другой – повышает активность антиоксидантных ферментов (в частности, супероксиддисмутазы), ответственных за образование и расходование перекисей липидов и активных форм кислорода [6; 7].

Эмоксипин является антиагрегантом и ангиопротектором. Он уменьшает проницаемость сосудистой стенки, вязкость и свертываемость крови, агрегацию тромбоцитов; усиливает процесс фибринолиза [8]. Препарат проявляет антигипоксическую активность, повышая устойчивость тканей к нехватке кислорода, оказывая влияние на эндогенное дыхание митохондрий. Антигипоксический эффект усиливается при применении *эмоксипина* в виде его соли с янтарной кислотой (торговое название лекарственного

средства – «Мексидол»). Эффект синергизма связан с участием янтарной кислоты в восстановительных процессах, протекающих в органах и тканях [2; 4; 6; 9].

Эмоксипин снижает признаки церебральной гемодисфункции и повышает устойчивость мозга к гипоксии и ишемии. При нарушениях мозгового кровообращения способствует коррекции вегетативных дисфункций, облегчает восстановление интегративной деятельности мозга [10]. Препарат обладает выраженным кардиопротекторным действием, способствуя расширению коронарных сосудов и уменьшению ишемического повреждения миокарда. При инфаркте миокарда *эмоксипин* ограничивает величину очага некроза, ускоряет репаративные процессы, способствует нормализации метаболизма миокарда, оказывая благоприятное влияние на клиническое течение заболевания, уменьшая частоту развития острой сердечной недостаточности [11].

Обладая анксиолитическим эффектом, *эмоксипин* способен устранять страх, тревогу, напряжение, беспокойство, а также проявлять антидепрессивный и антистрессорный эффекты [3; 12].

Имеются данные о том, что при комплексной терапии с противобластомными средствами *эмоксипин* снижает массу опухоли и митостатическую активность в опухолевой ткани, корригирует метаболические нарушения, вызванные цитостатиками [13].

Благодаря своим фармакологическим свойствам и оказываемым эффектам *эмоксипин* нашел широкое применение в офтальмологии, неврологии, нейрохирургии, кардиологии, эндокринологии, гинекологии и хирургии.

Помимо самого *эмоксипина* и его аналогов, отличающихся алкильными заместителями [14–16], разнообразной биологической активностью обладает также ряд их О-производных, среди которых выявлены соединения, перспективные для применения в качестве лекарственных препаратов. К таким соединениям относятся конъюгаты 3-гидрокси-2,6-диалкилпиридина и эфиров уксусной кислоты [17].

Однако в ряде случаев эффективность *эмоксипина* оказывается недостаточной по причине его ограниченной проницаемости через ГЭБ. Это объясняется тем, что соединение обладает гидрофильными свойствами. Придание молекуле гидрофобных свойств повышает ее сродство к липидам, что способствует лучшему проникновению таких жирорастворимых соединений через ГЭБ [18]. В этой связи цель настоящей работы заключалась в получении липофильных эфиров *эмоксипина*, являющихся его депозитами и потенциально обладающих повышенной проницаемостью через ГЭБ.

Материалы и методы исследований

В ходе работы использовались сухие и перегнанные растворители. Очистку и высушивание растворителей производили в соответствии с литературными методиками [19]. *Эмоксипин* получали из 2-метилфурана и ангидрида пропионовой кислоты в соответствии с опубликованной методикой [14]. Контроль за протеканием реакций и чистотой выделяемых продуктов осуществляли методом ТСХ на алюминиевых пластинках со слоем силикагеля Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Германия). В качестве элюента были использованы различные растворители (гексан, этилацетат, хлороформ, метанол) и их смеси в разных соотношениях. Визуализация соединений осуществлялась просмотром пластинок в ультрафиолетовом свете или с использованием цветной реакции после опрыскивания пластинки 0,2 % спиртовым раствором дифенилкарбазона, который является реагентом для обнаружения жирных кислот и их производных [20]. Выделение индивидуальных веществ осуществляли методом колоночной хроматографии на силикагеле Kieselgel 60, 0.04 – 0.063 mm (Merck, Германия) с использованием в качестве элюентов смесей тех же растворителей.

Спектры ЯМР (¹H и ¹³C) записаны для растворов соединений в дейтерохлороформе или дейтеродиметилсульфоксиде на приборе Bruker Avance 500 с рабочей частотой 500 и 125 МГц соответственно. Химические сдвиги приведены в d-шкале по отношению к сигналу тетраметилсилана в качестве внутреннего стандарта. Сигналы остаточных протонов CDCl₃ и DMSO-d₆ наблюдались при 7,26 и 2,50 м. д. соответственно. Для описания типа наблюдаемых в спектрах сигналов применялись следующие сокращения: с = синглет, д = дублет, т = триплет, кв = квартет, сек = секстет, дт = дублет триплетов, м = мультиплет.

ИК-спектры записаны на приборе Perkin Elmer FT-IR system Spectrum BX в таблетках KBr или пленках. Приведены частоты (см⁻¹) только характеристических полос.

Масс-спектры регистрировались с помощью хромато-масс-спектрометрической системы Waters с диодно-матричным (Waters 2998) и масс-спектрометрическим одноквадрупольным (Waters micromass ZQ) детекторами. Значения m/z приведены для наиболее интенсивных пиков.

УФ-спектры записаны на спектрофотометре Shimadzu UV-1650 PC UV-visible для растворов соединений в метаноле.

4-Бутоксид-4-оксобутановая кислота (4). Смесь янтарного ангидрида **5** (15 г; 0,15 моль) и бутанола-1 (16,5 мл; 0,18 моль) нагревали при 100–120 °С в течение 2,5 ч. После охлаждения смеси до комнатной

температуры к ней добавили н-гексан (50 мл). Непрореагировавшую янтарную кислоту отфильтровали, промыли н-гексаном (25 мл). К фильтрату добавили насыщенный раствор гидрокарбоната натрия до pH ~9. После перемешивания слои разделили. Водный слой подкислили соляной кислотой до pH ~3 и экстрагировали целевой продукт хлороформом (60 мл). Полученный раствор в хлороформе высушили над безводным сульфатом натрия и упарили в вакууме. Получили 15,67 г (60 %) целевого продукта **4** в виде бесцветного масла. ИК спектр (пленка, ν , см^{-1}): 3250, 1745, 1720. Масс-спектр (m/z , MH^+): 175,0; 156,9; 104,6.

4-Оксо-4-(пентилокси)бутановая кислота (6). Смесь янтарного ангидрида **5** (15 г; 0,15 моль) и амилового спирта (16,24 мл; 0,15 моль) нагревали при 90–110 °С в течение 2,5 ч. После охлаждения смеси до комнатной температуры к ней добавили н-гексан (50 мл). Непрореагировавшую янтарную кислоту отфильтровали, промыли н-гексаном (25 мл). К фильтрату добавили насыщенный раствор гидрокарбоната натрия до pH ~9. После перемешивания слои разделили. Водный слой подкислили соляной кислотой до pH ~3 и экстрагировали целевой продукт хлороформом (60 мл). Полученный раствор в хлороформе высушили над безводным сульфатом натрия и упарили в вакууме. Получили 17,79 г (63 %) целевого продукта **6** в виде бесцветного масла. ИК спектр (пленка, ν , см^{-1}): 3156, 1745, 1718. Масс-спектр (m/z , MH^+): 189,0; 170,9; 104,6.

4-(Изопентилокси)-4-оксобутановая кислота (7). Смесь янтарного ангидрида **5** (15 г; 0,15 моль) и изоамилового спирта (19,35 мл; 0,18 моль) нагревали при 90–110 °С в течение 2,5 ч. После охлаждения смеси до комнатной температуры к ней добавили н-гексан (50 мл). Непрореагировавшую янтарную кислоту отфильтровали, промыли н-гексаном (25 мл). К фильтрату добавили насыщенный раствор гидрокарбоната натрия до pH ~9. После перемешивания слои разделили. Водный слой подкислили соляной кислотой до pH ~3 и экстрагировали целевой продукт хлороформом (60 мл). Полученный раствор в хлороформе высушили над безводным сульфатом натрия и упарили в вакууме. Получили 20,18 г (71 %) целевого продукта **7** в виде желтого масла. ИК спектр (пленка, ν , см^{-1}): 3155, 1746, 1719. Масс-спектр (m/z , MH^+): 189,0; 118,8; 104,6.

4-(Бензилокси)-4-оксобутановая кислота (8). Смесь янтарного ангидрида **5** (2 г; 0,020 моль), бензилового спирта (2,48 мл; 0,024 моль) и концентрированной серной кислоты (каталитическое количество) в хлороформе кипятили в течение 2,5 ч. После охлаждения смеси до комнатной температуры непрореагировавшую янтарную кислоту отфильтровали, промыли хлороформом (5 мл). К фильтрату добавили насыщенный раствор гидрокарбоната натрия до pH ~9. После перемешивания слои разделили. Водный слой подкислили соляной кислотой до pH ~3 и экстрагировали целевой продукт хлороформом (20 мл). Полученный раствор в хлороформе промыли дистиллированной водой, высушили над безводным сульфатом натрия и упарили в вакууме. Образовавшийся маслообразный продукт при стоянии закристаллизовался. Получили 2,3 г (55 %) целевого маслообразного продукта **8**, кристаллизующегося при стоянии. Масс-спектр (m/z , MH^+): 246,9 (калиевая соль); 231,1 (натриевая соль); 209,1; 138,1.

Бутил-4-оксо-4-хлорбутаноат (9). К раствору 4-бутоксид-4-оксобутановой кислоты (**4**) (13,1 г; 0,075 моль) в хлороформе (30 мл) добавили хлористый тионил (10 мл; 0,14 моль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 ч. После окончания реакции хлороформ и избыток хлористого тионила отогнали при пониженном давлении. Получили 14,5 г (100 %) неочищенного хлорангидрида **9** в виде желтой маслообразной жидкости. Продукт **9** без дополнительной очистки использовался на следующей стадии.

Пентил-4-оксо-4-хлорбутаноат (10). К раствору 4-оксо-4-(пентилокси)бутановой кислоты (**6**) (17,0 г; 0,090 моль) в хлороформе (50 мл) добавили хлористый тионил (20 мл; 0,28 моль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2,5 ч. После окончания реакции хлороформ и избыток хлористого тионила отогнали при пониженном давлении. Получили 18,6 г (100 %) неочищенного хлорангидрида **10** в виде желтой маслообразной жидкости. Продукт **10** без дополнительной очистки использовался на следующей стадии.

Изопентил-4-оксо-4-хлорбутаноат (11). К раствору 4-(изопентилокси)-4-оксобутановой кислоты (**7**) (19,68 г; 0,105 моль) в хлороформе (50 мл) добавили хлористый тионил (15 мл; 0,21 моль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 ч. После окончания реакции хлороформ и избыток хлористого тионила отогнали при пониженном давлении. Получили 21,5 г (100 %) неочищенного хлорангидрида **11** в виде янтарно-коричневой маслообразной жидкости. Продукт **11** без дополнительной очистки использовался на следующей стадии.

Бензил-4-оксо-4-хлорбутаноат (12). К раствору 4-(бензилокси)-4-оксобутановой кислоты (**8**) (2,07 г; 9,94 ммоль) в хлороформе (25 мл) добавили хлористый тионил (2 мл; 27,82 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 ч. После окончания реакции хлороформ и избыток хлористого тионила отогнали при пониженном давлении. Получили 2,41 г (100 %) неочищенного

хлорангидрида **12** в виде желтой маслообразной жидкости. Продукт **12** без дополнительной очистки использовался на следующей стадии.

Бутил-(6-метил-2-этилпиридин-3-ил)бутандиоат (13). К раствору гидроксида натрия (4,0 г; 0,10 моль) в этаноле (130 мл) добавили *эмоксилин 3* (13,72 г; 0,10 моль). Полученный раствор 6-метил-2-этилпиридин-3-оата натрия упарили в вакууме и растворили остаток в ацетонитриле (100 мл). К полученному раствору порциями добавили бутил-4-оксо-4-хлорбутаноат (**9**) (14,5 г; 0,075 моль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. После окончания реакции выпавший осадок (NaCl) отфильтровали и промыли ацетонитрилом. Фильтрат упарили в вакууме, к остатку добавили н-гексан (50 мл) и снова профильтровали. Затем растворитель отогнали при пониженном давлении. Целевой продукт **13** очистили методом колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя смесью н-гексана и этилацетата (20:1→15:1). Выделили 15,18 г (69 %) конечного продукта **13** в виде бесцветного масла. Спектр ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 0,92 (3H, т, $J = 7,4$ Hz, $-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$); 1,21 (3H, т, $J = 7,7$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,37 (2H, сек, $J = 7,5$ Hz, $-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,61 (2H, дт, $J_1 = 15,1$ Hz, $J_2 = 7,1$ Hz, $-\text{OCH}_2-\text{CH}_2-$); 2,51 (3H, с, $-\text{CH}_3$); 2,70 (2H, кв, $J = 7,5$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 2,73 – 2,78 (2H, м, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 2,87 – 2,94 (2H, м, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 4,11 (2H, т, $J = 6,7$ Hz, $-\text{OCH}_2-$); 6,97 (1 H, д, $J = 8,3$, H-аром.); 7,23 (1 H, д, $J = 8,3$, H-аром.). Спектр ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13,20 ($-\text{CH}_3$); 13,79 ($-\text{CH}_3$); 19,21 ($-\text{CH}_3$); 24,11 ($-\text{CH}_3$); 26,17 ($-\text{CH}_2-$); 29,16 ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 29,33 ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 30,75 ($-\text{CH}_2-$); 64,96 ($-\text{OCH}_2-$); 121,47 ($-\text{CH}$ -аром.); 130,12 ($-\text{CH}$ -аром.); 142,99 (C-аром.); 154,84 (C-аром.); 155,59 (C-аром.); 170,99 ($-\text{COO}-$); 172,17 ($-\text{COO}-$). ИК спектр (плёнка, ν , cm^{-1}): 1764, 1736, 1590, 1465, 1413, 1355, 1315. УФ спектр (MeOH, λ_{max} , нм): 211,2; 269,8. Масс-спектр (m/z , MH^+): 291,4.

Пентил-(6-метил-2-этилпиридин-3-ил)бутандиоат (14). К раствору гидроксида натрия (3,61 г; 0,09 моль) в этаноле (120 мл) добавили *эмоксилин 3* (12,39 г; 0,09 моль). Полученный раствор 6-метил-2-этилпиридин-3-оата натрия упарили в вакууме и растворили остаток в ацетонитриле (100 мл). К полученному раствору порциями добавили пентил-4-оксо-4-хлорбутаноат (**10**) (14,5 г; 0,07 моль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. После окончания реакции выпавший осадок (NaCl) отфильтровали и промыли ацетонитрилом. Фильтрат упарили в вакууме, к остатку добавили н-гексан (50 мл) и снова профильтровали. Затем растворитель отогнали при пониженном давлении. Целевой продукт **14** очистили методом колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя смесью н-гексана и этилацетата (20:1→15:1). Выделили 15,26 г (71%) конечного продукта **14** в виде бесцветного масла. Спектр ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 0,85 – 0,91 (3H, м, $-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$); 1,21 (3H, т, $J = 7,5$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,29 – 1,35 (4H, м); 1,59 – 1,68 (2H, м); 2,51 (3H, с, $-\text{CH}_3$); 2,70 (2H, кв, $J = 7,5$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 2,73 – 2,77 (2H, м, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 2,87 – 2,94 (2H, м, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 4,10 (2H, т, $J = 6,9$ Hz, $-\text{OCH}_2-$); 6,98 (1 H, д, $J = 8,3$, H-аром.); 7,23 (1 H, д, $J = 8,3$, H-аром.). Спектр ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13,19 ($-\text{CH}_3$); 14,03 ($-\text{CH}_3$); 22,41 ($-\text{CH}_2-$); 24,11 ($-\text{CH}_3$); 26,16 ($-\text{CH}_2-$); 28,13 ($-\text{CH}_2-$); 28,40 ($-\text{CH}_2-$); 29,16 ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 29,33 ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 65,25 ($-\text{OCH}_2-$); 121,46 ($-\text{CH}$ -аром.); 130,12 ($-\text{CH}$ -аром.); 142,99 (C-аром.); 154,83 (C-аром.); 155,58 (C-аром.); 170,98 ($-\text{COO}-$); 172,16 ($-\text{COO}-$). ИК спектр (плёнка, ν , cm^{-1}): 1764, 1737, 1591, 1465, 1413, 1356, 1316. УФ спектр (MeOH, λ_{max} , нм): 211,4; 269,6. Масс-спектр (m/z , MH^+): 308,1.

Изопентил-(6-метил-2-этилпиридин-3-ил)бутандиоат (15). К раствору гидроксида натрия (4,2 г; 0,105 моль) в этаноле (110 мл) добавили *эмоксилин 3* (14,34 г; 0,105 моль). Полученный раствор 6-метил-2-этилпиридин-3-оата калия упарили в вакууме и растворили остаток в ацетонитриле (100 мл). К полученному раствору порциями добавили изопентил-4-оксо-4-хлорбутаноат (**11**) (21,5 г; 0,105 моль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. После окончания реакции выпавший осадок (NaCl) отфильтровали и промыли ацетонитрилом. Фильтрат упарили в вакууме, к остатку добавили н-гексан (50 мл) и снова профильтровали. Затем растворитель отогнали при пониженном давлении. Целевой продукт **15** очистили методом колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя смесью н-гексана и этилацетата (20:1→15:1). Выделили 22,51 г (70 %) конечного продукта **15** в виде желтого масла. Спектр ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 0,88 – 0,95 (6H, м, $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$); 1,22 (3H, т, $J = 7,5$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,51 (2H, кв, $J = 6,9$ Hz, $-\text{OCH}_2-\text{CH}_2-$); 1,64 – 1,74 (1H, м, $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$); 2,51 (3H, с, $-\text{CH}_3$); 2,70 (2H, кв, $J = 7,5$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 2,73 – 2,78 (2H, м, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 2,87 – 2,94 (2H, м, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 4,14 (2H, т, $J = 6,9$ Hz, $-\text{OCH}_2-$); 6,98 (1 H, д, $J = 8,3$, H-аром.); 7,23 (1 H, д, $J = 8,1$, H-аром.). Спектр ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13,20 ($-\text{CH}_3$); 22,55 ($-\text{CH}_3$); 24,12 ($-\text{CH}_3$); 25,16 ($-\text{CH}$); 26,17 ($-\text{CH}_2-$); 29,18 ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 29,33 ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 37,41 ($-\text{CH}_2-$); 63,77 ($-\text{OCH}_2-$); 121,47 ($-\text{CH}$ -аром.); 130,12 ($-\text{CH}$ -аром.); 143,00 (C-аром.); 154,84 (C-аром.); 155,59 (C-аром.); 170,98 ($-\text{COO}-$); 172,16 ($-\text{COO}-$). ИК спектр (плёнка, ν , cm^{-1}): 1764, 1736, 1591, 1465, 1413, 1368, 1316. УФ спектр (MeOH, λ_{max} , нм): 209,0; 270,0. Масс-спектр (m/z , MH^+): 308,1.

Бензил-(6-метил-2-этилпиридин-3-ил)бутандиоат (16). К раствору гидроксида натрия (0,41 г; 10,16 ммоль) в этаноле (30 мл) добавили *эмоксилин 3* (1,39 г; 10,16 ммоль). Полученный раствор

6-метил-2-этилпиридин-3-олата калия упарили в вакууме и растворили остаток в ацетонитриле (25 мл). К полученному раствору порциями добавляли бензил-4-оксо-4-хлорбутаноат (**12**) (2,25 г; 9,93 моль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. После окончания реакции выпавший осадок (NaCl) отфильтровали и промыли ацетонитрилом. Фильтрат упарили в вакууме, остаток растворили в хлороформе (50 мл) и добавили дистиллированную воду (30 мл). После перемешивания слои разделили. Органический слой высушили над безводным сульфатом натрия и упарили в вакууме. Целевой продукт **16** очистили методом колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя смесью н-гексана и этилацетата (15:1→1:1). Выделили 2,10 г (73 %) конечного продукта **16** в виде бесцветного масла. Спектр ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 1,21 (3H, т, $J = 7,5$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 2,52 (3H, с, $-\text{CH}_3$); 2,69 (2H, кв, $J = 7,5$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 2,79 – 2,84 (2H, м, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 2,90 – 2,97 (2H, м, $-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 5,16 (2H, с, $-\text{OCH}_2$); 6,98 (1 H, д, $J = 8,1$, H-аром.); 7,18 (1 H, д, $J = 8,3$, H-аром.); 7,29–7,41 (5H, м, H-аром.). Спектр ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13,21 ($-\text{CH}_3$); 24,11 ($-\text{CH}_3$); 26,17 ($-\text{CH}_2$); 29,22 ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 29,30 ($-\text{CH}_2-\text{COO}-$); 66,90 ($-\text{OCH}_2$); 121,48 ($-\text{CH}$ -аром.); 128,42 ($-\text{CH}$ -аром.); 128,50 ($-\text{CH}$ -аром.); 128,74 ($-\text{CH}$ -аром.); 130,13 ($-\text{CH}$ -аром.); 135,75 (C-аром.); 142,97 (C-аром.); 154,83 (C-аром.); 155,60 (C-аром.); 170,89 ($-\text{COO}-$); 171,92 ($-\text{COO}-$). ИК спектр (плёнка, ν , cm^{-1}): 3067, 3035, 1765, 1738, 1591, 1498, 1465, 1412, 1372, 1353, 1315. УФ спектр (MeOH, λ_{max} , нм): 209,4; 269,2. Масс-спектр (m/z , MH^+): 328,1; 137,9.

Результаты исследований и их обсуждение

Липофильные производные эмоксипина получали путём его О-ацилирования. В качестве гидрофобного фрагмента в структуру эмоксипина вводились остатки моноэфиров янтарной кислоты **4**, **6–8**, которые получали реакцией взаимодействия ангидрида янтарной кислоты **5** с н-бутиловым, н-амиловым, изо-амиловым и бензиловым спиртом (рис. 2).

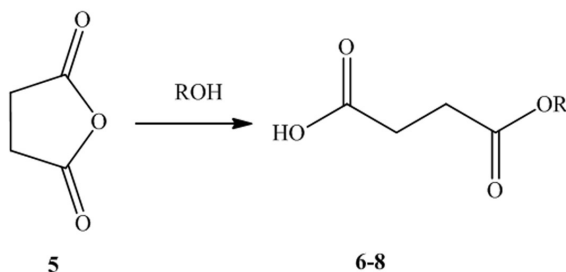


Рис. 2. Синтез моноэфиров янтарной кислоты R = n-C₄H₉ (4), n-C₅H₁₁ (6), i-C₅H₁₁ (7), CH₂Ph (8)

Fig. 2. Synthesis of monoesters of succinic acid R = n-C₄H₉ (4), n-C₅H₁₁ (6), i-C₅H₁₁ (7), CH₂Ph (8)

Непосредственное взаимодействие спиртов с янтарной кислотой приводило к смеси продуктов (моно-, диэфиров) в соотношении приблизительно 1:1, в то время как взаимодействие спиртов с янтарным ангидридом позволило увеличить выход необходимых моноэфиров. Реакции взаимодействия янтарного ангидрида **5** с перечисленными спиртами проводились как в присутствии, так и отсутствии катализаторов, в качестве которых использовались серная кислота или 4-диметиламинопиридин (DMAP) (табл.). Все опробованные условия приводили к схожим результатам, однако наиболее эффективной и простой с точки зрения воспроизведения оказалась методика, в которой смесь ангидрида **5** и спирта, выполняющего роль реагента и растворителя, нагревали при 90–110 °С или кипятили в течение 2–3 ч.

Таблица

Условия получения 4-алкокси-4-оксобутановых кислот

Table

Conditions for the preparation of 4-alkoxy-4-oxobutanoic

№	R	Температура, °С	Растворитель	Катализатор	Время, ч	Выход, %
4	n-C ₄ H ₉	115–120 (кипение)	–	–	2–2,5	60,0
6	n-C ₅ H ₁₁	20–25	CH ₂ Cl ₂	DMAP	2–3	65,0
7	i-C ₅ H ₁₁	90–110	–	–	2	71,5
8	CH ₂ Ph	60–65 (кипение)	CHCl ₃	H ₂ SO ₄	2–2,5	55,3

Следующий этап, являющийся ключевым в данной работе, заключался в разработке удобного метода ацилирования эмоксипина. На первом этапе работы была апробирована широко используемая для этих целей методика получения сложных эфиров реакцией конденсации свободной кислоты со спиртом. В качестве водоотнимающего агента был использован дициcloгексилкарбодиимид (DCC), который широко применяется в органическом синтезе для подобного рода превращений [21].

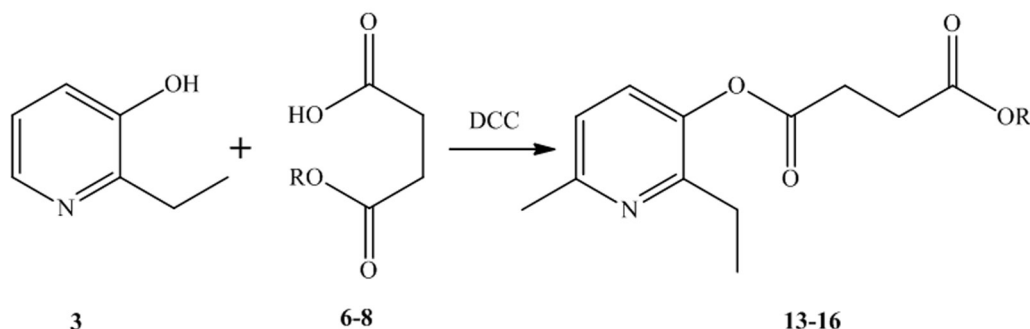


Рис. 3. Ацилирование эмоксипина 3 моноэфирами янтарной кислоты

(4, 6–8). R = n-C₄H₉ (4, 13), n-C₅H₁₁ (6, 14), i-C₅H₁₁ (7, 15), CH₂Ph (8, 16)

Fig. 3. Acylation of emoxypine 3 by monoesters of succinic acid

(4, 6–8). R = n-C₄H₉ (4, 13), n-C₅H₁₁ (6, 14), i-C₅H₁₁ (7, 15), CH₂Ph (8, 16)

Однако реакция взаимодействия эмоксипина 3 с моноэфирами 4, 6–8 (рис. 3) протекала крайне медленно, и целевые продукты выделялись с выходом, не превышающим 30 %. При этом в реакционной смеси наблюдалось образование ряда побочных соединений, затрудняющих выделение целевого продукта. Невысокий выход конечного продукта можно частично объяснить слабой нуклеофильностью гидроксильной группы эмоксипина, обусловленной сопряжением неподелённой пары электронов атома кислорода OH-группы с π -системой ароматического кольца.

Для повышения выхода конечных продуктов 13–16 был реализован альтернативный вариант их синтеза с использованием в качестве исходных соединений натриевой соли эмоксипина 17 и хлорангидридов 9–12 (рис. 4).

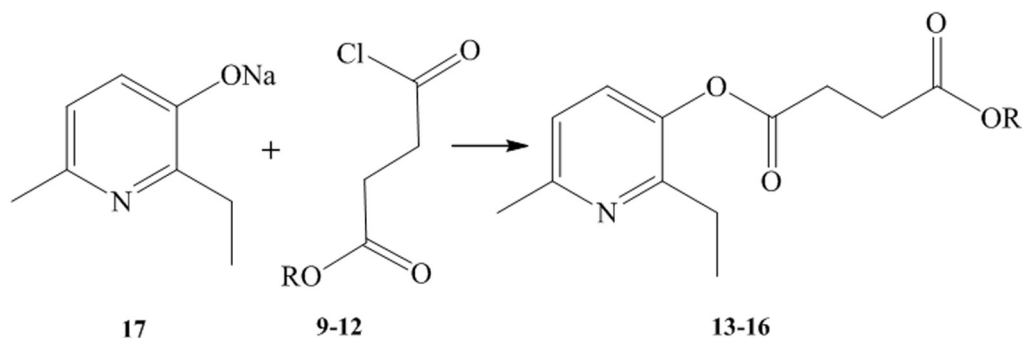


Рис. 4. Взаимодействие натриевой соли эмоксипина 17 с хлорангидридами моноэфиров янтарной кислоты (9–12).

R = n-C₄H₉ (9, 13), n-C₅H₁₁ (10, 14), i-C₅H₁₁ (11, 15), CH₂Ph (12, 16)

Fig. 4. Reaction of sodium salt of emoxypine 17 with chloroanhydrides of monoesters of succinic acid (9–12).

R = n-C₄H₉ (9, 13), n-C₅H₁₁ (10, 14), i-C₅H₁₁ (11, 15), CH₂Ph (12, 16)

Для этого действием хлористого тионила на моноэфиры янтарной кислоты 4, 6–8 были получены соответствующие хлорангидриды 9–12, а реакцией взаимодействия спиртового раствора натрия гидроксида с эмоксипином 3 – его натриевая соль 17. Хлорангидриды 9–12 использовались в реакции ацилирования без их предварительной очистки. Реакция хлорангидридов 9–12 с натриевой солью эмоксипина 17 приводила к соединениям 13–16, выделенным с выходом 69, 71, 70 и 73 % соответственно (рис. 4).

Заклучение

В ходе выполнения исследования был разработан удобный метод синтеза новых производных *эмоксипина* на основе реакции взаимодействия натриевой соли *эмоксипина* с хлорангидридами моноэфиров янтарной кислоты. Показаны преимущества данной методики над вариантом синтеза сложных эфиров с использованием DCC в качестве конденсирующего агента.

Бібліаграфічныя спасылкі

1. Яснецов В. В., Скачилова С. Я., Сернов Л. Н. Синтез и фармакологические свойства нового производного 3-гидроксипиридина // Химико-фармацевтический журнал. 2012. Т. 46, № 4. С. 3–6.
2. Глушков Р. Г., Южаков С. Д., Алексеев М. В. Новые потенциальные антигипоксические средства на основе 2-этил-3-(N,N-диметилкарбамоилокси)-6-метилпиридина // Химико-фармацевтический журнал. 2011. Т. 45, № 3. С. 3–8.
3. Волчегорский И. А., Мирошниченко И. Ю., Рассохина Л. М. Исследование антидепрессивной активности производных 3-оксипиридина и янтарной кислоты в эксперименте на мышах // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013. Т. 76, № 7. С. 6–10.
4. Курбанов А. И., Самойлов Н. Н., Стратиев Е. Н. Антигипоксическая активность новых производных 3-оксипиридина // Психофармакология и биологическая наркология. 2006. Т. 6, № 1–2. С. 1164–1170.
5. Щербина Н. Ю., Нечипуренко Н. И., Матусевич Л. И. Перекисное окисление липидов, антиоксидантная система и проницаемость гематоэнцефалического барьера у больных в остром периоде ишемического инсульта // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. 2009. № 4. С. 69–74.
6. Воронина Т. А. Мексидол: основные нейropsychотропные эффекты и механизм действия // Фарматека. 2009. № 6 (180). С. 28–31.
7. Воронина Т. А. Роль синаптической передачи в процессах памяти, нейродегенерации и механизме действия нейротропных препаратов // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2003. Т. 66, № 2. С. 10–14.
8. Loznikova S. G., Sukhodola A. A., Shcharbina N. Yu. The effects of magnesium, acetylsalicylic acid, and emoxypine on platelet aggregation // Biophysics. 2014. Vol. 59, № 6. P. 900–903.
9. Катунина Н. П., Катунин М. П. Изучение влияния фенилэтилзамещенных производных 3-оксипиридина на продолжительность жизни мышей при острой гипоксии с гиперкапнией и острой гипобарической гипоксии // Саратовский научно-медицинский журнал. 2007. Т. 3, № 1. С. 100–103.
10. Столярова В. В. Влияние эмоксипина на электрическую нестабильность миокарда и показатели гомеостаза у больных с острым нарушением мозгового кровообращения // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2002. Т. 65, № 3. С. 13–15.
11. Болдина Н. В., Михин В. П., Чернятина М. А. Эффективность некоторых кардиоцитопротекторов у больных артериальной гипертензией, осложнённой острым ишемическим инсультом // Эффективная фармакотерапия. Кардиология и ангиология. 2008. № 2. С. 18–23.
12. Volchegorskii I. A., Miroshnichenko I. Yu. Comparative analysis of the anxiolytic effects of 3-hydroxypyridine and succinic acid derivatives // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015. Vol. 158, № 6. P. 756–761.
13. Зорькина А. В., Просвирина О. Н. Влияние рубомицина, мексидола и эмоксипина на некоторые метаболические показатели и процесс спонтанного метастазирования в условиях экспериментальной неоплазии // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2007. Т. 70, № 1. С. 57–59.
14. Gruber W. Synthesis of 3-hydroxy-2-alkylpyridines // Canadian J. of Chemistry. 1953. Vol. 31. P. 564–568.
15. Kuo Y., Shih K. A new method for preparation of 3-hydroxypyridines from furfurylamines by photooxygenation // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 1991. Vol. 39, № 1. P. 181–183.
16. Zhang F., Duan X. Facile one-pot direct arylation and alkylation of nitropyridine N-oxides with Grignard reagents // Organic letters. 2011. Vol. 13, № 22. P. 6102–6105.
17. Воронина Т. А. Синтез и фармакологическая активность производных 2 и 6-замещённых (пирид-3-илокси)уксусных кислот // Химико-фармацевтический журнал. 1989. Т. 24, № 9. С. 28–32.
18. Oldendorf W. Lipid solubility and drug penetration of the blood brain barrier // Proceedings of the society for experimental biology and medicine. 1974. Vol. 147. P. 813–816.
19. Тутце Л., Аухер Т. Препаративная органическая химия. М., 1999.
20. Anfärbereagenzien für Dünnschicht- und Papier-Chromatographie. Darmstadt: E. Merck, 1970.
21. Williams A., Ibrahim I. T. Carbodiimide chemistry: recent advances // Chemical Reviews. 1981. Vol. 81, № 6. P. 589–636.

References

1. Yasnetsov V. V., Skachilova S. Ya, Sernov L. N. [Synthesis and pharmacological properties of a new derivative of 3-hydroxypyridine]. *Chimiko-Pharmaceuticheskii journal*. 2012. Vol. 46, No. 4. P. 3–6 (in Russ.).
2. Glushkov R. G., Yuzhakov S. D., Alekseev M. V. [New potential antigypoxic agents on the base of 2-ethyl-3-(N,N-dimethylcarbamoyloxy)-6-methylpyridine]. *Chimiko-Pharmaceuticheskii zhurnal*. 2011. Vol. 45, No. 3. P. 3–8 (in Russ.).
3. Volchegorskii I. A., Miroshnichenko I. Yu., Rassohina L. M. [Investigation of antidepressant activity of 3-oxypyridine derivatives and succinic acid in experiment with mouse]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2013. Vol. 76, No. 7. P. 6–10 (in Russ.).
4. Kurbanov A. I., Samoilov N. N., Stratienco E. N. [Antigypoxic activity of new derivatives of 3-oxypyridine]. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2006. Vol. 6, No 1–2. P. 1164–1170 (in Russ.).
5. Scherbina N. Yu., Nechipurenko N. I., Matusevich L. I. [Peroxyde oxidation of lipids, antioxidant system and penetration of hematoencephalic barrier of patients acute period of ischemic stroke]. *Proceedings of the National academy of Sciences of Belarus, chemical series*. 2009. No. 4. P. 69–74 (in Russ.).
6. Voronina T. A. [Mexidol: basic neuropsychotropic effect and mechanism of action]. *Pharmateca*. 2009. No. 6 (180). P. 28–31 (in Russ.).

7. Voronina T. A. [Role of synaptic transmission in process of memory, neurodegeneration and in mechanism of action of neurotropic specimens]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2003. Vol. 66, No. 2. P. 10–14 (in Russ.).
8. Loznikova S. G., Sukhodola A. A., Shcharbina N. Yu. The effects of magnesium, acetylsalicylic acid, and emoxypine on platelet aggregation. *Biophysics*. 2014. Vol. 59, No. 6. P. 900–903.
9. Katunina N. P., Katunin M. P. [Study of influence of phenylethylsubstituted derivatives of 3-oxypyridine for life prolongation of mouses at acute hypoxia with hypercapnia and acute hypobaric hypoxia]. *Saratovskiy-nauchno-meditsinskiy-zhurnal*. 2007. Vol. 3, No. 1. P. 100–103 (in Russ.).
10. Stolyarova V. V. [Influence of emoxypine on electrical instability of myocardium and index numbers of homeostasis in patients with acute abnormality of cerebral circulation]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2002. Vol. 65, No. 3. P. 13–15 (in Russ.).
11. Boldina N. V., Mihin V. P., Chernyatina M. A. [Effectivity of some kardiocytoprotectors in patients with arterial hypertension complicated ischemic apoplexy]. *Effective pharmacotherapy. Cardiology and angiology*. 2008. No. 2. P. 18–23 (in Russ.).
12. Volchegorskii I. A., Miroshnichenko I. Yu. Comparative analysis of the anxiolytic effects of 3-hydroxypyridine and succinic acid derivatives. 2015. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. Vol. 158, No. 6. P. 756–761.
13. Zorkina A. V., Prosvirina O. N. [Influence of rubomycinum, mexidole and emoxypine on some metabolic rates and process of spontaneous metastasis at experimental neoplasia]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2007. Vol. 70, No. 1. P. 57–59 (in Russ.).
14. Gruber W. Synthesis of 3-hydroxy-2-alkylpyridines. *Canadian Journal of Chemistry*. 1953. Vol. 31. P. 564–568.
15. Kuo, Y., Shih, K. A new method for preparation of 3-hydroxypyridines from furfurylamines by photo oxygenation. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1991. Vol. 39, No. 1. P. 181–183.
16. Zhang, F., Duan, X. Facile one-pot direct arylation and alkylation of nitropyridine N-oxides with Grignard reagents. *Organic letters*. 2011. Vol. 13, No. 22. P. 6102–6105.
17. Voronina T. A. [Synthesis and pharmacological activity of 2- and 6-substituted derivatives of (pyridine-3-yl-oxy)acetic acids]. *Chimiko-Pharmaceuticheskii zhurnal*. 1989. Vol. 24, No. 9. P. 28–32 (in Russ.).
18. Oldendorf W. Lipid solubility and drug penetration of the blood brain barrier. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*. 1974. Vol. 147. P. 813–816.
19. Titze L., Aicher T. [Preparative organic chemistry]. Moscow, 1999 (in Russ.).
20. Anfärbereagenzien für Dünnschicht- und Papier-Chromatographie. Darmstadt: E. Merck. 1970. (in Germany).
21. Williams A., Ibrahim I. T. Carbodiimide chemistry: recent advances. *Chemical Reviews*. 1981. Vol. 81, No. 6. P. 589–636.

Статья поступила в редколлегию 26.11.2018
Received by editorial board 26.11.2018

ПРОМЫШЛЕННАЯ И АГРАРНАЯ ЭКОЛОГИЯ

INDUSTRIAL AND AGRICULTURAL ECOLOGY

УДК 504.064:631.416.9:574.24:574.222:574.21

МОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

С. С. ПОЗНЯК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, Минск, Беларусь

Изучены вопросы трансформации видового и химического состава сеgetальных, рудеральных и естественных растительных сообществ в зоне атмотехногенного воздействия теплоэлектростанций. Выявлены динамические тенденции, происходящие в сеgetальной флоре, показана возможность использования растений в качестве тестовых для оценки степени загрязненности фитоценозов тяжелыми металлами

Ключевые слова: сеgetальные растения; биологическое разнообразие; сельскохозяйственные культуры; фитоценоз; агроэкосистема; мониторинг и прогноз распространения; тяжелые металлы.

Образец цитирования:

Позняк С. С. Мониторинг состояния окружающей среды с использованием растительных тест-объектов // Журн. Беларус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 128–141.

For citation:

Pazniak S. S. Environmental monitoring using plant test objects. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 128–141 (in Russ.).

Авторы:

Сергей Степанович Позняк – доктор сельскохозяйственных наук, профессор; заместитель директора по научной работе.

Authors:

Siarhei S. Pazniak, doctor of science (agriculture), professor; deputy director for research.
pazniak@iseu.by

ENVIRONMENTAL MONITORING USING PLANT TEST OBJECTS

S. S. PAZNIAK^a

^a*Belarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus*

The issues of transformation of the species and chemical composition of segetal, ruderal and natural plant communities in the area of the impact of thermal power plants are studied. The dynamic trends occurring in the segetal flora are revealed, and the possibility of using plants as test for assessing the degree of contamination of phytocenoses with heavy metals is shown.

Key words: segetal plants; biological diversity; agricultural crops; phytocenosis; agroecosystem; distribution monitoring and forecast; heavy metals.

Введение

Сегетальная растительность является, с точки зрения практической экологии, важным компонентом экосистем, который обеспечивает широкое экологическое разнообразие окружающей среды. На протяжении тысячелетий в условиях изменяющегося климата и бурных геологических процессов формировалось современное биологическое разнообразие видов растений, которое создает благоприятные экологические условия и повышает биотехническую емкость среды. В настоящее время центральное место в фитоценозах занимает растительное сообщество высших растений (культурных и диких), выполняющее роль поставщика энергии для консументов и редуцентов [1].

В последние десятилетия в результате интенсивного промышленного и сельскохозяйственного производства существенно возросло антропогенное воздействие на природные экосистемы, следствием чего происходила трансформация видового состава сегетальной растительности и возникла угроза исчезновения отдельных растительных сообществ.

Производственная деятельность промышленных предприятий оказывает существенное негативное влияние на окружающую среду, являясь одной из главных причин загрязнения почв и растительности фитоценозов [2]. По данным мониторинговых исследований, в городских почвах и на сельскохозяйственных землях, расположенных вблизи источников выпадений загрязняющих веществ, отмечается высокое содержание тяжелых металлов, нефтепродуктов и других вредных веществ. Наиболее актуальным это становится на территориях, прилегающих к промышленным объектам, где в качестве наиболее масштабных загрязнителей выступают тяжелые металлы, аммонийный и нитратный азот, соединения фосфора и органические вещества.

Существует целый ряд нерешенных теоретических и практических вопросов, связанных с трансформацией агрофитоценозов в условиях воздействия промышленных предприятий [3; 4]. К таким вопросам относится проблема «устойчивости почв» к химическому загрязнению. «Устойчивость почв» как понятие пока не имеет однозначного определения. По отношению к агрофитоценозам оно применимо в качестве эмерджентного свойства системы лишь в той мере, в какой оказывает влияние на поступление токсикантов в продуцируемую фитомассу. Это свойство обнаруживается в агрофитоценозах в соответствии с уровнем техногенного воздействия и выражается в виде трех степеней влияния:

1) наличие техногенных веществ не фиксируется ни в количестве, не отражается на качестве растительной продукции, но может быть отмечено по состоянию биологической активности почвы, которая изменяется даже при небольших превышениях кларковых содержаний элементов;

2) в растительной продукции обнаруживается присутствие техногенных веществ, количество которых колеблется в достаточно широких пределах и оценивается в зависимости от ПДК, установленных для разных веществ и разных культур; масса биологического урожая при этом не снижается по сравнению с фоновыми (незагрязненными) почвами;

3) очевидная деградация почвы с заметным изменением не только химического состава растений, но и снижением их урожайности.

В связи с вышеуказанными обстоятельствами принципиально важным является изучение изменений, произошедших в окружающей среде, вследствие ведения хозяйственной деятельности на конкретной местности. Особое значение такие исследования имеют для объектов, связанных с сельскохозяйственным производством и находящихся в зоне влияния промышленных предприятий, поскольку именно на таких территориях происходит существенная трансформация элементов и компонентов окружающей

среды, следствием чего может стать срыв адаптации системы, приводящей к ее существенной перестройке или разрушению¹.

Интенсивное промышленное и сельскохозяйственное производство вызывает не только трансформацию видового состава растительности агрофитоценозов, но и существенные изменения биогеохимического цикла антропогенных ксенобиотиков, наиболее опасными из которых являются тяжелые металлы. В последние годы трансформировались направления и темпы миграции тяжелых металлов, переместились зоны их выноса и накопления, существенно расширился перечень элементов, входящих в техногенные потоки загрязнения².

Актуальность выявления особенностей антропогенной трансформации вещественного состава культурных и сеgetальных растений агрофитоценозов на основе биогеохимического анализа по содержанию в них металлов и металлоидов подтверждена многими исследователями³. В некоторых работах химический состав доминантных видов растительного покрова фитоценозов является основой для оценки антропогенной трансформации ландшафтов при строительстве, разработке россыпных и рудных месторождений [5; 6]. На примере сравнительного анализа химического состава почв, флористического разнообразия и количественных показателей структуры фитоценозов и популяций растений в настоящее время оценивается современное состояние и степень трансформации наземных экосистем Сахалина [7].

Таким образом, в современных условиях весьма актуальной представляется оценка участия приоритетных тяжелых металлов в биогеохимическом круговороте в блоке «почва – растение» на основе трансформации химического состава культурных и сеgetальных растений фитоценозов⁴. Следует также отметить, что в научной литературе практически отсутствуют достоверные сведения об использовании концентрационных функций дикорастущих (сеgetальных) растений для эколого-биогеохимического мониторинга агроэкосистем. Поэтому общие особенности природных и антропогенно-преобразованных фитоценозов к настоящему времени нельзя считать полностью раскрытыми, а основные экологические принципы их изучения до конца разработанными. С позиций экоцентрического мировоззрения, для выявления степени техногенной трансформации агрофитоценозов по содержанию металлов и металлоидов в почвенном и растительном покрове и особенностей формирования геохимических аномалий следует рассматривать всю совокупность процессов, протекающих в сложной системе (агрофитоценозе), включающей в себя не только почву и культурные растения, но и другие (сеgetальные) виды растений.

Действие загрязняющих веществ распространяется на десятки километров от источника поступления элементов в атмосферу. Так, тяжелые металлы в количестве от 10 до 30 % их общего поступления в атмосферу распространяются на расстояние до 10 км и более от промышленного предприятия [8; 9].

При этом наблюдается комплексное загрязнение растений, состоящее из прямого оседания аэрозолей и пыли на поверхность листьев и корневого усвоения тяжелых металлов растениями, которые аккумулярованы в почве в течение продолжительного времени поступления загрязнителей из атмосферы [10; 11]. О размерах антропогенной деятельности человека в мире можно судить по следующим показателям: поступление техногенного Pb в атмосферу составляет 94–97 %, Cd – 84–89, Cu – 56–87, Ni – 66–75, Hg – 58 % и т. д. При этом 26–44 % мирового антропогенного потока этих элементов приходится на Европу, а на долю европейской части территории бывшего СССР – 28–42 % от всех выбросов в Европе [12; 13]. Установлено, что при работе предприятий машиностроительного и теплоэнергетического комплексов образуется летучая зола, содержащая Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, Sn, V, Zn, Cr, Co, Mo, Hg и другие химические элементы, попадающие в почву [14–16]. При работе с использованием мазута в атмосферу дополнительно выбрасывается большое количество V и Ni [17].

Многочисленными исследованиями установлено, что *диапазон колебаний содержания тяжелых металлов в растительности достаточно велик, чтобы выявить заметные различия в количестве любого химического элемента в растениях одного вида, но собранных в разных пунктах*. В данном случае следует говорить о влиянии на элементный химический состав растений условий окружающей среды – экологического фактора [18–20]. Ведущее значение при этом принадлежит подвижной форме химических

¹ Караскин В. Б. Влияние предприятий промышленного свиноводства на компоненты окружающей среды и оптимизация функционирования региональной системы: дис. ... д-ра с.-х. наук: 03.10.16. М.; Немчиновка, 2003.

² Прохорова Н. В. Экологические принципы биогеохимического анализа ландшафтов лесостепного и степного Поволжья. дис. ... д-ра биол. наук: 03.10.16. Самара, 2005.

³ Никитенко М. А. Влияние урбанизации на трансформацию почвенного покрова и условия функционирования древесных растений городов Среднего Предуралья: на примере г. Сарапула и г. Камбарки: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16. Ижевск, 2007.

⁴ Матвеев В. Н. Биоэкологическая оценка вовлечения тяжелых металлов в основные трофические цепи и биогеохимический круговорот в условиях агрофитоценозов на примере лесостепного Высокого Заволжья: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16. Самара, 2004.

элементов в почве [21; 22]. Корреляция между содержанием подвижной формы химического элемента в почве и насыщенностью этим элементом растительной ткани обычно прямая и чаще всего значительная [23; 24]. Таким образом, существуют генетический и экологический факторы формирования элементного состава растений, а их приоритетность меняется в зависимости от условий и состояния окружающей среды. При техногенном загрязнении именно экологический фактор становится определяющим [24].

Установлено, что одни виды растений способны накапливать высокие концентрации тяжелых металлов и проявлять устойчивость к ним, в то же время другие растения стремятся снизить их поступление путем максимального использования своих защитных функций. Несмотря на различную способность растений к накоплению загрязнителей, биоаккумуляция ряда элементов имеет определенную тенденцию, которая позволяет классифицировать тяжелые металлы на несколько групп: первая – элементы интенсивного поглощения (Cd, Cs, Rb); вторая – элементы средней степени поглощения (Zn, Mo, Cu, Pb, As, Co); третья – элементы слабого поглощения (Mn, Ni, Cr) и четвертая – элементы, труднодоступные для поглощения растениями (Se, Fe, Ba, Te) [25, 26].

В исследованиях ряда авторов приводятся различные значения нормальных концентраций химических элементов в растениях (табл. 1).

Таблица 1

Пределы нормальных концентраций элементов в растениях, мг/кг сух. в-ва

Table 1

Limits of normal concentrations of elements in plants, mg/kg dry weight

Элемент	Vanselow, A. P., 1965	Kipling, M. D., 1980	Минеев, В. Г., 1990	Чертко, Н. К., 2002, 2008	Ковальский, В. В., 1974	Кабата-Пендиас, А., Пендиас, Х., 1989	Nieber, et. al., 1978; Molski, Dmuchowski, 1986
Pb	–	–	0,1–5,0	1,5–14,0	–	0,05–3,0	<30
Ni	0,05–5,0	–	0,4–3,0	<1,0	–	0,1–2,7	–
Zn	–	–	15–150	15–150	20–60	–	<100
Cu	–	–	2–12	5–30	3–12	2–20	<30
Mn	–	–	–	20–300	20–60	17–334	–
Zr	–	–	–	–	–	0,005–2,6	–
Cr	–	–	0,2–1,0	–	–	0,02–0,2	–
Co	–	<1,0	0,3–0,5	–	–	0,03–0,57	–
Sn	–	–	0,8–6,0	–	–	–	–

Необходимо учесть и тот факт, что в таблице приведены валовые формы содержания тяжелых металлов, являющиеся сугубо ориентировочными. В то же время они оказываются выше пределов, установленных другими авторами [27–29] и значительно выше ОДК, установленных в Республике Беларусь, например, по Cd в Беларуси нормативы ниже в 8–10 раз, по Pb – в два раза.

Объекты и методы исследований

Цель исследований – проведение комплексной оценки антропогенного воздействия теплоэлектростанций на видовой состав и популяционные характеристики сеgetальных растений агроэкологических территорий для совершенствования методов фитомониторинга состояния окружающей среды (на примере Жодинской ТЭЦ – филиала РУП «Минскэнерго»).

Задачи работы:

1. Выявление и визуализация зон максимального поступления твердой фазы выбросов с использованием унифицированной программы расчета загрязнения атмосферы «Эколог».
2. Установление величин накопления тяжелых металлов в сеgetальных растениях агроэкологических территорий.
3. Сравнительное изучение видового состава и популяционных характеристик сеgetальных растений в городской среде и зоне воздействия теплоэлектростанции.
4. Выявление индикаторных видов растений, пригодных для фитомониторинга.

Для решения поставленной цели требовалось провести анализ существующих работ по изучению флоры и растительности экосистем и выявить возможные тренды изменения сеgetальной флоры и растительности фитоценозов Беларуси в многолетнем разрезе. В пространственном отношении рассматривается территория в пределах Центральной агроклиматической зоны, хронологический «срез» работ составляет столетие (начало XX – начало XXI в.).

Методика исследования заключалась в поиске и описании *de visu* найденных публикаций, а также собственных полевых исследований автора, проведенных в 1993–1995 гг., 2006–2010 и 2016–2018 гг.

При обзоре специальной литературы использовались источники, включающие флору полей, огородов и выгонов, публикации по фенологии и динамике становления сеgetальной флоры и растительности, публикации о находках отдельных видов сорняков и флористические работы с данными о сорных растениях [30–34].

Основная часть исследований проведена в зоне воздействия Жодинской ТЭЦ, расположенной в 50 км от Минска, рядом с рекой Плиса. Она предназначена для отпуска тепла в виде подогретой воды для отопления и горячего водоснабжения жилых домов, промышленных предприятий и административно-бытовых зданий и сооружений г. Жодино, а также отпуска электроэнергии в сеть Белорусской энергосистемы. Отпуск тепла потребителям в виде пара отсутствует. Жодинская ТЭЦ является филиалом РУП «Минскэнерго». Основным видом топлива – газ, резервный – мазут. Один из котлов сжигает местные виды топлива (Е-60). Основными вредными выбросами при сжигании газа являются диоксид и оксид азота, оксид углерода, а также бенз(а)пирен и диоксидсеры в небольшом количестве. При сжигании мазута, кроме этих веществ, дополнительно появляются сажа и мазутная зола в пересчете на ванадий, выбросы диоксида серы значительно возрастают. При сжигании твердых видов топлив (дробленый торфобрикет, щепа, фрезерный торф) добавляется выброс твердых частиц.

Объектами исследования являлись *почвенный и растительный (культурные и сеgetальные растения) покров агрофитоценозов в условиях воздействия объекта теплоэнергетики – Жодинской ТЭС (Смолевичский р-н).*

Большая часть исследований проведена методом локального эколого-агрохимического мониторинга фитоценозов в соответствии с методическими указаниями «*Методические и организационные основы проведения агроэкологического мониторинга в интенсивном земледелии (на базе географической сети опытов)*» [35]. Методы исследований – полевые (натурные обследования) и камеральные (лабораторные эксперименты, химические анализы).

В соответствии с *Положением о порядке проведения в составе Национальной системы мониторинга окружающей среды в Республике Беларусь мониторинга земель и использования его данных*, а также других рекомендаций в каждом фитоценозе закладывалась постоянная пробная площадка (ППП) площадью 100 м² [36]. Форма ППП линейно-вытянутая для отбора точечных образцов по прямой или диагонали по всей территории участка.

Геоботанические обследования фитоценозов проводились маршрутно-рекогносцировочным методом. Отбор проб растений осуществлялся в соответствии с «*Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов*» в сухую погоду с 8 до 10 ч утра [37]. В соответствии с правилами временные пункты отбора проб контролировались на протяжении не более одного года с дальнейшим переносом в другую местность. Отбор проб культурных и сеgetальных растений для анализа на загрязненность тяжелыми металлами проводился на площадках размером 1 м² в 10-кратной повторности. Растения срезались вровень с поверхностью почвы и разбирались по видовому составу [38], очищались от механических загрязнителей и примесей, промывались водой и высушивались до воздушно-сухого состояния [39].

В ходе полевых работ проводились наблюдения за геоботанической структурой фитоценозов. Видовой состав сорняков устанавливали методом маршрутного обследования по общепринятым методикам [40], распространенность и засоренность ими посевов проводили по методикам, опубликованным В. В. Исаевым [41]. При определении флористического состава видов сосудистых растений в агрофитоценозах использовались литературные источники [42; 43], латинские названия видов даны по определению сосудистых растений С. К. Черепанова [44].

В камеральных условиях осуществлялся анализ и обобщение полевых материалов с вербальной характеристикой ППП фоновой территории и в зоне воздействия промышленных предприятий; составлялись картосхемы загрязнения почв агрофитоценозов тяжелыми металлами в зоне техногенного воздействия г. Жодино; проводились химические анализы и лабораторные эксперименты.

Для определения содержания тяжелых металлов в почвах, культурных и сеgetальных растениях агрофитоценозов использовались «*Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельскохозяйственных и продуктах растениеводства*» [39].

Поскольку объекты хозяйственной деятельности человека различаются по интенсивности воздействия на окружающую среду и, следовательно, на сорный элемент флоры, то основной целью наших исследований являлось изучение особенностей формирования растительных сообществ на различном удалении от ТЭЦ г. Жодино. На предварительном этапе подготовки была составлена картосхема зоны воздействия промышленного объекта на растительность и почвенный покров (рис.).



Рис. Картограмма зоны воздействия промышленного объекта на растительность и почвенный покров

Fig. The map-scheme of the zone of impact of an industrial facility on vegetation and soil cover

В ходе проведения полевых выездов точки отбора проб корректировались в зависимости от наличия дорог. Пробы сорной растительности и почвенного покрова отбирались на учетных площадках, размером 1×1 м, расположенных в зоне воздействия ТЭЦ в радиусе до 8 км. Точки отбора проб находились на удалении 0,05 км, 0,5 км, 1 км, 2 км, 3 км, 4 км, 5 км, 6 км, 7 км, 8 км в северном, северо-восточном, восточном, юго-восточном, южном, юго-западном, западном, северо-западном направлениях. После взятия

проб отобранные растения разбирались по видам, определялась принадлежность видов растений к семействам и подготавливались растительные образцы для анализа на содержание химических элементов.

Практическая часть по оценке воздействия ТЭЦ г. Жодино проходила в несколько этапов:

1 этап – камеральный:

- поиск, обобщение и обработка информации о влиянии выбросов загрязняющих веществ на растительный и почвенный покров вблизи теплоэлектроцентрали и полигонов твердых коммунальных отходов, поиск и ознакомление с литературой по данной теме на базе Республиканской научно-технической библиотеки;
- выбор участка для оценки влияния выбросов загрязняющих веществ на почвенный и растительный покров;
- подготовка документации по объектам исследований (экологический паспорт, акт инвентаризации выбросов, картосхемы местоположения объектов);
- подготовка картографической основы для нанесения точек отбора проб почвенных и растительных образцов по румбам с использованием программы Corel Draw.

2 этап – полевой:

- ознакомление с объектами исследований;
- закрепление пробных площадок на местности;
- проведение полевых исследований;
- отбор проб;
- работа с пробами: определение видового состава растительных образцов и их количество по видам, подготовка проб к химико-физическому анализу.

Содержание химических элементов определяли методом рентгено-флуоресцентного анализа на спектрометре энергий рентгеновского излучения СЕР-01 (ElvaX, Украина) по утвержденным РУП БелГИМ методикам. Обработку полученных результатов проводили согласно руководству по эксплуатации прибора.

Результаты исследования и их обсуждение

Видовое разнообразие растительности в зоне воздействия Жодинской ТЭЦ. В ходе проведения наших исследований установлено, что биологическое разнообразие растений в зоне воздействия Жодинской ТЭЦ представлено 45 видами аборигенных растений, относящихся к 21 семейству (табл. 2).

Таблица 2

Видовой состав растений вблизи Жодинской ТЭЦ

Table 2

Species composition of plants near Zhodinskaya TPP

Вид растений	Лесные угодья	Сельскохозяйственные угодья
Семейство злаковые (Poaceae)		
Пырей ползучий (<i>Elytrigia repens</i> L.)	•	•
Мятлик луговой (<i>Poa pratensis</i> L.)		•
Просо куриное (<i>Echinochloa crus-galli</i> L.)		•
Семейство хвощевые (Equisetaceae)		
Хвощ полевой (<i>Equisetum arvense</i> L.)		•
Семейство астровые (Asteraceae)		
Одуванчик лекарственный (<i>Taraxacum officinale</i> Webb.)		•
Тысячелистник обыкновенный (<i>Achillaea millefolium</i> L.)		•
Ромашка непахучая (<i>Matricaria perforata</i> L.)	•	•
Пижма обыкновенная (<i>Tanacetum vulgare</i> L.)		•
Полынь обыкновенная (<i>Artemisia vulgaris</i> L.)		•
Василёк синий (<i>Centaurea cyanus</i> L.)		•
Осот желтый (<i>Sonchus arvensis</i> L.)	•	•
Сушеница топяная (<i>Gnaphalium uliginosum</i> L.)		•
Цикорий обыкновенный (<i>Cichorium intybus</i> L.)	•	
Мелколепестник канадский (<i>Erigeron canadensis</i> L.)		•
Лопух большой (<i>Arctium lappa</i> L.)	•	

Продолжение табл. 2

Table 2

Семейство амарантовые (Amaranthaceae)		
Марь белая (<i>Chenopodium album</i> L.)	•	•
Семейство подорожниковые (Plantaginaceae)		
Подорожник большой (<i>Plantago major</i> L.)		•
Вероника персидская (<i>Veronica persica</i> L.)	•	•
Семейство бобовые (Fabaceae)		
Клевер пашенный (<i>Trifolium arvense</i> L.)	•	
Горошек мышиный (<i>Vicia cracca</i> L.)		•
Люпин многолетний (<i>Lupinus perennis</i> L.)	•	
Клевер розовый (<i>Trifolium hybridum</i> L.)		•
Семейство вьюнковые (Convolvulaceae)		
Вьюнок полевой (<i>Convolvulus arvensis</i> L.)		•
Семейство гвоздичные (Caryophyllaceae)		
Дрема белая (<i>Melandrium album</i> Garcke)		•
Торица полевая (<i>Spérgula arvénsis</i> L.)		•
Звездчатка средняя (<i>Stellária média</i> L.)		•
Семейство мареновые (Rubiaceae)		
Подмаренник цепкий (<i>Galium aparine</i> L.)		•
Семейство зверобойные (Clusiaceae)		
Зверобой продырявленный (<i>Hypericum perforatum</i> L.)	•	
Семейство гречишные (Polygonaceae)		
Горец вьюнковый (<i>Polygonum convolvulus</i> L.)	•	
Горец птичий (<i>Polygonum aviculare</i> L.)	•	•
Горец развесистый (<i>Polygonum lapathifolia</i> L.)	•	
Щавель конский (<i>Rumex confertus</i> Willd.)	•	
Семейство фиалковые (Violaceae)		
Фиалка полевая (<i>Viola arvensis</i> Murr.)		•
Фиалка трёхцветная (<i>Viola tricolor</i> L.)	•	
Семейство маковые (Papaveraceae)		
Дымянка лекарственная (<i>Fumaria officinalis</i> L.)		•
Семейство зонтичные (Umbelliferae)		
Сныть обыкновенная (<i>Aegopodium podagraria</i> L.)	•	•
Семейство крапивные (Urticaceae)		
Крапива жгучая (<i>Urtica urens</i> L.)		•
Семейство яснотковые (Lamiaceae)		
Тимьян ползучий (<i>Thymus serpyllum</i> L.)	•	
Семейство гераниевые (Geraniaceae)		
Аистник цикутный (<i>Erodium cicutarium</i> L.)	•	
Семейство розовые (Rosaceae)		
Земляника лесная (<i>Fragaria vesca</i> L.)	•	
Костяника каменистая (<i>Rubus saxatilis</i> L.)	•	
Семейство гиполеписовые (Hypolepidaceae)		
Орляк обыкновенный (<i>Pteridium aquilinum</i> L.)	•	
Семейство спаржевые (Asparagaceae)		
Ландыш майский (<i>Convallaria majalis</i> L.)	•	
Семейство кипрейные (Onagraceae)		
Кипрей узколистный (<i>Epilobium angustifolium</i> L.)	•	
Семейство вересковые (Ericaceae)		
Черника обыкновенная (<i>Vaccinium Myrtillus</i> L.)	•	

Установлено, что наиболее широко представлены виды растений, относящиеся к семействам астровых, бобовых, гречишных и злаковых. Семейство астровые представлено 11 видами, среди них чаще встречается ромашка непахучая, полынь обыкновенная, тысячелистник обыкновенный; в семействе бобовых выделено 4 вида, которые представлены клевером розовым, клевером пашенным, люпином многолетним и горошком мышиным; гречишных – 4 вида: щавель конский, горец вьюнковый, горец развесистый, горец птичий; пырей ползучий, мятлик луговой и просо куриное – 3 вида семейства злаковых.

Содержание химических элементов в растениях. Из научных источников известно, что коэффициенты накопления химических элементов, рассчитанные на их валовое содержание в почве, не всегда

отражают доступность для поглощения растениями. Концентрация металлов в растениях существенно зависит от их миграционной подвижности в звене «почва – растение». Поскольку в почве одновременно присутствуют различные формы элементов, отличающиеся прочностью связей, миграционная способность может сильно меняться в зависимости от многих условий. В отдельных исследованиях зарубежных авторов [А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас, 1989] установлены примерные концентрации химических элементов в зрелых тканях листьев растений, за исключением очень чувствительных и сильно устойчивых видов, являющиеся дефицитными, нормальными и токсичными.

Мы сравнили данные наших исследований с установленными примерными концентрациями химических элементов (табл. 3).

Таблица 3

**Сравнение показателей установленных (примерных) концентраций
с полученными концентрациями химических элементов (мг/кг сухой массы)**

Table 3

**Comparison of indicators of the established approximate concentrations with the obtained
concentrations of chemical elements (mg/kg dry weight)**

Химический элемент	Лесные угодья	Сельскохозяйственные угодья	Нормальная	Токсичная
Ca	482–8019	741–8974	н/у	н/у
Cu	2–24	1,7–14,2	5–30**	30–100**
Fe	46–1327	56–995	50–70*	н/у
Pb	0,8–93	0,8–2,8	5–10**	30–300**
Sr	6–102	5–184	н/у	600–1000**
Zn	13–394	9–80	27–150**	150–400**

*П. Ф. Тиво, И. Г. Быцко, 1996

**А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас, 1989

В наших исследованиях наблюдается превышение нормальных концентраций Fe в растениях в 14–19 раз для рассматриваемых типов угодий, Zn – в 2,6 раза только для дикорастущих растений – обитателей сельскохозяйственных угодий.

Содержание Cu, Pb и Sr в растениях находится в пределах нормальных концентраций в соответствии с имеющимися литературными данными.

Таким образом, можно предположить, что значения содержания элементов (Fe, Zn), находящиеся в нижних границах токсичных концентраций для растений, требуют, по-видимому, постоянного контроля за их накоплением.

Растения – тест-объекты для контроля загрязненности окружающей среды тяжелыми металлами. Для выявления растений-индикаторов были рассчитаны средние концентрации содержания химических элементов по различным видам растений (табл. 4).

Исходя из полученных данных, выявлено, что наибольшее содержание Ca отмечается в подорожнике большом, люпине многолетнем, фиалке трехцветной и клевере розовом. В качестве тестовых растений предлагается применять подорожник большой, люпин многолетний, фиалку трехцветную, клевер розовый, характеризующиеся высоким средним содержанием Ca, и марь белую, отличающуюся более низким средним содержанием, причем диапазон ее концентраций высокий (3552–6772 мг/кг возд. сух. в-ва).

Высокие концентрации Cu наблюдались у фиалки трехцветной, тысячелистника обыкновенного и полыни обыкновенной, рекомендуемых в качестве растений-индикаторов.

Звездчатку среднюю, горец выюнковый и сушеницу топяную можно выделить тестовыми растениями Fe по его высокому содержанию в них.

По Zn можем выделить фиалку трехцветную и зверобой продырявленный в качестве индикаторных растений, поскольку они обладают наивысшей концентрацией среди других растений и имеют среднюю встречаемость.

Тестовыми растениями по содержанию Sr предлагается использовать марь белую и дрему белую; для определения содержания Pb рекомендуется применять звездчатку среднюю, лопух большой и сныть обыкновенную.

Таблица 4

Table 4

Содержание тяжелых металлов в растительности (мг/кг возд. сух. в-ва)

Contents of heavy metals in vegetation (mg/kg dry weight)

Вид растения	Средняя концентрация по всем площадкам										Встречаемость растений*			
	2		3		4		5		6			7		
	Ca		Cu		Fe		Zn		Sr			Pb		
1	min-max		$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	8
Пырей ползучий Мятлик луговой Просо куриное Ромашка непахучая Подорожник большой Подмаренник цепкий Хвощ полевой Сныть обыкновенная Люпин многолетний Аистник цикутный Орляк обыкновенный Клевер пашенный Ландыш майский Земляника лесная Фиалка трехцветная Тимьян ползучий Полынь обыкновенная Клевер розовый Черника обыкновенная Звездчатка средняя Торница полевая Василек синий Марь белая Тысячелистник обыкновенный	482–1755	1075,3	1,7–6,8	3,9	78–845	258,3	9–37	24,6	6–35	15,9	0,84–1,4	1,0	часто (15)	
		1153,9		2,4		113,8		29,9		5,2		1,0	редко (1)	
		816,6		10,5		411,2		40,9		39,4		2,8	редко (1)	
	904–3554	2570,4	3,4–11,1	7,0	131–314	186,4	17–38	29,7	15–67	33,0	0,96–1,6	1,2	часто (9)	
	6194–8974	7583,7	7,4–7,6	7,5	240–370	305,2	49–80	64,4	40–55	46,0	1,6–2,0	1,8	редко (2)	
	4511–5088	4799,3	3,4–4,9	4,2	169–211	190,0	35–42	38,6	20–27	23,3	1,1–1,4	1,3	редко (2)	
	4569–5038	4803,6	2,3–3,9	3,1	79–159	118,9	25–31	28,2	31–33	31,8	1,1–1,3	1,2	редко (2)	
	3157–6407	4781,9	4,1–6,0	5,1	191–272	231,0	39–42	40,5	33–35	33,8	2,0–2,2	2,1	редко (2)	
	5443–8019	6712,1	4,0–7,4	5,2	95–253	162,7	16–37	24,6	55–81	71,1	1,16–1,2	1,2	средне (4)	
		5017,6		7,8		463,2		52,7		45,8		1,5	редко (1)	
	786–1326	983,7	2,3–4,7	3,2	46–133	90,1	13–30	20,2	17–102	41,1	0,8–2,0	1,9	часто (5)	
	4313–6406	5359,7	3,9–6,6	5,3	70–146	108,2	63–110	46,0	21–39	30,2	1,0–2,0	1,5	редко (2)	
	2539–4971	3802,2	2,3–3,4	3,0	72–108	92,9	17–32	26,8	35–56	42,9	1,1–1,2	1,2	средне (4)	
	2986–4458	3654,7	3,8–7,6	5,5	114–274	178,0	25–42	31,3	29–49	35,9	1,02–1,1	1,1	средне (3)	
	6128–6377	6281,4	12–24	16,6	142–281	209,2	146–394	238	58–79	65,3	1,2–1,6	1,3	средне (3)	
	2874,9		4,9		336,3		42,7		46,1		1,1	редко (1)		
2791–4254	3354,4	5,6–14,2	10,1	76–298	149,2	37–63	50,4	12–28	18,8	1,0–1,9	1,4	средне (4)		
5622–6777	6199,2	5,4–12,4	8,9	56–144	100,1	15–36	25,6	21–28	24,5	0,9–1,1	1,0	редко (2)		
3472–3668	3570,1	3,5–4,7	4,1	92–115	103,4	16–27	21,6	13–14	13,3	0,8–1,1	1,0	редко (2)		
1576–3251	2413,8	4,0–9,2	6,6	954–1327	1141	17–95	56,1	45–57	61,1	1,6–2,7	2,2	редко (2)		
	1730,1		4,6		518,1		42,0		31,8		1,4	редко (1)		
3011–3217	3113,9	5,6–6,8	6,2	92–385	238,3	20–22	20,0	45–66	55,5	1,2–1,3	1,3	редко (2)		
3552–6772	5769,8	5,1–9,4	7,4	117–299	203,7	32–61	47,1	68–184	122	1,7–2,0	1,9	средне (4)		
1305–2899	2219,4	7,0–11,5	10,8	59–305	180,4	17–37	34,2	13–42	27,6	1,0–1,4	1,2	часто (6)		
1163–2600	2261,0	2,6–6,9	4,9	753–946	833,9	17–38	26,3	38–76	56,0	1,3–1,7	1,5	средне (4)		
1715–2487	2100,8	5,5–6,4	6,0	155–995	574,8	22–50	35,9	20–34	26,6	1,2–1,4	1,3	редко (2)		
3742–4627	4184,4	2,8–5,6	4,2	82–114	98,1	16–31	46,0	20–25	22,1	0,9–1,2	1,1	редко (2)		
2993–6443	4552,4	5,6–7,6	6,3	149–982	556,2	32–43	36,6	31–147	89,5	1,3–2,2	1,7	средне (3)		

Продолжение табл. 4

Table 4

Пижма обыкновенная	4295,5		9,0		59,2		51,0	20,4	1,1	редко (1)
Горюшек мышинный	2483–4544	3513,5	3,8–4,3	4,1	62–68		26,2	18,1	0,9–1,0	редко (2)
Фиалка полевая	2076–3281	2678,8	4,6–4,8	4,7	546–734		22,4	34,3	1,3–1,4	редко (2)
Мелкоцветник канадский	2853–4218	3499,4	6,5–7,7	7,2	262–556		38,4	73,3	1,3–1,7	средне (4)
Горюц птичий	2218–3592	2699,7	3,5–5,5	4,5	106–535		35,3	47,8	0,9–1,4	средне (4)
Горюц вьюнковый	3524–3778	3651,0	3,1–4,3	3,7	471–913		27,7	67,9	1,1–1,6	редко (2)
Костяника каменистая	3640–4033	3836,2	2,8	2,8	126–161		25,9	37,5	1–1,6	редко (2)
Горюц развесистый		3568,2		3,0			29,2	61,7	1,1	редко (1)
Зверобой продырявленный		1653,5		4,5			108	8,7	0,8	редко (1)
Лопух большой		5610,6		7,0			32,8	41,6	2,2	редко (1)
Вьюнок полевой		2114,1		5,5			29,2	12,3	1,3	редко (1)
Кипрей узколистный		5084,3		4,4			24,8	26,2	1,1	редко (1)
Цикорий обыкновенный		5950,1		5,7			49,6	21,4	1,2	редко (1)
Осот желтый		3591,1		5,7			26,4	94,2	2,0	редко (1)
Одуванчик лекарственный		2923,9		7,9			22,7	90,2	1,9	редко (1)

*редко – 1–2 раза

средне – 3–5 раз

часто – более 5 раз

Заключение

В ходе проведения полевых обследований выделено 45 видов аборигенных растений, относящихся к 24 семействам. Наиболее часто встречаемыми являются семейства астровых, гвоздичных, бобовых, гречишных и злаковых.

В наших исследованиях изучена возможность использования аборигенной растительности в качестве тест-объектов для экспресс-контроля и оценки загрязненности компонентов биосферы в условиях атмотехногенного воздействия выбросов в атмосферу продуктов сгорания (на примере Жодинской ТЭЦ).

Показано, что индикаторные виды растений могут использоваться как для выявления отдельных загрязнителей воздуха, так и для оценки качественного состояния природной среды.

В результате проведенных исследований выявлены растения-индикаторы, которые можно использовать, как дополнительный элемент для биомониторинга зон атмотехногенного воздействия для таких химических элементов, как Ca, Cu, Fe, Pb, Sr, Zn.

Выделены следующие аборигенные растения-индикаторы:

для Ca – подорожник большой, люпин многолетний, фиалка трехцветная, клевер розовый, марь белая;

для Cu – фиалка трехцветная, тысячелистник обыкновенный, полынь обыкновенная;

для Fe – звездчатка средняя, горец вьюнковый, сушеница топяная;

для Pb – звездчатка средняя, лопух большой, сныть обыкновенная;

для Sr – марь белая и дрема белая;

для Zn – фиалка трехцветная и зверобой продырявленный.

Библиографические ссылки

1. Передериева В. М., Власова О. И., Шутко А. П. Аллелопатические свойства сорных растений и их растительных остатков в процессе минерализации // Научный журнал КубГАУ. 2011. № 73 (09). С. 1–3.
2. Хомич В. С., Какарека С. В., Кухарчик Т. И. Экогеохимия городских ландшафтов Беларуси. Минск, 2004.
3. Глазовская М. А. Методологические основы оценки эколого-геохимической устойчивости почв к техногенным воздействиям. М., 1997.
4. Солнцева Н. П. Геохимическая устойчивость природных систем к техногенным нагрузкам (принципы и методы изучения, критерии прогноза) // Добыча полезных ископаемых и геохимия природных систем. М., 1982. С. 181–215.
5. Елпатьевская В. П. Трансформация растительного покрова в районах горнодобывающего производства (Приморский край) // Растения в муссонном климате. Владивосток, 1998. С. 278–281.
6. Пугачев А. А., Тихменев Е. А. Состояние, антропогенная трансформация и восстановление почвенно-растительных комплексов Крайнего Северо-Востока Азии. Магадан, 2008.
7. Наземные экосистемы острова Сахалина (современное состояние, природно-антропогенные изменения, охрана и рациональное использование природных ресурсов) / отв. ред. Г. А. Воронов. Южно-Сахалинск, 1999.
8. Добровольский В. В. Некоторые аспекты загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами // Биологическая роль микроэлементов. М., 1983. С. 44–54.
9. Isermann, K. Einfluß der Phosphatdüngung auf den Cadmiumgehalt des Bodens, ermittelt anhand zahlreicher Dauerversuche in Westeuropa // Landwirtschaftliche Forschung. 1983. No. 39. P. 283–301.
10. Гребенюк Г. А., Харина С. Г. Миграция биогенных элементов по почвенному профилю // Молодежь XXI века: шаг в будущее: материалы IV регион. науч.-практ. конф. Благовещенск, 14–15 мая 2003 г. Благовещенск, 2003. С. 405–407.
11. Ильин В. Б., Сысо А. И. Микроэлементы и тяжелые металлы в почвах и растениях Новосибирской области. Новосибирск, 2001.
12. Вронский В. А. Прикладная экология. Ростов н/Д., 1996.
13. Какарека С. В., Хомич В. С., Кухарчик Т. И. и др. Выбросы тяжелых металлов в атмосферу: опыт оценки удельных показателей. Минск, 1998.
14. Калинович А. С., Позняк С. С., Романовский Ч. А. и др. Воздействие производственной деятельности РУП «БЕЛАЗ» на загрязнение почвенного покрова территории завода и прилегающих сельскохозяйственных угодий // Экологический вестник. 2009. № 1(7). С. 36–46.
15. Позняк С. С. Влияние техногенных загрязнителей на изменение состояния агрофитоценозов // Экологическая антропология. Минск, 2007. С. 44–47.
16. Позняк С. С. Содержание некоторых тяжелых металлов в растительности полевых и луговых агрофитоценозов в условиях техногенного загрязнения почвенного покрова // Вестник Томского гос. ун-та. Сер. Биология. 2011. № 1(13). С. 123–137.
17. Позняк С. С. Выбросы в атмосферу как источник загрязнения // Техника без опасности. 2009. № 1(32). С. 5–7.
18. Важенкин И. Г. Корни растений как биоиндикатор уровня загрязненности почвы токсическими элементами // Агрохимия. 1984. № 2. С. 73–77.
19. Ковальский В. В. Периодическая изменчивость химических свойств организмов и ее биологическое значение // Успехи соврем. биологии, 1941. Т. 14. Вып. 3. С. 380–423.
20. Ковальский В. В. Геохимическая экология и ее эволюционное направление // Изв. ФН СССР. Сер. биол. наук. 1963. Вып. 6. С. 830–851.
21. Ковальский В. В. Регионы биосферы – основа биогеохимического районирования // Биосфера и ее ресурсы. М., 1971. С. 90–131.

22. Ковальский В. В. Геохимическая экология – основа системы биогеохимического районирования // Биохимические циклы в биосфере: материалы VII Пленума СКОПЕ, Москва, 15–22 ноября 1974 г. М., 1976. С. 119–141.
23. Васильева Л. И., Кадацкий В. Б. Формы тяжелых металлов в почвах урбанизированных и заповедных территорий // Геохимия. 1998. № 4. С. 426–429.
24. Ильин В. Б. Тяжелые металлы в системе почва–растение. Новосибирск, 1991.
25. Пронина Н. Б. Экологические стрессы (причины, классификация, тестирование, физиолого-биохимические механизмы) : монография. М., 2000.
26. Тяжелые металлы в системе почва–растение–удобрение. М., 1997.
27. Гончарук Е. И., Сидоренко Г. И. Гигиеническое нормирование химических веществ в почве. М., 1986.
28. Саен Ю. Е., Несвижская Н. И. Изучение форм нахождения элементов во вторичных потоках рассеяния. М., 1974.
29. Kovalskiy V. V. Geochemical environment, health and diseases // Trace Subst. Environ. Health. Vol. 8 Columbia, Mo., 1974.
30. Бажанов С. Наблюдения над сорной растительностью в 2013 году на Бузулукском опытном поле и в его окрестностях // Тр. бюро по прикл. ботанике. Петроград, 1915. № 3 (78). С. 276–293.
31. Думанский А. Очерк растительности окрестностей г. Иваново-Вознесенска Владимирской губернии // Землеведение. Геогр. отделение. 1904. Кн. I–II. С. 114–156.
32. Ильминских Н. Г. Обзор работ по флоре и растительности городов // Географический вестник. 2011. Вып. 1(16). С. 49–65.
33. Ильминских Н. Г. Публикации по флоре и растительности аграрных участков в пределах городов Российской империи и СССР // Аграрный вестник Урала. 2012. № 5(97). С. 68–70.
34. Кузнецов Н. Опыт изучения сообществ сорной растительности // Труды Владимир. о-ва любителей естествознания. 1904. Т. I. Вып. II. С. 1–9.
35. Методические и организационные основы проведения агроэкологического мониторинга в интенсивном земледелии (На базе Географической сети опытов) / под. общ. ред. Н. З. Милащенко, Ш. И. Литвака. М., 1991.
36. Позняк И. С. Обоснование предельно допустимой концентрации кадмия в торфяной почве // Мед. новости. 2005. № 5. С. 69–71.
37. Унифицированные правила отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (утв. Минздравом СССР 21.08.1979 № 2051-79). М., 1979.
38. Кретович В. Л. Биохимия растений. М., 1986.
39. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. М., 1992.
40. Туликов А. М. Методы учета и картирования сорнополевой растительности. М., 1974.
41. Исаев В. В. Прогноз и картографирование сорняков. М., 1990.
42. Губанов И. А., Новиков В. С., Тихомиров В. Н. Определитель высших растений средней полосы европейской части СССР. М., 1981.
43. Фисюнов А. В. Сорные растения. М., 1984.
44. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб., 1995.

References

1. Perederiyeva V. M., Vlasova O. I., Shutko A. P. [Allelopathic properties of weed plants and their vegetable remains in the course of a mineralization]. *The Scientific magazine of KUBGAU*. 2011. No. 73(09). P. 1–3 (in Russ.).
2. Homich V. S., Kakareka S. V., Kukharchik T. I. [Ekogeokhimiya of city landscapes of Belarus]. Minsk, 2004 (in Russ.).
3. Glazovskaya M. A. [Methodological bases of assessment of ekologo-geochemical resistance of soils to technogenic influences]. Moscow, 1997 (in Russ.).
4. Solntsevo N. P. [Geochemical resistance of natural systems to technogenic loadings (principles and methods of studying, criteria of the forecast)]. *Extraction of minerals and geochemistry of natural systems*. Moscow, 1982. P. 181–215 (in Russ.).
5. Elpatyevskaya V. P. [Transformation of a vegetable cover in areas of mining production (Primorsky Krai)]. *Plants in monsoonal climate*. Vladivostok, 1998. P. 278–281 (in Russ.).
6. Pugachev A. A. [Sostoyaniye, antropogenicheskaya transformatsiya i restoratsiya pochvy i rastitel'nogo kompleksa ekstremalnogo severo-vostochnogo kraia]. Magadan, 2008 (in Russ.).
7. Voronov G. A. (ed.). [Land ecosystems of the island of Sakhalin (current state, natural and anthropogenic changes, protection and rational use of natural resources)]. Yuzhno-Sakhalinsk, 1999 (in Russ.).
8. Dobrovolsky V. V. [Some aspects of environmental pollution by heavy metals]. *Biological role of minerals*. Moscow, 1983. P. 44–54 (in Russ.).
9. Isermann K. [Einfluß der Phosphatdüngung auf den Cadmiumgehalt des Bodens, er-mittelt anhand zahlreicher Dauerversuche in Westeuropa]. *Landwirtschaftliche Forschung*. 1983. No. 39. – P. 283–301.
10. Grebenyuk G. A., Kharina S. G. [Migration of biogenous elements on a soil profile]. *Youth of the 21st century: step to the future: materials IV region. scien.-prakt. conf.* Blagoveshchensk, May 14–15, 2003. Blagoveshchensk, 2003. P. 405–407 (in Russ.).
11. Ilyin V. B., Syso A. I. [Minerals and heavy metals in soils and plants of the Novosibirsk region]. Novosibirsk, 2001 (in Russ.).
12. Vronsky V. A. [Applied ecology]. Rostov N / D., 1996 (in Russ.).
13. Kakareka S. V., Homich V. S., Kukharchik T. V., et al. [Emissions of heavy metals in the atmosphere: experience of assessment of specific indicators]. Minsk, 1998 (in Russ.).
14. Kalinovich A. S., Poznyak S. S., Romanovski Ch. A., et al. [Impact of production activity of RUP "BELAZ" on pollution of a soil cover of the territory of the plant and adjacent agricultural grounds] // *The Ecological messenger*. 2009. No. 1(7). P. 36–46 (in Russ.).
15. Paznyak S. S. [Influence of technogenic pollutants on change of a condition of agrofitotsenoz]. *Ekologicheskaya Antropologiya*. Minsk, 2007. P. 44–47 (in Russ.).
16. Paznyak S. S. [Content of some heavy metals in vegetation of field and meadow agrofitotsenoz in the conditions of technogenic pollution of a soil cover]. *Vestnik the Tomsk state. un-that. It is gray. Biology*. 2011. No. 1(13). P. 123–137 (in Russ.).

17. Paznyak S. S. [Emissions in the atmosphere as a pollution source]. *Technician without danger*. 2009. No. 1 (32). P. 5–7 (in Russ.).
18. Vazhenin I. G. [Roots of plants as bioindicator of level of impurity of the soil toxic elements]. *Agrochemistry*. 1984. No. 2. P. 73–77 (in Russ.).
19. Kovalsky V. V. [Periodic variability of chemical properties of organisms and its biological value]. *Progress we will tell lies. biology*, 1941. Vol. 14, issue 3. P. 380–423 (in Russ.).
20. Kovalsky V. V. [Geochemical ecology and its evolutionary direction]. *Izv. FN USSR. It is gray. biol. sciences*. 1963. Issue 6. P. 830–851 (in Russ.).
21. Kovalsky V. V. [Regions of the biosphere – a basis of biogeochemical division into districts]. *Biosphere and its resources*. Moscow, 1971. P. 90–131 (in Russ.).
22. Kovalsky V. V. [Geochemical ecology – a basis of a system of biogeochemical division into districts]. *Biochemical cycles in the biosphere: materials of the VII Plenum of SKOPE, Moscow, on November 15–22, 1974*. Moscow, 1976. P. 119–141 (in Russ.).
23. Vasilyeva L. I., Kadatsky V. B. [Forms of heavy metals in soils of the urbanized and reserved territories]. *Geochemistry*. 1998. No. 4. P. 426–429 (in Russ.).
24. Ilyin V. B. [Heavy metals in a system the soil plant]. Novosibirsk, 1991 (in Russ.).
25. Pronina N. B. [Ecological stresses (reasons, classification, testing, fiziologo-biochemical mechanisms): monograph]. Moscow, 2000 (in Russ.).
26. [Heavy metals in a system soil-plant-fertilizer]. Moscow, 1997 (in Russ.).
27. Goncharuk E. I., Sidorenko G. I. [Hygienic rationing of chemicals in the soil]. Moscow, 1986 (in Russ.).
28. Sayet Yu. E., Nesvizhskaya N. I. [Studying of forms of finding of elements in secondary streams of dispersion]. Moscow, 1974 (in Russ.).
29. Kovalskiy V. V. [Geochemical environment, health and diseases]. *Trace Subst. Environ. Health*. Vol. 8. Columbia, Mo., 1974. P. 137 (in Russ.).
30. Bazhanov C. [Observations over weed vegetation in 2013 on the Buzuluk pilot field and in its vicinities]. *Tr. bureau on nputk. to botany*. Petrograd, 1915. No. 3 (78). P. 276–293 (in Russ.).
31. Dumansky A. [Ocherk of vegetation of vicinities of Ivanovo-Voznesensk of the Vladimir province]. *Physical geography*. 1904. Book I–II. P. 114–156 (in Russ.).
32. Ilminskikh N. G. [Review of works on flora and vegetation of the cities]. *Geographical messenger*. 2011. Issue 1(16). P. 49–65 (in Russ.).
33. Ilminskikh N. G. [Publications on flora and vegetation of agrarian sites within the cities of the Russian Empire and the USSR]. *Agrarian bulletin of the Urals*. 2012. No. 5(97). P. 68–70 (in Russ.).
34. Smiths N. [Experience of studying of communities of weed vegetation]. *Tr. Vladimir. islands of fans of natural sciences*. 1904. Vol. 1. Issue II. P. 1–9 (in Russ.).
35. Milashchenko N. Z., Litvak Sh. I. (eds.) [Methodical and organizational bases of carrying out agroecological monitoring in intensive agriculture (On the basis of Geographical network of experiences)]. Moscow, 1991 (in Russ.).
36. Poznyak, I. S. [Justification of threshold limit value of cadmium in the peat soil]. *Medical news*. 2005. No. 5. P. 69–71 (in Russ.).
37. [The unified rules of sampling of agricultural products, foodstuff and objects of the environment for determination of microamounts of pesticides (Ministry of Health of the USSR 21.08.1979 No. 2051-79)]: methodical instructions. Moscow, 1979 (in Russ.).
38. Kretovich V. L. [Biokhimiya of plants]. Moscow, 1986 (in Russ.).
39. [Methodical instructions by definition of heavy metals in soils of farmlands and products of crop production]. Moscow, 1992 (in Russ.).
40. Tulikov A. M. [Methods of account and mapping of sornopolevy vegetation. Moscow, 1974 (in Russ.).
41. Isaev V. V. [Forecast and mapping of weeds] Moscow, 1990 (in Russ.).
42. Gubanov I. A., Novikov V. S., Tikhomirov V. N. [Opredelitel of the higher plants of a midland of the European part of the USSR]. Moscow, 1981 (in Russ.).
43. Fisyunov A. V. [Weed plants]. Moscow, 1984 (in Russ.).
44. Cherepanov S. K. [Vascular plants of Russia and adjacent states]. St. Petersburg, 1995 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 05.11.2018
Received by editorial board 05.11.2018

СОДЕРЖАНИЕ

СОЦИАЛЬНО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ УСТОЙЧИВОГО РАЗВИТИЯ

<i>Шушунова Т. Н.</i> Урбанизированное пространство: социальные и экологические аспекты безопасности игровых площадок для детей и молодежи	4
--	---

ИЗУЧЕНИЕ И РЕАБИЛИТАЦИЯ ЭКОСИСТЕМ

<i>Калашикова А. И., Ясовеев М. Г.</i> Критерии оценки и территориальная дифференциация геоэкологических условий под воздействием фактора техногенеза	12
<i>Макаренко А. И.</i> Размерно-весовые зависимости нативных и чужеродных видов амфипод (Amphipoda, Crustacea) на территории Беларуси	20
<i>Макаренко А. И., Вежновец В. В.</i> Биотопическая приуроченность чужеродных и нативных видов разноногих ракообразных (Amphipoda, Crustacea) в условиях водоемов Беларуси	29
<i>Михеева Т. М., Смольская О. С., Савич И. В., Жукова А. А.</i> Связь спектральных характеристик пигментного состава и структурных показателей фитопланктона р. Свислочь	42
<i>Храмченкова О. М., Матвеевков М. В.</i> Фотозащитная активность экстрактов из пяти видов лишайников в отношении кератиноцитов человека (HaCAT)	52

РАДИОЭКОЛОГИЯ И РАДИОБИОЛОГИЯ, РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

<i>Костецкая Т. В., Батян А. Н., Лобай М. В.</i> Основные принципы популяционного онкологического скрининга в современной радиоэкологической обстановке: от рутинного скрининга рака молочной железы к персонализированному скринингу	63
---	----

МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

<i>Бакунович А. В., Буланова К. Я.</i> Структурные и функциональные перестройки тромбоцитов при преэклампсии беременных	76
<i>Зафранская М. М.</i> Иммуномодулирующие свойства циклического димерного гуанозинмонофосфата и его структурных аналогов	84
<i>Смолякова Р. М.</i> Молекулярно-биологическая диагностика аденокарцином из невыявленного первичного очага	94
<i>Смолякова Р. М.</i> Прогностическая значимость оценки лекарственной чувствительности при колоректальном раке	101
<i>Петренко С. В., Леушев Б. Ю., Гуляева Л. С., Никитин Д. А., Лаптевок С. В.</i> Изучение обеспеченности микроэлементами селена, йода, железа и цинка населения различных экологических регионов Республики Беларусь с высокими показателями заболеваемости щитовидной железой	109
<i>Лисовская М. В., Квасюк Е. И.</i> Синтез эфиров эмоксипина	119

ПРОМЫШЛЕННАЯ И АГРАРНАЯ ЭКОЛОГИЯ

<i>Позняк С. С.</i> Мониторинг состояния окружающей среды с использованием растительных тест-объектов	128
---	-----

CONTENTS

SOCIAL AND ENVIRONMENTAL PROBLEMS OF SUSTAINABLE DEVELOPMENT

<i>Shushunova T. N.</i> Urbanization space: social and ecological aspects of safety of playgrounds for children and youth.....	4
--	---

THE STUDY AND REHABILITATION OF ECOSYSTEMS

<i>Kalashnikava A. I., Yasoveev M. G.</i> Criteria of evaluation and territorial differentiation of geoecological conditions under the influence of the factor of technogenesis	12
<i>Makaranka A. I.</i> Depending on size and weight of native and alien species of amphipods (Amphipoda, Crustacea) on the territory of Belarus	20
<i>Makaranka A. I., Vezhnayets V. V.</i> Biotopic confinement of alien and native species of different-legged crustaceans (Amphipoda, Crustacea) in the conditions of waterbodies of Belarus.....	29
<i>Mikheeva T. M., Smolskaya V. S., Savich I. V., Zhukava H. A.</i> Coupling of spectral characteristics of pigmental composition and structural indicators of phytoplankton in Svisloch river.....	42
<i>Khramchankova V. M., Matveyenkau M. V.</i> Photoprotective activity of extracts from the five lichen species against human keratinocyte (HaCAT).....	52

RADIOECOLOGY AND RADIOBIOLOGY, RADIATION SAFETY

<i>Kostetskaya T. V., Batyan A. N., Labai M. V.</i> Basic principles of population oncological screening in modern radio-ecological situation: routine screening of breast cancer to personalized screening.....	63
--	----

MEDICAL ECOLOGY

<i>Bakunovich A. V., Bulanova K. Ya.</i> Structural and functional alterations of platelets in pregnant women with preeclampsia	76
<i>Zafranskaya M. M.</i> Immunomodulating properties of cyclic dimeric guanozinmonophosphate and its structural analogues.....	84
<i>Smalyakova R. M.</i> Molecular biological diagnostics of adenocarcinomas from an undetected primary focus	94
<i>Smalyakova R. M.</i> The predictive value of the assessment of medicinal sensitivity in colorectal cancer.....	101
<i>Petrenko S. V., Leushev B. Yu., Gulyaeva L. S., Nikitin D. A., Laptinok S. A.</i> Se, I, Fe, and Zn supply in population of various ecological regions of the Republic of Belarus with high incidence of thyroid disorders	109
<i>Lisovskaya M. V., Kvasnyuk E. I.</i> Synthesis of esters of emoxypine	119

INDUSTRIAL AND AGRICULTURAL ECOLOGY

<i>Pazniak S. S.</i> Environmental monitoring using plant test objects	128
--	-----

Журнал включен Высшей аттестационной комиссией Республики Беларусь в Перечень научных изданий для опубликования результатов диссертационных исследований по биологическим, сельскохозяйственным и техническим (экология) наукам.

Журнал включен в библиографическую базу данных научных публикаций «Российский индекс научного цитирования» (РИНЦ).

**Журнал Белорусского
государственного университета. Экология.
№ 4. 2018**

Учредитель:
Белорусский государственный университет

Юридический адрес: пр. Независимости, 4,
220030, Минск.

Почтовый адрес: ул. Долгобродская, 23/1, каб. 205-2, 302,
220070, Минск.
Тел. 398-89-34, 398-93-44.
E-mail: bulletin@iseu.by

«Журнал Белорусского государственного
университета. Экология» издается с сентября 2017 г.
До августа 2017 г. выходил под названием
«Экологический вестник»
(ISSN 1994-2087).

Редакторы *Л. М. Кореневская, Т. А. Лавринович*
Технический редактор *М. Ю. Мошкова*
Корректор *А. В. Красуцкая*

Подписано в печать 29.12.2018.
Тираж 100 экз. Заказ 453.

Республиканское унитарное предприятие
«Информационно-вычислительный центр
Министерства финансов Республики Беларусь»
ЛП № 02330/89 от 3 марта 2014.
Ул. Кальварийская, 17, 220004, Минск.

© БГУ, 2018

**Journal
of the Belarusian State University. Ecology.
No. 4. 2018**

Founder:
Belarusian State University

Registered address: Nezavisimosti ave., 4,
220030, Minsk.

Correspondence address: Dolgobrodskaya str., 23/1, office 205-2, 302,
220070, Minsk.
Tel. 398-89-34, 398-93-44.
E-mail: bulletin@iseu.by

«Journal of the Belarusian State University. Ecology»
published since September, 2017.
Until August, 2017 named «Ekologicheskii vestnik»
(ISSN 1994-2087).

Editors *L. M. Korenevskaya, T. A. Lavrinovich*
Technical editor *M. Yu. Moshkova*
Proofreader *A. V. Krasutskaya*

Signed print 29.12.2018.
Edition 100 copies. Order number 453.

RUE "Information Computing Center of the Ministry
of Finance of the Republic of Belarus".
License for publishing No. 02330/89, 3 March, 2014.
Kalvaryjskaya str., 17, 220004, Minsk.

© BSU, 2018