

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический
университет имени И.Н. Ульянова»



Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных
проблем биозологии и биотехнологии



**МАТЕРИАЛЫ
VI ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ**

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ПРИОРИТЕТНЫМ
НАПРАВЛЕНИЯМ БИОЭКОЛОГИИ
И БИОТЕХНОЛОГИИ**

22 мая 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ульяновский государственный педагогический университет
им. И.Н. Ульянова»

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ПРИОРИТЕТНЫМ
НАПРАВЛЕНИЯМ БИОЭКОЛОГИИ
И БИОТЕХНОЛОГИИ**

Сборник материалов
VI Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием
(Ульяновск, 22 мая 2023 г.)

Чебоксары
Издательский дом «Среда»
2023

УДК 57
ББК 28
Ф94

*Рекомендовано к публикации на основании распоряжения
ФГБОУ ВО «УлГПУ» № 1 от 16.01.2023*

Рецензенты:

Беззубенкова Ольга Евгеньевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии НИЦ ФППББ, доцент кафедры биологии и химии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Коняев Игорь Сергеевич, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИЦ ФППББ, доцент кафедры биологии и химии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Масленников Андрей Викторович, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лабораторией экологии и проблем биоразнообразия НИЦ ФППББ, доцент кафедры биологии и химии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Редакционная коллегия:

Антонова Елена Ивановна, главный редактор, д-р биол. наук, директор НИЦ ФППББ, профессор кафедры биологии и химии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Ленгесова Наталья Анатольевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории морфологии НИЦ ФППББ, доцент кафедры биологии и химии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Куницына Анастасия Владимировна, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии НИЦ ФППББ, ассистент кафедры биологии и химии ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова»

Фирсова Наталья Викторовна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИЦ ФППББ ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Ф94 **Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии: сборник материалов VI Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием (Ульяновск, 22 мая 2023 г.) / гл. ред. Е.И. Антонова; Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова. – Чебоксары: Среда, 2023. – 260 с.**

ISBN 978-5-907688-37-7

В сборнике представлены статьи участников VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии». В материалах сборника приведены результаты теоретических и прикладных изысканий представителей научного и образовательного сообщества в области биологии и медицины. Статьи представлены в авторской редакции.

© ФГБОУ ВО «Ульяновский
государственный педагогический
университет им. И.Н. Ульянова», 2023
© Издательский дом «Среда», 2023

ISBN 978-5-907688-37-7
DOI 10.31483/a-10473

Предисловие

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ульяновский государственный педагогический университет имени И.Н. Ульянова» представляет сборник материалов по итогам VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием **«Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии»**.

В сборнике представлены статьи участников VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии». В материалах сборника приведены результаты теоретических и прикладных изысканий представителей научного и образовательного сообщества в области биологии и медицины.

По содержанию публикации разделены на основные направления:

1. Актуальные вопросы биоэкологии, систематики, анатомии и морфологии животных и растений.
2. Молекулярная биология, генетика, микробиология.
3. Биомедицинские технологии и биоинформатика.
4. Клеточная биология, цитология, гистология, анатомия и физиология.
5. Биохимия и токсикология (биохимические, иммунологические, токсикологические исследования).
6. Педагогические аспекты преподавания дисциплин естественнонаучного цикла.

Авторский коллектив сборника представлен городами России (Москва, Санкт-Петербург, Великий Новгород, Воронеж, Екатеринбург, Казань, Калининград, Краснодар, Омск, Пушкин, Ульяновск, Уфа, Шадринск) и Республики Беларусь (Минск).

Среди образовательных учреждений выделяются университеты и институты России (Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина, Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, Ленинградский государственный университет им. А.С.

Пушкина, Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, Московский педагогический государственный университет, Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого, Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Омский государственный педагогический университет, Российский государственный социальный университет, Российский национальный исследовательский медицинский университет, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербургский университет МВД России, Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова, Уральский государственный университет путей сообщения, Шадринский государственный педагогический университет), и Республики Беларусь (Белорусский государственный медицинский университет).

Участники конференции представляют собой разные уровни образования и науки: доктора и кандидаты наук, профессора и доценты, научные сотрудники, аспиранты, магистранты, студенты, преподаватели вузов.

Редакционная коллегия выражает глубокую признательность нашим уважаемым авторам за активную жизненную позицию, желание поделиться уникальными разработками и проектами, публикацию в сборнике материалов по итогам проведенной конференции **«Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии»**, содержание которого не может быть исчерпано. Ждем Ваши публикации и надеемся на дальнейшее сотрудничество.

Главный редактор
доктор биологических наук,
директор НИЦ ФППБ,
профессор кафедры биологии и химии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
Е.И. Антонова

Оглавление

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЭКОЛОГИИ, СИСТЕМАТИКИ, АНАТОМИИ И МОРФОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ И РАСТЕНИЙ

Бочкарева А.Г., Абузяров Р.М. Анализ заболеваемости и условий содержания в торговой сети зоомагазинов волнистых попугайчиков (*Melopsittacus undulatus*) (на примере городов Москва и Люберцы) 8

Буруккина О.А. Выбросы углекислого газа и возможности депонирования углерода 13

Ефремов А.Н., Пликина Н.В. Природоохранный статус видов рода *Allium* L. в Омской области 23

Кузнецова М.Н. Один день в тропическом дождевом лесу Синхараджи 30

Масленников А.В., Масленникова Л.А., Терехина Л.Д. Состояние популяций охраняемого вида истода сибирского (*Polygala sibirica* L.) в 2022 году в Тушинских степях на территории национального парка «Сенгилеевские горы» 34

Масленников А.В., Масленникова Л.А., Терехина Л.Д. Большеключищенские полянно-опушечные псаммофильные комплексы – центры сохранения редкого охраняемого эндемичного вида ириса борového (*Iris pineticola* Klok.) 41

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, ГЕНЕТИКА, МИКРОБИОЛОГИЯ

Андреева Л.В. Исследование микрофлоры в почвах различных функциональных зон в окрестностях Великого Новгорода 46

Андреева Н.Ю., Кабве Э., Давидюк Ю.Н. Молекулярно-генетический анализ последовательности гена ENV вируса иммунодефицита человека на территории Республики Татарстан 50

Елбоева П.И., Давидюк Ю.Н. Молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей генома *Puumala orthohantavirus*, выявленных в Республике Мордовия 57

Куницына А.В., Королева А.К., Ачилов А.Б., Антонова Е.И. Оценка мутационного статуса генов *BRAF*, *NRAS* и *CDKN2A* в доброкачественных образованиях кожи 66

Насыров Т.Р., Давидюк Ю.Н. Анализ генома штаммов *Puumala orthohantavirus*, выявленных в Бавлинском районе Республики Татарстан 74

Рашитова С.Д., Куницына А.В., Фирсова Н.В., Ленгесова Н.А., Якунин С.В., Антонова Е.И. Хромосомная нестабильность в культивируемых клетках кожи человека после УФ облучения 81

Шахматова А.А., Шитова И.А., Антонова Е.И. Микробиом респираторного тракта при острых респираторных заболеваниях 90

БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ И БИОИНФОРМАТИКА

Федоров Д.А. Проверка гипотезы о случайном характере увеличения с возрастом частоты генотипа 5/5 27bp VNTR intron4 гена NOS3 у мужчин Северо-западного региона России с помощью непараметрического парного критерия знаковых рангов. 99

Хуссейн А.М.А. Профессиональные факторы и факторы окружающей среды влияют на качество спермы: как воздействие механической вибрации влияет на репродуктивные показатели..... 103

Чернов А.В., Борисова Е.А., Панина И.Л. Реабилитация пациентов, перенесших COVID–19, с применением методов восстановительной медицины 113

КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ, АНАТОМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

Ерофеева Л.М., Дорохович Г.П. Адаптационный потенциал тимуса крыс при воздействии гипергравитации силой 2g в различных режимах..... 125

Куницына А.В., Красникова К.А., Ачилов А.Б., Антонова Е.И., Балацук Е.В., Фирсова Н.В. Иммуногистохимические маркеры как инструмент определения биологического потенциала пигментных невусов кожи с мутацией гена *BRAF*^{V600} 131

Мусалимова Р.С., Сюндюкова А.Р. Взаимосвязь между заболеваемостью COVID-19 и группой крови человека..... 142

Торутанов П.С., Антонова Е.И. Оптимизация протокола изготовления постоянных гистологических препаратов растений в качестве демонстрационного материала для образовательных учреждений 145

Федоров Д.А., Фролова М.Ю., Красовская И.Е., Кулева Н.В. Влияние ингибирования HIF1 топотеканом и посткондиционирования на биомаркеры сердечной и скелетных мышц при тяжёлой гипоксии..... 151

Фирсова Н.В., Ачилов А.Б., Антонова Е.И., Ленгесова Н.А., Сихарулидзе С.В. Иммунофенотипирование клеток кожи человека в системе In vitro в качестве подготовительного этапа для сепарации клеток (пилотный эксперимент) 155

Фирсова Н.В., Савельева В.А., Ленгесова Н.А., Сихарулидзе С.В., Антонова Е.И. Влияние длительности хранения криоконсервированных культивированных клеток кожи человека на их жизнеспособность 160

Хуссейн А.М.А. Механотрансдукция: как клетки воспринимают механическую стимуляцию и реагируют на нее 168

БИОХИМИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

- Зимнуров А.Р., Рашитова С.Д., Цвилик Л.Н., Иванушкин А.С., Фирсова Н.В., Ачилов А.Б., Антонова Е.И.* Уровень иммуноглобулинов в периферической крови у детей различной возрастной группы с клиническим диагнозом атопический дерматит..... 183
- Локтева А.С.* Влияние пре- и пробиотических препаратов на иммунобиохимические показатели телят с диарейным симптомо-комплексом 190
- Лугаськова Н.В., Сафронова Е.Б.* Токсикологическая оценка негативного воздействия предприятий железнодорожного транспорта 195

ПЕДАГОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИН ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО ЦИКЛА

- Ачилов А.Б., Ленгесова Н.А., Антонова Е.И.* Организация практического курса по общей биологии в рамках внеурочной деятельности старшеклассников..... 202
- Биличенко Д.А., Орехова М.С.* Экологическая культура и экологическое воспитание общества 205
- Додонова Ю.В., Пырова С.А.* Использование проблемного обучения на уроках биологии 208
- Коняев И.С., Мангушева В.Ф.* Проблемы подготовки школьников к всероссийской олимпиаде по биологии в Ульяновской области..... 217
- Костенко Е.Г.* Математическое моделирование в спортивных исследованиях..... 226
- Ленгесова Н.А., Беззубенкова О.Е.* Особенности подготовки обучающихся к участию во Всероссийской олимпиаде школьников по биологии..... 230
- Ленгесова Н.А., Беззубенкова О.Е., Араданова Р.А.* Демонстрационный экзамен как форма аттестации будущих педагогов..... 235
- Мнихович М.В., Ерофеева Л.М., Безуглова Т.В., Жакота Д.А., Ширипенко И.А.* Студенческий научный кружок: способ реализации практико-ориентированного подхода к организации учебного процесса на морфологических кафедрах 240
- Силина Ю.А., Пырова С.А.* Формирование мотивации к здоровому образу жизни у школьников на уроках биологии..... 244
- Степанова П.А., Булат Р.Е.* Реализация проблемного обучения на уроках биологии 248
- Суворова А.И., Кривоногов Н.А.* Ядра экологического каркаса как элемент устойчивого развития территории..... 254

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЭКОЛОГИИ, СИСТЕМАТИКИ, АНАТОМИИ И МОРФОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ И РАСТЕНИЙ

*Бочкарева Алла Геннадьевна*¹
канд. биол. наук, доцент

*Абузяров Рушан Маратович*²
экскурсовод

¹ФГБОУ ВО «Московский педагогический
государственный университет»

²ГПБУ «Мосприрода»
г. Москва

DOI 10.31483/r-107126

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ И УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ В ТОРГОВОЙ СЕТИ ЗООМАГАЗИНОВ ВОЛНИСТЫХ ПОПУГАЙЧИКОВ (MELOPSITTACUS UNDULATUS) (НА ПРИМЕРЕ ГОРОДОВ МОСКВА И ЛЮБЕРЦЫ)

Аннотация: авторами проведен мониторинг заболеваемости волнистых попугайчиков полиомавирусом и кнемидокоптозом на базе данных ветеринарной клиники, а также условий содержания птиц в торговой сети зоомагазинов как возможного фактора риска распространения данных инфекций.

Ключевые слова: волнистые попугайчики, заболеваемость птиц, полиомавирус, кнемидокоптоз, зоомагазины, условия содержания птиц.

В последние десятилетия меняется отношение общества к домашним питомцам. Все чаще люди приобретают животных как домашних любимцев, чтобы скрыть собственное одиночество или воспитать у ребенка чувство привязанности и любви к природе. Потребность в домашних животных особенно возросла в период пандемии COVID-19.

Животные, как правило, приобретаются через сеть зоомагазинов или у заводчиков. При этом условия содержания животных, даже в специализированных зоомагазинах, зачастую не отвечают санитарным и физиологическим нормам [1]. Особую опасность представляет незаконная транспортировка, ввоз и продажа живых

объектов, в том числе птиц на вторичном рынке, их продажа по частным зоопаркам, что приводит к их гибели и вспышке заболеваемости [2]. В зоомагазины часто поступают животные без соблюдения карантинных мер или без видимых признаков инфекции в виде носительства, что также повышает риск заражения здоровых животных [2].

В связи с чем, в сентябре 2022 года Госдумой во втором чтении был принят Законопроект №1221720-7 «О внесении изменений в статьи 5 и 11 Федерального закона «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» (в части установления дополнительных мер защиты животных от жестокого обращения)», запрещающий торговлю животными в зоомагазинах и на птичьих рынках. Принятие данного закона – это серьезный шаг ограничения контрабанды и бизнеса животными. Но, к сожалению, ограничения, согласно законопроекту, касаются в основном млекопитающих (кошки, собаки) и не затрагивают других классов животных, включая птиц [8]. В связи с этим изучение условий содержания птиц в условиях торговли, как возможного риска их заболеваемости и смертности, является весьма актуальным.

С этой целью нами был проведен анализ заболеваемости птиц на примере волнистого попугайчика (*Melopsittacus undulatus*), как наиболее популярного домашнего питомца, на базе ветеринарной клиники «Доктора Пилюлькина» (г. Люберцы) и мониторинг условий содержания попугаев перед их продажей как возможного риска заражения инфекциями в торговой сети зоомагазинов (городов Москва и Люберцы).

Большинство ветеринарных клиник, включая клинику «Доктора Пилюлькина», специализируются на приеме млекопитающих (кошки, собаки), поэтому частота орнитологических пациентов относительно невелика. Согласно опросу ветеринарных врачей клиники и анализу заболеваемости, полученного нами по запросу в эту клинику за период с июня по октябрь 2022 года, наиболее распространенными инфекциями птиц выступают полиомавирус и кнемидокоптоз (рис. 1). Наши данные совпадают со статистикой заболеваемости попугаев, полученными другими авторами [5; 6].



Рис. 1. Процентное соотношение заболеваний у волнистых попугайчиков (по данным клиники «Доктора Пиюлькина» (июнь–октябрь 2022 года))

Полиомавирус в настоящее время неизлечим и может передаваться при попадании в воздухоносные пути перьевой пудры, фекально-орально, при кормлении птенцов инфицированными родителями, контактно-бытовым путём (кормушки, поилки, ящики, клетки, аксессуары по уходу). Вирус может присутствовать во всех жидкостях и системах организма: в моче, сперме, помёте, в желудочно-кишечном тракте, почках и т. д. Чаще всего инфекцию распространяют птицы-носители, у которых не наблюдается симптомов заболевания [2; 4].

Кнемидокоптоз или «чесотка птиц» передается клещом, и при тесном контакте в маленьких клетках также вызывает быстрое заражение [2; 3].

Согласно данным медицинских карт попугаев-пациентов клиники, практически все птицы приобретались через торговую сеть зоомагазинов. Поэтому инфицирование, вероятно, происходило еще в период их продажи. При этом птицы приобретались хозяевами без видимых признаков заболевания, возможно, в латентные периоды развития болезни или в состоянии носительства.

Попугаи домашнего содержания, как правило сильно ограничены в свободе, и большинство их содержится исключительно в клетках или вольерах. В условиях магазинов попугаи находятся группами. Соответственно, размер клетки или вольера следует подбирать по количеству особей [7]. По нормативным актам размер клетки должен быть таким, чтобы каждый попугай имел возможность расправить крылья и помахать ими, не задевая ее сте-

нок. Это позволяет несколько компенсировать недостаток движения, вызванный ограниченными размерами клетки. Содержание в тесных клетках в условиях скученности также может привести к развитию стресса, снижению иммунитета, что также повышает риск заражения птиц.

Для оценки условий содержания попугаев нами исследовался нормативный показатель плотности содержания мелких птиц и грызунов в клетке на витринах зоомагазинов (количество кубических сантиметров на одного волнистого попугайчика в клетке). В качестве нормативно регулирующего документа было взято постановление Правительства РФ от 30 декабря 2019 г. №1937 «Об утверждении требований к использованию животных в культурно-зрелищных целях и их содержанию» [7].

Данные по состоянию содержания волнистых попугайчиков собирались нами на базе зоомагазинов Восточного административного округа города Москвы, а также города Люберцы. Для этого был посещен 21 зоомагазин, различных сетей продажи: «Четыре лапы», «Бетховен», «Динозаврик», «Ле'Муррр» и др. Данные мониторинга представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты наблюдения за содержанием волнистых попугайчиков в зоомагазинах (городов Москва и Люберцы за период июнь–октябрь 2022 года)

Номер магазина	Объём клетки (см ³)	Кол-во попугаев в одной клетке	Объём необходимый для данного количества птиц
1	2	3	4
1	180000	2	131250
2*	120000	7	162500
3*	80000	7	162500
4*	80000	5	150000
5*	100000	8	168750
6*	80000	2	131250
7*	80000	3	137500
8*	80000	5	150000
9*	180000	5	150000
10*	80000	6	156250
11*	80000	3	137500
12	222750	6	156250
13*	100000	6	156250

<i>Окончание таблицы 1</i>			
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
14*	100000	6	156250
15*	100000	2	131250
16*	100000	4	143750
17*	125000	9	175000
18*	125000	4	143750
19*	100000	3	137500
20	240000	7	162500
21*	87500	2	131250

*магазины, не соблюдающие нормы содержания птиц по размерам клеток.

Согласно мониторингу условий содержания попугаев, в 81% рассматриваемых торговых точек зоомагазинов не соблюдаются нормы по плотности содержания птиц (рис. 2) [7]. Что может быть причиной распространения инфекции, смертности и носительству у птиц. Особое значение в этом аспекте приобретает факт введения карантинных мер в связи с распространением птичьего гриппа в Южном и Юго-Восточном административном округах города Москвы.



Рис. 2. Содержание волнистых попугайчиков в клетке с нарушением норм по плотности особей в одной клетке (фото из магазина №3)

Список литературы

1. Бирмелин И. Волнистые попугаи / Иммануэль Бирмелин. – М.: Омега, 2002 – 64 с.
2. Латыпов Д.Г. Паразитарные болезни птиц / Д.Г. Латыпов. – СПб.: Лань, 2021 – 156 с.
3. Abou-Alsoud M.E., Karrouf G.I. (2017). Diagnosis and Management of Knemidocoptes Pilate in Budgerigars (Melopsittacus Undulates): Case Reports In Egypt. Mathews J Vet Sci. 2 (1): 007.
4. Adiguzel M.C., Timurkan M.O., Cengiz S. Investigation and Sequence Analysis of Avian Polyomavirus and Psittacine Beak and Feather Disease Virus from Companion Birds in Eastern Turkey. J Vet Res. 2020 Oct 15; 64 (4): 495–501. doi: 10.2478/jvetres-2020-0066. PMID: 33367137; PMCID: PMC7734688.
5. Hygiene Protocols for the Prevention and Control of Diseases (Particularly Beak and Feather Disease) in Australian Birds Department of the Environment and Heritage, 2006.
6. Unusual fatal avian polyomavirus infection in nestling cockatiels (Nymphicus hollandicus) detected by nested polymerase chain reaction, Veterinarni Medicina, 52, 2007 (5): 193–201.
7. Постановление Правительства Российской Федерации от 30 декабря 2019 г. №1937 «Об утверждении требований к использованию животных в культурно-зрелищных целях и их содержанию» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.mos.ru/moskomvet/documents/fedlaws/view/235412220/>
8. Законопроект № 1221720-7О внесении изменений в статьи 5 и 11 Федерального закона «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» (в части установления дополнительных мер защиты животных от жестокого обращения) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://sozd.duma.gov.ru/bill/1221720-7>

Бурукина Ольга Алексеевна

канд. филол. наук, аспирант

ФГБОУ ВО «Российский государственный социальный университет»
г. Москва

ВЫБРОСЫ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА И ВОЗМОЖНОСТИ ДЕПОНИРОВАНИЯ УГЛЕРОДА

Аннотация: отчет Всемирной метеорологической организации (ВМО) 2021 г., в котором было отмечено достижение небывало высокого уровня содержания трех основных парниковых газов – углекислого газа, метана и закиси азота – в атмосфере Земли, стал зло-

вещим предупреждением о кардинальном изменении климата. В статье проводится анализ современного состояния атмосферы с учетом эмиссии CO₂ основными постиндустриальными державами и развивающимися странами, а также возможных путей преодоления кризиса практически неконтролируемых выбросов парниковых газов в атмосферу, в первую очередь технологий улавливания и удержания CO₂ за пределами атмосферы. Автор делает выводы о необходимости выработки глобальной стратегии на уровне конвенции ООН для принятия всеми подписантами соответствующих обязательств и введения согласованных и широкомасштабных мер по предотвращению увеличения объемов парниковых газов в атмосфере Земли.

Ключевые слова: эмиссия углекислого газа, парниковый эффект, выбросы CO₂, улавливание CO₂, депонирование углерода.

Введение. Эмиссия CO₂ в глобальном масштабе от добычи ископаемого топлива и промышленности в 2021 г. составили 37,12 млрд метрических тонн (ГтCO₂). Согласно прогнозам экспертом Статиста (Statista – авторитетная немецкая онлайн-платформа, специализирующаяся на сборе и визуализации данных, составляющая статистические отчеты, в том числе отчеты о состоянии рынков, тщательно отбирающая информацию о потребителях и коммерческих компаниях на немецком, английском, испанском и французском языках), в 2022 г. выбросы выросли на 0,9% до 37,5 Гт CO₂. Этот уровень эмиссии CO₂ стал самым высоким за всю историю существования человечества.

Таким образом, за тридцать с небольшим лет – с 1990 по 2022 г. выбросы CO₂ по всему миру увеличились более чем на 60% [1]. Двумя крупнейшими источниками выбросов CO₂ в мире являются Китай и США, которые в 2021 г. произвели 11,47 и 5,01 Гт CO₂, соответственно [2].

Одной из основных причин роста выбросов CO₂ стало экономическое развитие стран во всем мире, особенно в Азии. Так, Китай не всегда являлся крупнейшим источником выбросов CO₂ в мире, но быстрый экономический рост и индустриализация привели в последние десятилетия к резкому увеличению выбросов CO₂ в этой стране. Заметим, что в период с 1990 по 2021 гг. выбросы CO₂ в Китае увеличились более чем на 400%. Аналогичные

темпы роста выбросов наблюдались в этот период и в Индии. Для сравнения: уровень CO_2 в США с 1990 г. упал более чем на 6%. И тем не менее, США остаются крупнейшим эмитентом CO_2 в мире.

Закономерным результатом ограничений, введенных в связи со вспышкой COVID-19 в 2019–2020 гг., стало резкое уменьшение глобальных выбросов на 5% в 2020 г. И это был не единственный случай в истории, когда событие глобального масштаба привело к сокращению выбросов. Так, глобальная рецессия 2009 г. привела к снижению уровня CO_2 на 2%, как и рецессия начала 1980-х гг., также оказавшее заметное влияние на объемы эмиссии CO_2 в мировом масштабе. За всю историю человечества самое большое сокращение выбросов CO_2 в процентном отношении пришлось на конец Второй мировой войны в 1945 г., когда выбросы уменьшились на 17% [3].

Увеличение объема выбросов CO_2 . Выбросы CO_2 являются основным фактором глобального изменения климата. Общеизвестно, что во избежание наихудших последствий изменения климата, человечеству необходимо срочно сократить выбросы CO_2 . Но камнем преткновения в мировом сотрудничестве по этому вопросу является проблема ответственности, а именно вопрос о том, как ответственность за эмиссию CO_2 распределяется между регионами, странами и отдельными лицами [2]. Бесконечные споры в международных дискуссиях возникают, в первую очередь, из-за отсутствия общепринятых способов сравнения выбросов CO_2 : следует ли подсчитывать ежегодные выбросы по странам или выбросы на человека в глобальном масштабе, нужно ли сравнивать исторический вклад каждой страны, и какова при этом будет методика подсчета, нужно ли и как именно учитывать продаваемые странами товары и услуги. Очевидно, что эти показатели дают разнобразные характеристики [4].

Так, по данным EDGAR, в 2020 г. список стран по объему выбросов CO_2 в мире возглавили Китай (11680,42 млн т), США (4535,30 млн т) и Индия (2411,73 млн т). Россия занимала 4-е место по объемам выбросов CO_2 (1674,23 млн т), опережая Японию (1061,77 млн т) и Иран (690,24 млн т) [3]. Обратим внимание читателя, что в 2020 г. объемы эмиссии CO_2 , произведенные Китаем, стремительно развивающимся в экономическом отношении, пре-

высили совокупный объем CO₂ следующих за ним пяти стран – США, Индии, России, Японии и Ирана.

По совокупным объемам эмиссии CO₂ лидерами являются Китай (11680,42 млн т), США (4535,30 млн т) и Индия (2411,73 млн т), тогда как, согласно статистике выбросов CO₂ на душу населения, крупнейшими в мире источниками выбросов CO₂ на душу населения в 2020 г. стали основные нефтедобывающие страны Ближнего Востока и, в первую очередь те, у кого относительно небольшая численность населения.

Так, согласно этому показателю, в 2017 г. самые большие объемы выбросов CO₂ на душу населения были произведены в Катаре – 49 т на человека, за ним следовали Тринидад и Тобаго (30 т); Кувейт (25 т); Объединенные Арабские Эмираты (25 т), Бруней (24 т), Бахрейн (123 т) и Саудовская Аравия (19 т) [2].

Однако население многих крупных производителей нефти относительно невелико, а это означает, что совокупные объемы их годовых выбросов CO₂ сравнительно малы. Поэтому более густонаселенные страны, имеющие невысокие показатели объема выбросов на душу населения, имеют тем не менее, высокие совокупные показатели эмиссии CO₂. К этим странам относятся США, Австралия и Канада. Хотя в Австралии средний углеродный след на душу населения составляет 17 т, за ней следуют США – 16,2 т и Канада – 15,6 т [6], годовой совокупный объем эмиссии CO₂ выводит США в тройку лидеров.

Экономический анализ позволяет выявить четкую корреляцию между показателями экономического развития и годовыми объемами выбросов CO₂. Как указывается в отчете EDGAR, высокий уровень экономического развития – уровень процветания – является крупнейшим фактором увеличения выбросов CO₂ [3], однако при более внимательном анализе становится очевидно, что выбор политики и технологий имеет кардинальное значение. Действительно, в некоторых европейских странах объемы выбросов CO₂ близки к среднемировым: так в 2017 г. эмиссия CO₂ в Португалии составила 5,3 т на человека, во Франции – 5,5 т, а в Великобритании – 5,8 т на человека. Эти показатели намного ниже, чем у некоторых соседних стран с аналогичным уровнем жизни, а именно Германии, Нидерландов и Бельгии. Очевидно, что ключевую роль здесь играет выбор источников энергии: в Великобритании, Пор-

тугалии и Франции значительно больше электроэнергии производится ядерными и возобновляемыми источниками, и гораздо меньшая доля электроэнергии производится за счет ископаемого топлива: так, в 2015 г. только 6% электроэнергии во Франции приходилось на ископаемое топливо по сравнению с 55% в Германии [3].

Вред, наносимый биосфере Земли. Выбросы CO₂ и других парниковых газов, производимых в результате хозяйственной деятельности человека, являются основным фактором изменения климата и представляют собой одну из самых насущных проблем в современном мире [1]. Установлена непосредственная зависимость между повышением глобальных температур и концентрацией парниковых газов, особенно CO₂. Хотя эта связь существовала на протяжении всей истории Земли, за последние несколько десятилетий глобальные температуры резко выросли – примерно на 0,7°C по сравнению с уровнем 1961–1990 гг., принятым за базовый уровень. При сопоставлении с 1850 г. становится очевидно, что в конце XIX в. среднегодовая температура на планете Земля была еще на 0,4°C ниже, чем в базовом периоде. В целом, это означает повышение средней температуры на 1,1°C.

Независимо от нюансов подсчета, выбросы парниковых газов в результате хозяйственной деятельности человека являются основным фактором глобального потепления. Как указывается в оценочном отчете AR5 Межправительственной группы экспертов по изменению климата (МГЭИК), «антропогенные выбросы парниковых газов увеличились с доиндустриальной эпохи в основном за счет роста экономики и населения, и сейчас они выше, чем когда-либо прежде. Это привело к беспрецедентным концентрациям CO₂, метана и закиси азота в атмосфере по крайней мере за последние 800.000 лет. Их воздействие, наряду с воздействием других антропогенных факторов, было выявлено во всей климатической системе и, весьма вероятно, стало основной причиной наблюдаемого потепления с середины XX века» [5].

Глобальное изменение климата имеет ряд потенциальных экологических, физических и медицинских последствий, включая экстремальные погодные явления (такие как наводнения, засухи,

ураганы и волны тепла), повышение уровня моря, изменения в росте урожая и нарушение водных систем.

В контексте глобального потепления повышение температуры на 1°C может показаться маленьким и незначительным. Но верно не только то, что быстрое потепление на 1°C само по себе может оказать значительное влияние на климат и природные системы, но также и то, что эта цифра в 1°C маскирует большие колебания потепления по всему миру.

Во-первых, глобальное повышение средней температуры обычно представляется как совокупное изменение температуры как на суше, так и на поверхности моря. Но важно отметить, что в наземных районах, периодически нагреваемых и охлаждающихся, температура меняется гораздо сильнее, чем в океанических районах [4]. В целом глобальные средние температуры над сушей увеличились примерно в два раза больше, чем над океаном. По сравнению со средним показателем за 1951–1980 гг. температура над сушей повысилась на $1,32 \pm 0,04^\circ\text{C}$. При этом температура поверхности океана (без учета участков морского льда) повысилась всего на $0,59 \pm 0,06^\circ\text{C}$. Поскольку в Северном полушарии больше суши, изменение средней температуры к северу от экватора было выше, чем на юге.

Во-вторых, в некоторых регионах изменение температуры было гораздо более резким. В очень высоких широтах, особенно у полюсов, потепление составило более 3°C, а в некоторых случаях превысило 5°C. К сожалению, именно там расположены регионы, которые могут испытать самые сильные воздействия изменения температурного режима, а именно морской лед, вечная мерзлота и начинающие таять ледники.

Пути преодоления «порочного круга». Помимо сокращения выбросов CO₂ (что в конечном итоге может быть теоретически достигнуто за счет прекращения использования ископаемого топлива), существует еще несколько способов уменьшения количества углерода в атмосфере Земли. Но в научном дискурсе одновременно используется ряд весьма схожих терминов, поэтому необходимо произвести терминологическое разграничение понятий.

Удаление углекислого газа (CDR) означает удаление этого парникового газа из атмосферы и хранение его под землей или на дне океана, в идеале – в течение очень продолжительного периода

времени. В настоящее время разработаны как природные, так и технологические подходы к CDR.

Согласно отчету Института мировых ресурсов, опубликованному в 2020 г., двумя основными стратегиями удаления углерода из атмосферы являются посадка деревьев и усилия по восстановлению или сохранению лесов, а также прямой захват воздуха (DAC) [5].

Благодаря способности улавливать и хранить углерод на протяжении своего существования, леса оставались лучшим инструментом удаления CO₂ на протяжении тысячелетий. Ежегодно леса Земли поглощают 7,6 млрд т, то есть около одной трети ежегодных глобальных выбросов.

Прямой захват воздуха (DAC) с целью изъятия из него CO₂ – специально разработанная технология, основным инструментом которой являются гигантские вентиляторы, которые высасывают CO₂ из атмосферы и либо хранят его под землей в геологических формациях, либо используют повторно (например, для производства синтетического топлива и бетона). Крупнейшие компании, разрабатывающие данные технологии – Carbon Engineering в Канаде и Climeworks в Швейцарии. Компания Climeworks построила в Исландии крупнейший в мире завод по прямому захвату воздуха, который был запущен в 2021 г. Объект, известный как Orca, способен ежегодно улавливать 4000 т углерода (что эквивалентно выбросам, возникающим в результате использования энергии 504 домами в год) и закачивать его под землю, где при смешивании с водой газ охлаждается и превращается в камень.

В настоящее время по всему миру работает 19 центров DAC. Международное энергетическое агентство заявляет, что в период до 2050 г. необходимо ежегодно строить в среднем 32 крупномасштабных электростанции, чтобы достичь необходимых глобальных климатических целей [6].

Улавливание (секвестрация) углерода означает процесс удаления CO₂ из атмосферы естественным образом посредством биологических, химических и физических процессов и удержания его в почвах, океанах, деревьях и горных породах планеты. Например, по мере роста дерева в процессе фотосинтеза CO₂ улавливается из атмосферы и сохраняется в стволе, ветвях, листьях и корнях дерева.

Однако секвестрация углерода также имеет свои ограничения. Например, по данным Фонда защиты окружающей среды, выруб-ка лесов, лесные пожары и другие нарушения лесных массивов мира приводят к потере около 8 млрд т CO_2 , заключенного в дере-вьях. Вот почему в стратегиях по замедлению изменения климата часто делается акцент на прекращение рубки лесов, восстано-вление вырубленных территорий и обеспечение возможности вос-становления поврежденных лесных массивов.

Существуют и другие ограничения. Глобальное потепление уже снижает способность океана поглощать углерод. Кроме того, целенаправленная стратегия удержания углерода в почве требует от фермеров отказаться от обработки полей, в процессе которой нарушается верхний слой почвы, поскольку CO_2 , хранящийся в почве, благодаря усилиям травянистых культур, накапливающих CO_2 в своей биомассе, попадает обратно в атмосферу, что проти-воречит первоначальной цели улавливания CO_2 из атмосферы и его последующего удержания (депонирования). В связи с этим в некоторых странах мира происходит переход к регенеративному сельскому хозяйству, позволяющему сохранить здоровье почвы и не нарушать целостности депонированного в ней CO_2 .

Технология отрицательных выбросов (NET). Способность NET быстро удалять CO_2 в больших объемах является одним из ключе-вых преимуществ этой технологии по сравнению с природными системами, которые медленнее поглощают углерод и нередко сталкиваются с внешними угрозами (например, лесными пожара-ми). Построенные к настоящему времени объекты удаляют лишь малую часть CO_2 , который, по мнению ученых, необходим для того, чтобы что-то изменить. Но правительства поддерживают эти усилия. В мае 2022 г. Министерство энергетики США объявило, что предоставит 3,5 млрд долл. США группам исследователей, разрабатывающим технологии прямого захвата воздуха и связан-ные с ними технологии. Кроме того, Министерство бизнеса, энер-гетики и промышленной стратегии Великобритании объявило в июле 2022 г. об инвестициях, эквивалентных 64 млн долл. США, в технологии удаления углерода [7].

Улавливание и депонирование углерода (CCS). Технологией, близкой как технологии удаления двуокси углерода, так и секве-страции углерода является улавливание и хранение углерода

(CCS), например, улавливание CO_2 из точечных источников, таких как дымовая труба угольной электростанции, а затем постоянное хранение его под землей или на дне океана.

По прогнозам Международного энергетического агентства, использование технологии CCS может позволить устранять до 20% общих выбросов CO_2 от промышленных и энергетических объектов. Удаление углерода сразу после его сжигания либо хранение его под землей, либо его использование для улучшения добычи нефти и газа является более распространенным и полностью отработанным подходом, чем прямой захват воздуха. Но реализация CCS в коммерческих масштабах стоит дорого, что создает значительный барьер для широкого использования этой технологии. Кроме того, по мнению М.О. Шульжевски и др., «развертыванию CCS препятствует неопределенность в отношении емкости геологических хранилищ и устойчивых темпов закачки» [8]. В других отчетах отмечается проблема утечки CO_2 из накопленного углерода [6].

Заключение.

На основе проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Проблема практически неконтролируемой эмиссии CO_2 достигла критического уровня, и единственный способ не допустить перехода через точку невозврата – начать принимать меры в общемировом масштабе.

2. Современное состояние атмосферы Земли с учетом нарастающего объема CO_2 является худшим за всю историю человечества и может считаться критическим.

3. Несмотря на то, что крупномасштабные сети считаются критически важными для достижения амбициозных международных целей в области изменения климата, новые технологии по улавливанию CO_2 и устранению его из атмосферы Земли в основном остаются на стадии исследований и разработок и чаще всего не масштабируются.

4. Предотвращение дальнейшего глобального потепления возможно лишь на основе коллегиального политического решения, которое должно быть выработано с участием всех стран-эмитентов CO_2 и положено в основу глобальной стратегии с це-

люю принятия кардинальных мер по снижению объемов CO₂ в атмосфере Земли и спасению человечества.

Список литературы

1. Annual carbon dioxide (CO₂) emissions worldwide from 1940 to 2022 [Electronic resource]. <https://www.statista.com/statistics/276629/global-co2-emissions/#:~:text=Global%20carbon%20dioxide%20emissions%20from,by%20more%20than%2060%20percent>. Accessed on 24.3.2023.
2. Ritchie, Hannah & Roser, Max (2021). CO₂ and GHG Emissions [Electronic resource]. <https://ourworldindata.org/co2-emissions#citation>. Accessed on 17.03.2023.
3. EDGAR (2022). CO₂ Emissions of All World Countries [Electronic resource]. – Access mode: https://edgar.jrc.ec.europa.eu/report_2022. Accessed on 22.03.2023.
4. Bereiter, B.; Eggleston, S. et al. (2015). Revision of the EPICA Dome C CO₂ record from 800 to 600 kyr before present. *Geoph. Res. Letters*, 42: 542–549. <https://doi.org/10.1002/2014GL061957>. EDN: UPENZR
5. Kleinman Center for Energy Policy (2023). Carbon Dioxide Removal (CDR) vs Carbon Capture and Storage (CCS). University of Pennsylvania [Electronic resource]. – Access mode: <https://ceclab.seas.upenn.edu/page/carbon-dioxide-removal-cdr-vs-carbon-capture-and-storage-ccs>. Accessed on 25.03.2023.
6. Khan, Tasmih (2022). All the Ways to Remove Carbon Emissions from the Air. *The Time* [Electronic resource]. <https://time.com/6213489/remove-carbon-emissions-from-air/>. Accessed on 18.03.2023.
7. US Department of Energy (2022). Biden Administration Launches \$3.5 Billion Program to Capture Carbon Pollution from the Air [Electronic resource]. <https://www.energy.gov/articles/biden-administration-launches-35-billion-program-capture-carbon-pollution-air-0>. Accessed on 20.03.2023.
8. Szulczewski M.L., MacMinn Ch.W. et al. (2012). Lifetime of carbon capture and storage as a climate-change mitigation technology. *PNAS*, 109 (14): 5185–5189.

*Ефремов Андрей Николаевич*¹

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

*Пликина Наталья Владимировна*²

канд. биол. наук, доцент

¹Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

²ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет»
г. Омск, Омская область

DOI 10.31483/r-106875

ПРИРОДООХРАННЫЙ СТАТУС ВИДОВ РОДА *ALLIUM* L. В ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация: для территории Омской области указано 11 автохтонных видов рода *Allium* L., еще 4 вида культивируются и изредка дичают. Для 8 видов (*Allium ramosum*, *A. flavescens*, *A. microdictyon*, *A. pallasii*, *A. praescissum*, *A. clathratum*, *A. nutans* и *A. strictum*), охраняемых в Омской области, проведена оценка состояния ценопопуляций, обоснованы предложения по изменению регионального природоохранного статуса. Региональный статус *Allium lineare*, *A. senescens* не может быть оценен из-за отсутствия фактических данных. Для всех видов рода выполнена оценка угроз исчезновения в регионе.

Ключевые слова: род *Allium*, лук, Красная книга, охрана, Омская область.

На территории Сибири произрастает 62 вида рода *Allium* L., из которых 11 являются эндемиками. Большое количество южносибирских видов (18) позволяет рассматривать данную территорию в качестве особого центра видового разнообразия [12, с. 4].

В Омской области известно 11 видов рода *Allium* L.: *A. angulosum* L., *A. clathratum* Ledeb., *A. flavescens* Besser, *A. lineare* L. (сомнительно, не подтверждено гербарными сборами), *A. microdictyon* Prokh., *A. nutans* L., *A. pallasii* Murray, *A. praescissum* Reichenb. (*A. paniculatum* subsp. *paniculatum*), *A. ramosum* L., *A. senescens* L. (сомнительно, не подтверждено гербарными сборами), *A. strictum* Schröder (= *A. lineare* var. *strictum* (Schröd.) Trevir.) [1, с. 85–86; 5, с. 603–633; 14, с. 55–96; 11, с. 308–309; 2, с. 74–77] (рис.). Изредка уходят из культуры *A. cepa* L., *A. fistulosum* L., *A. sativum* L., *A. schoenoprasum* L. Виды *A. ramosum*, *A. flavescens*, *A.*

microdictyon, *A. pallasii*, *A. praescissum*, *A. clathratum* имеют установленную категорию охраны регионального уровня, а *A. nutans* и *A. strictum* отнесены к числу видов, нуждающихся в особом внимании к их состоянию в природной среде [9].

Согласно Приказу Минприроды России от 24.03.2020 №161 [10] объекты животного и растительного мира, включенные в перечни должны быть отнесены к одной из категорий редкости, одной из категорий статуса угрозы исчезновения и к одной из категорий степени и первоочередности принимаемых и планируемых к принятию природоохранных мер.

Для оценки текущего природоохранного статуса использованы результаты полевых исследований, выполненных авторами в 2001–2023 гг., результаты ревизии гербарных коллекций Омского государственного педагогического университета (OMSK), Омского государственного историко-краеведческого музея, Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (NS, NSK), коллекции О.Н. Холодова, опубликованных источников [4; 13], авторской базы данных о редких видах региона (включает 140 записей), материалов веб-сайта iNaturalist [16] и GBIF [15].

Региональный статус охраны определен с использованием методики, предложенной Международным союзом охраны природы [8] и опыта ее использования на региональном уровне [3, с. 105–118].

Результаты оценки состояния популяций охраняемых видов рода приведены в таблице 1, оценка категории и угроз исчезновения – в таблице 2.

Для 3 видов (*A. pallasii*, *A. praescissum*, *A. ramosum*) может быть рекомендована категория угрозы исчезновения CR (в критической опасности), для *A. pallasii* – EN (в опасности), для *A. Flavescens* – VU (в уязвимом положении).

Для 2 видов (*A. microdictyon*, *A. nutans*) – NT (близки к уязвимому положению), состояние *A. strictum*, *A. angulosum* не вызывает опасения – категория LC, для оценки *A. lineare* и *A. senescens* недостаточно исходных данных, оценка на данном этапе невозможна (NE).

Таблица 1

Оценка состояния популяций охраняемых видов рода *Allium* в Омской области

Вид	Число известных ценопопуляций (до 2000 г.)	Период мониторинга	Площадь местообитания, м ² (среднее значение)	Численность, плотность (среднее значение)
<i>Allium clathratum</i>	1 (3)	2014–2022	1	2 экз.
<i>Allium flavescens</i>	45+12 (2)	2007–2022	1–700 (180)	1–100 (20) экз., 0,4 экз./м ²
<i>Allium microdictyon</i>	21+68 (1)	2003–2023	30–800 (260)	10–70 (20–30) % ПП
<i>Allium nutans</i>	29+13 (нет данных)	2001–2022	100–8000 (1100)	1–70 (10–20) % ПП
<i>Allium pallasii</i>	3 (0)	2007–2022	5–250 (85)	10–50 (20) % ПП
<i>Allium praescissum</i>	1 (3)	2014–2022	20	6 экз.
<i>Allium ramosum</i>	1 (2)	2021–2022	2000	30–40% ПП
<i>Allium strictum</i>	19+2 (нет данных)	2014–2022	10–3000 (210)	1–30 (1–5) % ПП
Единицы численности для видов приведены в различных параметрах: ПП – проективное покрытие, экз. – экземпляров, экз./м ² – экземпляров на 1 м ² .				

Для *A. microdictyon* в последние годы уточнен характер распространения регионе, выявлено значительное количество местообитаний. В местообитаниях этот вид имеет высокое проективное покрытие от 10 до 70% (в среднем 20–30%). Вероятно, *A. microdictyon* имеет более широкое распространение в подтайге, однако фактических наблюдений, в силу слабой изученности этих территорий, в настоящее время нет. Высоких угроз исчезновения нет, однако *A. microdictyon* страдает от вырубki лесов, пожаров и заготовки для пищевых целей. В связи с этим предлагается изменить региональную категорию охраны на вид, нуждающийся в особом внимании к их состоянию в природной среде.

A. senescens указывается для сухих лугов, между селами Степановка и Хлебодаровка Русско-Полянского района [7, с. 55; 5, с. 617–618].

Оценка категории и угроз исчезновения объектов растительного мира

Вид	Текущая / предлагаемая категория охраны	Природоохранный статус	Категория угрозы исчезновения согласно критериям МСОП
<i>Allium angulosum</i>	-	-	LC
<i>Allium clathratum</i>	1 (E) / 1 (E)	I	CR (B2bii,iii,iv; D1)
<i>Allium flavescens</i>	2 (V) / 2 (V)	II	VU (B1abi,ii,iii,iv,v; B2abi,ii,iii,iv,v)
<i>Allium lineare</i>	-	-	NE
<i>Allium microdictyon</i>	3 (R) / TB	III	NT
<i>Allium nutans</i>	TB / TB	III	NT
<i>Allium ramosum</i>	1 (E) / 1 (E)	I	CR (A4; B2bii,iii,iv)
<i>Allium pallasii</i>	1 (E) / 1 (E)	I	EN (D1)
<i>Allium praescissum</i>	1 (E) / 1 (E)	I	CR (B2bii,iii,iv; D1)
<i>Allium senescens</i>	-	-	NE
<i>Allium strictum</i>	TB / TB	-	LC

*Категории охраны приведены согласно [9]: 1 (E) – виды, численность которых уменьшилась до критического уровня таким образом, что в ближайшее время они могут исчезнуть; 2 (V) – уязвимые виды: таксоны, которым, по-видимому, в ближайшем будущем грозит перемещение в категорию находящихся под угрозой исчезновения, если факторы, вызвавшие сокращение их численности, будут продолжать действовать; 3 (R) – виды, имеющие малую численность и распространенные на ограниченной территории или спорадически распространенные на значительных территориях; TB – виды, нуждающиеся в особом внимании к их состоянию в природной среде. Степени угроз исчезновения в списке IUCN (МСОП): CR – Critically Endangered (в критической опасности); EN – Endangered (в опасности); VU – Vulnerable (в уязвимом положении); NT – Near Threatened (близки к уязвимому положению); LC – Least Concern (находятся под наименьшей угрозой); DD – Data Deficient (данных недостаточно); NE – Not Evaluated (угроза не оценивается). Категорий степени и первоочередности принимаемых и планируемых к принятию природоохранных мер (природоохранный статус): I приоритет – требуется незамедлительное принятие комплексных мер, II приоритет – необходима реализация одного или нескольких специальных мероприятий по сохранению объектов животного или растительного мира, III приоритет – достаточно общих мер [10]

Так как ближайшие местонахождения вида известны в Алтайском флористическом районе и Восточном мелкосопочнике [6, с. 154], гербарные сборы с территории Омской области отсутствуют, вероятно, данный вид приводится для региона ошибочно.



Рис. 1. Виды рода лук в Омской области: а – лук мелкосетчатый, б – лук прямой, в – лук желтеющий, г – лук поникающий, д – лук Палласа, е – лук ветвистый

Лимитирующими факторами для видов рода в регионе являются: вырубка лесов, распашка степных участков, строительство производственных объектов и объектов инфраструктуры (автомобильных дорог, трубопроводов), весенние палы и пожары, рекреационная нагрузка, выпас сельскохозяйственных животных.

Для некоторых видов (*A. nutans*, *A. microdictyon*) существенным фактором является заготовка растений в качестве пищевого сырья.

Согласно Приказу Минприроды России от 24.03.2020 №161 [10] категории степени и первоочередности принимаемых и планируемых к принятию природоохранных мер (природоохранный статус) для видов рода может быть оценена следующим образом:

- I приоритет (*A. clathratum*, *A. ramosum*, *A. pallasii*, *A. praescissum*), требуется незамедлительное принятие комплексных мер, включая разработку и реализацию стратегии по сохранению и/или программы по восстановлению (реинтродукции);

- II приоритет (*A. flavescens*), необходима реализация одного или нескольких специальных мероприятий по сохранению;

- III приоритет (*A. microdictyon*, *A. nutans*, *A. strictum*), достаточно общих мер, предусмотренных нормативными правовыми актами.

Незамедлительных мер охраны требуют степные виды (*A. pallasii*, *A. praescissum*, *A. ramosum*), для их сохранения в естественных местообитаниях необходимы контроль за состоянием популяций, выявление новых локалитетов и организация региональной особо охраняемой природной территории ботанического профиля в месте произрастания.

Список литературы

1. Бекишева И.В. Флора Омской области: дис. ... канд. биол. наук: 03.05.01 / И.В. Бекишева. – Новосибирск, 1999. – С. 85–86.
2. Ефремов А.Н. Флористические находки в Омской области / А.Н. Ефремов, Н.В. Пликина, Б.Ф. Свириденко [и др.] // Бюллетень МОИП. Отдел биологический. – 2016. – №3. – С. 74–77.
3. Заварзин А.А. Возможности применения глобальных категорий и критериев Красного списка Всемирного союза охраны природы на региональном уровне / А.А. Заварзин, Е.Э. Мучник // Ботанический журнал. – 2005. – Т. 90. №1. – С. 105–118.
4. Депозитарий живых систем [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://plant.depo.msu.ru/open/public> (дата обращения: 12.05.2023).

5. Крылов П.Н. Флора Западной Сибири / П.Н. Крылов. – 2-е изд., доп. и расшир. – Вып. III. Sурегасеае – Орсhidасеае. – Томск, 1929. – С. 602–633.
6. Павлов Н.В. Род *Allium* L. / Н.В. Павлов, В.В. Поляков // Флора Казахстана. – Т. 2. – Алма-Ата: Наука КазССР, 1958. – С. 142–193.
7. Плотников Н.А. Конспект флоры Омской области / Н.А. Плотников. – Новосибирск: ЦСБС СО РАН, 1992. 70 с. Деп. в ВИНТИ №1762-В92.
8. Подкомитет стандартов и петиций МСОП. 2013. Инструкции по использованию Категорий и критериев Красного списка МСОП. Версия 10.1. 94 с.
9. Постановление Правительства Омской области №76-п «Об утверждении Порядка ведения Красной книги Омской области и Перечней редких и находящихся под угрозой исчезновения растений, животных и других организмов, занесенных в Красную книгу Омской области» от 06.07.2005 г. (с изм. на 21.07.2021 г. №305-п).
10. Приказ Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации №161 «О внесении изменений в Порядок ведения Красной книги Российской Федерации, утвержденный приказом Минприроды России от 23 мая 2016 г. №306» от 24.03.2020 г.
11. Свириденко Б.Ф. Флористические находки в Омской, Тюменской и Новосибирской областях / Б.Ф. Свириденко, И.В. Бекишева, Н.В. Пликина [и др.] // Ботанический журнал. – 2007. – Т. 92. №2. – С. 308–312.
12. Сеницына Т.А. Род *Allium* L. (Alliaceae) Сибири / Т.А. Сеницына // *Vavilovia*. – 2019. – №2 (3). – С. 3–22. – DOI: 10.30901/2658-3860-2019-3-3-22
13. Фризен Н.В. Луковые Сибири / Н.В. Фризен. – Новосибирск: Наука, 1988. – 184 с.
14. Фризен Н.В. Род *Allium* L. – Лук / Н.В. Фризен // Флора Сибири. Т. 4. Araceae – Орсhidасеае / под ред. Л.И. Малышева, Г.А. Пешковой. – Новосибирск: Наука, 1987. – С. 55–96.
15. GBIF: The Global Biodiversity Information Facility [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.gbif.org/ru> (дата обращения: 18.05.2023).
16. iNaturalist [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.inaturalist.org/observations/147395282> (дата обращения: 10.05.2023).

Кузнецова Мария Николаевна

канд. биол. наук, доцент
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

ОДИН ДЕНЬ В ТРОПИЧЕСКОМ ДОЖДЕВОМ ЛЕСУ СИНХАРАДЖИ

***Аннотация:** в статье описана редкая по своему видовому составу экосистема – Лесной массив Синхараджа в Южной провинции Шри-Ланки. Приведено описание растительного разнообразия.*

***Ключевые слова:** экосистема, лесной массив Синхараджа, Шри-Ланка.*

В Южной провинции Шри-Ланки находится редкая по своему видовому составу экосистема – Лесной массив Синхараджа. Здесь расположено 2 типа лесов: тропический дождевой и тропический влажный, которые являются ровесниками суперконтинента Гондвана. Этот участок первозданного леса был включен в всемирную сеть биосферных резерватов в 1978 году, а в 1988 году – в список всемирного наследия ЮНЕСКО.

В Шри-Ланке настолько буйная растительность, что только среди лесов выделяют 8 типов. Недаром колониальное прошлое страны под управлением сначала португальцев, затем голландцев и англичан связано с использованием её климатических особенностей с целью получения пряностей, каучука, кофе, какао, чая, кокосов и плодов арековой пальмы. При этом местное население всегда продолжало выращивать рис, что мы и наблюдали по дороге к одному из входов в тропический дождевой лес. Необходимо отметить, что в 1972–1977 гг от частичной вырубке деревьев и окультуривания площадей особенно пострадали леса Синхараджи.

Sinharaja Forest Reserve (Биосферный резерват Синхараджа) расположен на юго-западе Шри-Ланки, координаты 6° 21'–6° 26' с.ш., 80° 25'–80° 34' в.д., охватывает районы Ратнапура, Галле и Матара. В этих широтах преобладает влажный и теплый климат, количество осадков составляет от 3000 до 6000 мм в год. Egbert и Leigh (2004) указывают, что в самом засушливом месяце в Синхарадже выпадает 171 мм осадков. Средняя температура стабильна

и держится в диапазоне 23–25°C. Во время нашей экскурсии температура была около 21–23°C, с утра был туман, но к обеду стало проглядывать солнце. Перепады высот в заповеднике от 90 до 1170 метров над уровнем моря. По данным 2021 года лесной заповедник Синхараджа имеет площадь в 360 км² и является последним жизнеспособным районом первичных тропических лесов страны, где плотность растений самая густая в Азии и составляет 240000 экземпляров на гектар. Здесь протекают 2 реки: Калу Ганга и Гин Ганга.

Местное население особенно южных районов заповедной территории может свободно передвигаться и жить в её границах. Наше знакомство с этим удивительным местом началось с окраины заповедника, где располагался дом проводника. Здесь мы увидели многие растения, которые нам знакомы как комнатные. Нами были определены большинство растений, встреченных по маршруту. Это – разные виды орхидей (*Vanda*, *Spathoglottis*, *Epidendrum*), антуриумов, клеродендронов, кротонов, тайландсий, колеус (*Coleus scutellarioides*), аллоказия крупнокорневищная (*Alocasia macrorrhizos*) и другие. Ближе к официальному входу Pitadeniya, где происходит регистрация туристов, по дороге были встречены кокос орехоносный (*Cocos nucifera*), арека катеху (*Areca catechu*), плодоносящие кофейные деревья (*Coffea arabica*), кариота жгучая (*Caryota urens*), «выстреливающий» своими побегами вверх над гостиничными домиками ротанг корзиночный (*Calamus viminalis*), деревья с пятнистой корой от лишайников и грибов, молочаи и имбирь (*Alpinia purpurata*).

В самом лесу было очень влажно, можно было рассмотреть 4 яруса [2], где первые два были представлены крупными деревьями из семейств диптерокарповые, мальвовые и пальмовые, третий – деревьями с участием более низких пальм, древесных папоротников, ананасов, бананов и семенного подроста, четвертый – кариотой мягкой (*Caryota mitis*), травянистыми растениями, мхами и лишайниками. Такой лес с преобладанием деревьев из первого семейства называют диптерокарповым. Здесь расположено большое количество лиан и вьющихся растений, имеющих разные способы прикрепления. Например, ротанговая пальма (*Calamus viminalis*) имеет черешки и главную жилку листьев с шипами,

концы которых загнуты назад. Черный перец (*Piper nigrum*) – лиана с воздушными корнями. Таким же образом поднимается вверх по стволам фикус карликовый (*Ficus pumila*) и потос лазящий (*Pothos scandens*). Быстро растущая тунбергия (*Thunbergia laurifolia*), по берегам реки Гин Ганги образует свисающие с высоких ветвей деревьев «ковры» с бело-голубыми цветками. Отличительные черты деревьев – крупные листья, заостренные на верхушке, а также слабо развитая кора, которая легко отслаивается, или располагается плиточками.

На маршруте встречались особенно крупные экземпляры деревьев с хорошо развитыми корнями, часто имеющими вертикальные плоские выросты – так называемые досковидные корни [2]. Рассмотреть верхушки таких деревьев (высота около 50 метров) не получилось, так как листья деревьев второго и третьего ярусов почти всегда были сомкнуты. В лесу нами было отмечено много эпифитов из разных систематических групп. Так при движении по тропе удалось разглядеть и определить достаточно редкие виды папоротников (*Asplenium nidus*, *Phymatosorus scolopendria*, *Blechnopsis orientalis*) и плаун – Флегмариурус флегмария (*Huperzia phlegmaria*) [4; 7]. Несколько эпифитов было встречено из семейства ароидных: монстеры, сингониумы, филодендроны, антуриумы, эпипремнум и пр. Около научно-исследовательского центра Pitadeniya располагались этикетированные деревья: Диптерокарпус (*Dipterocarpus zeylanicus*), Терминалия беллерика (*Terminalia bellirica*), Коричник цейлонский (*Cinnatomum zeylanicum*), *Chaetocarpus castanocarpus*, Дуриан цейлонский (*Cullenia ceylanica*). Весь маршрут занимал около 3 часов, конечной точкой нашей экскурсии был водопад Malmora Ella с чистой водой, как и в других ручьях, речушках впадающих в Гин Гангу, которые мы успешно преодолели. Здесь удалось полюбоваться местным железным деревом (*Mesua ferrea*), на концах ветвей которого молодые листья имеют розовую окраску. Это национальное дерево Шри-Ланки.

Всё разнообразие тропического леса описать очень трудно, так как многие виды являются очень редкими, входят в группу эндемиков, для которых часто нет описаний. Из флоры высших споровых растений были встречены такие виды как плаунок Майера (*Selaginella mayeri*), маршанция изменчивая (*Marchantia*

polymorpha) и древесный папоротник (*Cyathea crinita*) – он придавал особую сказочность и таинственность лесу. В самом нижнем ярусе привлекло внимание розеточное растение, которое очень часто встречалось на малоосвещённых участках голой почвы вместе с селлагинеллой. По внешним признакам оно похоже на представителей рода *Acrantera*.

Из растений на нарушенных местообитаниях после рубки древесины, или на участках, где сомкнутость под пологом леса была не полная, отмечены: целозия серебристая (*Celosia argentea*), микония городчатая (*Miconia crenata*), ананас хохлатый (*Ananas comosus*), циантиллиум пепельно-серый (*Cyanthillium cinereum*), сонерила лесная (*Sonerila silvatica*).

Хочется надеяться, что стабильные климатические условия в этой части острова и правильная политика государства помогут изучаемой экосистеме тропических лесов Шри-Ланки сохраниться ещё не одно десятилетие.

Список литературы

1. Лесной заповедник Синхараджа – Sinharaja Forest Reserve [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://ru.wikibrief.org/wiki/Sinharaja_Forest_Reserve.
2. Сааков С.Г. Тропические влажные леса // Оранжерейные и комнатные растения и уход за ними. – Л.: Наука, 1983. – С. 5–11.
3. Фёдоров А.А. Диптерокарповый экваториальный влажнотропический лес Цейлона / А.А. Фёдоров // Тр. Моск. общества испытателей природы. Отдел биологический. – 1960. – Т. 3.
4. Флегмариурус флегмария – *Huperzia phlegmaria* [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.plantarium.ru/page/view/item/124170.html>.
5. Egbert G. Leigh, Jr. Tropical Forest Diversity and Dynamism: Findings from a Large-Scale Plot Network // How Wet are the Wet Tropics? – Chicago. P. 43–55 [Electronic resource]. – Access mode: <https://press.uchicago.edu/ucp/books/book/chicago/T/bo3628169.html>.
6. Forest Resources. Forest resources of Sri Lanka Country report. Food and Agriculture Organization [Electronic resource]. – Access mode: <https://www.fao.org/3/ad678e/AD678E01.htm#TopOfPage> (дата обращения: 25.02.2023).
7. *Phlegmariurus mirabilis* (Willd.) A.R. Field & Testo [Electronic resource]. – Access mode: <https://www.gbif.org/species/9033819> (дата обращения: 12.01.2023).
8. Praveen Karanth K. Out-of-India Gondwanan origin of some tropical Asian biota. – 2006. – P. 789–792.
9. Sinharaja Photos Forest Geo [Electronic resource]. – Access mode: <https://forestgeo.si.edu/sites/asia/sinharaja/sinharaja-photos> (дата обращения: 25.02.2023).

Масленников Андрей Викторович¹

канд. биол. наук, доцент, профессор

Масленникова Людмила Анатольевна¹

канд. биол. наук, доцент, профессор

Терехина Лилия Дамировна²

аспирант, и.о. заместителя директора по научной работе

¹ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

²ФГБУ «Жигулевский государственный

природный биосферный заповедник им. И.И. Спрыгина»

с. Бахилова Поляна, Самарская область

DOI 10.31483/r-106973

СОСТОЯНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ ОХРАНЯЕМОГО ВИДА ИСТОДА СИБИРСКОГО (*POLYGALA SIBIRICA* L.) В 2022 ГОДУ В ТУШНИНСКИХ СТЕПЯХ НА ТЕРРИТОРИИ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «СЕНГИЛЕЕВСКИЕ ГОРЫ»

Аннотация: на основе проведенного в 2022 году эколого-биологического мониторинга в статье дана оценка состояния ценопопуляций редкого охраняемого вида – истода сибирского (*Polygala sibirica* L.), произрастающего в Тушинских степях национального парка «Сенгилеевские горы» в растительных сообществах каменистых разнотравных степей, развитых на склонах меловых холмов южной и юго-западной экспозиций.

Ключевые слова: ценопопуляция, плотность популяции, возрастной состав популяции, кальциевые ландшафты, каменистые степи, кальцефилы.

В 2022 году, как и в прошлые годы, на территории национального парка «Сенгилеевские горы» были проведены мониторинговые исследования ценопопуляций редкого вида, занесенного в Красную книгу Ульяновской области [4, с. 186] истода сибирского (*Polygala sibirica* L.).

Ценопопуляции находятся в километре к востоку от с. Тушна Сенгилеевского района и занимают склоны южной и юго-восточной экспозиций [6, с. 106; 7, с. 122].

Изучение эколого-биологического состояния ценопопуляций *Polygala sibirica* L. – ключевого редкого, уязвимого и охраняемого вида сосудистых растений позволяет оценить состояние и устойчивость его популяций в современных условиях в разнообразных местообитаниях [3, с. 98].

Исто́д сибирский (*Polygala sibirica* L.) – вид, сокращающийся в численности в результате изменения условий существования или разрушения местообитаний. В Сенгилеевских горах его популяции обнаружены в Вырастайкинской и Тушнинской степях и в Шиловской лесостепи (рис. 1.).

Исто́д сибирский – травянистый стержнекорневой многолетник из семейства исто́довые (*Polygalaceae*), имеющий статус 3в (редкий вид, имеющий узкую экологическую приуроченность и растущий по выходам мелов и других карбонатных пород) [4, с. 186; 7, с. 122]. Обладая достаточно низкой конкурентной способностью и узкой экологической приуроченностью к каменистым степям, вид на территории Ульяновской области, в местах высоких антропогенных нагрузок на растительные степные сообщества сокращает численность своих популяций. Изучение популяции проводилось в течение вегетационного периода 2022 года по стандартным общепринятым методикам [1, с. 101; 2, с. 75]. Были заложены 5 геоботанических площадок (в виде трансекты) размерами 1 м² каждая.

Рельеф площадок представляет собой середину крутого склона мелового холма южной экспозиции. Почва – чистые щелбнистые меловые субстраты. Антропогенное воздействие не выражено. Тип сообщества, вмещающего популяции исто́да сибирского – каменистая меловая разнотравная степь.

В ходе изучения флористических и геоботанических особенностей растительных сообществ, вмещающих ценопопуляцию исто́да сибирского, было выяснено, что в Тушнинских степях на меловых холмах на территории национального парка он произрастает в каменистых меловых злаково-разнотравных степных сообществах (табл. 1).



Рис. 1. Распространение истода сибирского (*Polygala sibirica* L.) в каменистых степях на территории национального парка «Сенгилеевские горы»

Анализ общего проективного покрытия фитоценозов популяции *Polygala sibirica* L., а также его обилия на исследуемых учетных площадках, позволяет сделать заключение, что истод сибирский по своим фитоценологическим особенностям в условиях каменистых Тушинских степей является ценофобом и ассектатором (табл. 2). По результатам анализа экологических и биологических особенностей истода сибирского тип эколого-фитоценологической стратегии исследованного вида в данной популяции по Л. Раменскому [3, с. 98] соответствует пациенту.

P. sibirica – это стержнекорневой многолетник, поэтому он относится к моноцентрическому типу биоморф, следовательно, за счетную единицу у проростков, ювенильных, виргинильных и генеративных растений берется отдельная особь.

Возрастная структура и плотность ценопопуляций истода изучалась нами по стандартным методикам [3, с. 98; 8, с. 127] (табл. 3).

Согласно данным, полученным в 2022 году, у *P. sibirica* в среднем по всем площадкам исследования, преобладали генеративные (52,7%) и виргинильные (39,4%) особи.

Имматурных растений отмечено немного (7,9%). На учетных площадках не были обнаружены проростки, ювенильные, субсенильные и сенильные особи.

**Актуальные вопросы биоэкологии, систематики, анатомии
и морфологии животных и растений**

По результатам исследований можно сделать вывод о нормальной (т.е. способной к самоподдержанию без внесения зачатков извне), но неполноценной популяции истода сибирского (рис. 2).

Таблица 1

Флористический состав растительных сообществ, вмещающих ценопопуляции истода сибирского

№	Названия видов	Площадки				
		1	2	3	4	5
1	2	3	4	5	6	7
1.	Исто́д сибирский (<i>Polygala sibirica</i> L.)	+	+	+	+	+
2.	Очанка гребенчатая (<i>Euphrasia pectinata</i> Ten.)	+	-	+	-	+
3.	Бедренец извесколюбивый (<i>Pimpinella titanophila</i> Woron.)	+	+	+	+	+
4.	Володушка серповидная (<i>Bupleurum falcatum</i> L.)	-	-	-	+	-
5.	Горечавка крестовидная (<i>Gentiana cruciata</i> L.)	-	-	-	-	+
6.	Зубчатка обыкновенная (<i>Odontites vulgaris</i> Moench.)	-	-	-	-	+
7	Качим высочайший (<i>Gypsophila altissima</i> L.)	+	+	+	-	
8	Ковыль волосатик (<i>Stipa capillata</i> L.)	+	+		+	+
9	Ковыль перистый (<i>Stipa pennata</i> L.)	+	+	-	-	-
10	Копеечник крупноцветковый (<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.)	+	+	+	+	-
11	Люцерна серповидная (<i>Medicago falcate</i> L.)	-	+	-	-	-
12	Мордовник обыкновенный (<i>Echinops ritro</i> L.)	+	+	+	-	-
13	Мятлик сплюснутый (<i>Poa compressa</i> L.)	+		+	+	+
14	Пырей плевеловидный (<i>Elytrigia lolioides</i> (Kar. et Kir.) Nevski.)	-	-	+	-	-
15	Тимьян клоповый (<i>Thymus cimicinus</i> F.K.Blum ex Ledeb.)	+	+	+	+	+
16	Ясменник шероховатый (<i>Asperula exasperata</i> V.I. Krecz. ex Klokov)	+	+	-	+	+
17	Фиалка сомнительная (<i>Viola ambigua</i> Waldst. et Kit.)	+	-	-	-	-

Таблица 2

Зависимость облия *Polygala sibirica* L. от общего проективного покрытия в растительном сообществе

№ геоботанической площадки	1	2	3	4	5
Общее проективное покрытие, %	35	30	35	31	28
Обилие в % от существующего проективного покрытия	1,6	0,8	1,2	0,8	1,1

Таблица 3

Соотношение возрастных состояний в ценопопуляциях *Polygala sibirica* L. в 2022 г. в Тушинских каменистых меловых степях

Возрастной состав		№ площадки					Среднее значение
		1	2	3	Σ		
p	количество, шт.	0	0	0	0	-	
	%	-	-	-	-	-	
j	количество, шт.	0	0	0	0	-	
	%	-	-	-	-	-	
im	количество, шт.	1	1	1	3	1	
	%	7,1	7,1	10,0	7,9	7,9	
v	количество, шт.	6	6	3	15	5	
	%	42,9	42,9	30,0	39,5	39,4	
g	количество, шт.	7	7	6	20	6,7	
	%	50,0	50,0	60,0	52,6	52,7	
ss	количество, шт.	0	0	0	0	0	
	%	-	-	-	-	-	
s	количество, шт.	0	0	0	0	0	
	%	-	-	-	-	-	
Всего особей	шт.	14	14	10	38	12,7	

Средняя плотность ценопопуляции истода сибирского в 2022 г. составила 12,7 особей на 1 м², что поддерживается достаточно большим количеством виргинильных и генеративных особей.

В пределах изученной ценопопуляции отмечено неравномерное распределение особей. Во время плодоношения по общепринятым методикам [5, с. 48] была проведена оценка потенциальной и реальной семенной продуктивности.

Для этого учитывалось:

- число цветков на одном растении;

- число зрелых плодов в среднем на 1 растение;
- количество плодов на 1 соцветии – генеративном побеге;
- количество семян в 1 плоде.

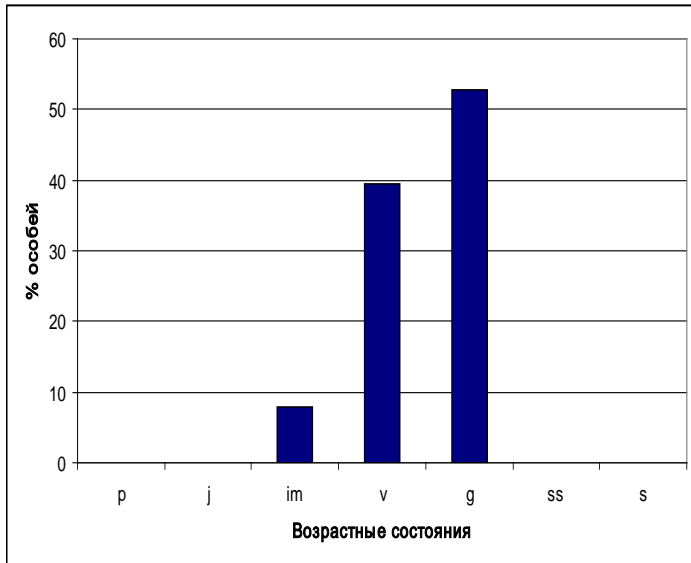


Рис. 2. Возрастной состав ценопопуляций истода сибирского в 2022 г.

Потенциальная семенная продуктивность (ПСП) *Polygala sibirica* L. в 2022 г. в Тушнинских каменистых степях в среднем составила 218 семян на одном растении.

Реальная семенная продуктивность (РСП) *Polygala sibirica* L. в 2022 г. в Тушнинских каменистых степях в среднем составила 50 семян, завязавшихся на одном растении.

Таким образом, в Тушнинских каменистых степях в 2022 г. реальная семенная продуктивность в ценопопуляции истода сибирского в каменистых разнотравных степях в среднем составила 50 семян на одно растение.

Коэффициент семенной продуктивности ($K_{сн}$), который показывает долю реально развившихся семян от потенциально возможной, составил в ценопопуляциях истода сибирского в Тушнинских степях в 2022 г. 22,9%.

В целом в 2022 г. для семенного возобновления истода сибирского были практически такие же условия для цветения и плодоношения, как и в предшествующем 2021 г., поэтому и реальная семенная продуктивность, и коэффициент семенной продуктивности оказались не слишком высокими.

Подводя итоги, следует отметить, что изученные в Тушинских каменистых степях национального парка «Сенгилеевские горы» ценопопуляции редкого охраняемого вида истода сибирского, являются нормальными неполночленными, с естественным соотношением возрастных состояний, а сам национальный парк является одним из немногих ключевых мест для сохранения и восстановления численности этого ценного лекарственного охраняемого растения.

Список литературы

1. Вальтер Г. Общая геоботаника / Г. Вальтер. – М.: Мир, 1982. – 264 с.
2. Заугольнова Л.Б. Методика изучения ценопопуляций редких видов растений с целью оценки их состояния / Л.Б. Заугольнова // Охрана растительных сообществ редких и находящихся под угрозой исчезновения экосистем: матер. I Всес. конф. по охране редких растительных сообществ. – М.: ВНИИ природы МСХ СССР, 1982. – С. 74–76.
3. Злобин Ю.А. Принципы и методы изучения ценоотических популяций растений / Ю.А. Злобин. – Казань, 1989. – 146 с.
4. Красная книга Ульяновской области / под науч. ред. Е.А. Артемьевой, А.В. Масленникова, М.В. Корепова; Правительство Ульяновской области. – М.: Буки Веди, 2015 – 550с.
5. Левина Р.Е. Репродуктивная биология семенных растений / Р.Е. Левина. – М., 1981. – 96 с.
6. Масленников А.В. Кальцефильная флора центральной части Приволжской возвышенности / А.В. Масленников. – Ульяновск: УлГПУ, 2005. – 162 с.
7. Масленников А.В. Флора кальциевых ландшафтов Приволжской возвышенности / А.В. Масленников. – Ульяновск: УлГПУ, 2008. – 136 с.
8. Ценопопуляции растений. – Л.: Наука, 1988. – 183 с.

Масленников Андрей Викторович¹

канд. биол. наук, доцент, профессор

Масленникова Людмила Анатольевна¹

канд. биол. наук, доцент, профессор

Терехина Лилия Дамировна²

аспирант, и.о. заместителя директора по научной работе

¹ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

²ФГБУ «Жигулевский государственный
природный биосферный заповедник им. И.И. Спрыгина»
с. Бахилова Поляна, Самарская область

DOI 10.31483/r-106974

БОЛЬШЕКЛЮЧИЩЕНСКИЕ ПОЛЯННО- ОПУШЕЧНЫЕ ПСАММОФИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ – ЦЕНТРЫ СОХРАНЕНИЯ РЕДКОГО ОХРАНЯЕМОГО ЭНДЕМИЧНОГО ВИДА ИРИСА БОРОВОГО (IRIS PINETICOLA KLOK.)

***Аннотация:** в статье описывается один из ценных природных центров-резерватов редких видов и характерных растительных сообществ – Большеключищенские полянно-опушечные псаммофильные комплексы, приводятся примеры редких и краснокнижных видов, произрастающих на данной территории, и сообщается о необходимости организации регионального ООПТ.*

***Ключевые слова:** полянно-опушечные комплексы, биоразнообразие, сосновые леса, песчаные степи, псаммофилы, краснокнижные виды.*

Начиная с середины XX века и до настоящего времени ни одна сколько-нибудь фундаментальная флористическая или ботанико-географическая работа не обходит вниманием редкие виды и проблемы их охраны [1, с. 23; 4, с. 62; 5, с. 69; 6, с. 26; 7, с. 21]. Это печальная необходимость, так как к настоящему времени воздействие человека на природу стало катастрофическим. Разрушаются экосистемы и деградируют природные ландшафты, уничтожаются одни и постепенно вымирают другие виды животных и растений, лишённые привычной среды обитания. В целом, резко уменьшается биоразнообразие и формируются антропогенно трансформированные маловидовые сообщества, в состав которых входят ши-

роко распространённые виды. Идёт унификация флоры и растительности. Поэтому насущной задачей становится выявление территорий еще более или менее сохранивших свое биоразнообразие, мест, где произрастают редкие, эндемичные и реликтовые виды, и включение этих территорий в общий реестр, придавая им охраняемый статус. С этих территорий вполне возможно в будущем расселение растений в окружающие обедненные сообщества и на эродированные участки. Кроме того, такие резерватные центры растительности до некоторой степени смогут поддерживать нормальное динамическое равновесие природных экосистем и сохранять ландшафтное своеобразие Среднего Поволжья.

Одним из таких центров-резерватов редких видов и характерных растительных сообществ являются Большеключищенские полянно-опушечные псаммофильные комплексы, которые находятся в 2,5 километрах к югу от села Большие Ключищи Ульяновского района. Они расположены вдоль правого коренного берега реки Суходол – притока реки Свияги и тянутся от него далее на юг вдоль правого коренного берега реки Свияги. Полянно-опушечные комплексы включают в себя внешние участки сосновых лесов с расположенными в них обширными полянами, остепненные опушки и прилегающие к ним песчаные степи, образующие единый ландшафтный комплекс – псаммофитон, развитый на песчаных отложениях палеогена, который вскрывается в виде надпойменных террас в долине реки Суходол и на прилегающем к нему участке Свияги. Благодаря легким субстратам здесь сформировался эталонный для лесостепных районов Приволжской возвышенности псаммофитный ландшафтный комплекс, насыщенный видами-псаммофилами, многие из которых являются эндемичными, редкими и уязвимыми для нашего региона. Это практически единственное достоверно известное в Ульяновской области местообитание редчайшего днепровско-волжско-донского эндемика ириса борового [3, с. 128].

На данной территории встречается два основных типа растительности: редкостойные сосняки травяные и лишайниковые, приуроченные к песчаным плакорам и верхним частям склонов, и песчаные степи на полянах и в нижней части склонов южной, юго-западной и юго-восточной экспозиции. Всего здесь отмечено 194 вида сосудистых растений.

Сосняки травяные и отдельные фрагменты лишайниковых сосняков приурочены к плакорам и верхним частям склонов на маломощных почвах и песках. Часть сосняков является вторичными, посаженными после рубок коренных лесов. Подлесок в них выражен слабо, изредка встречаются такие кустарники, как ракитник русский (*Chamaecytisus ruthenicus*), жестер слабительный (*Rhamnus cathartica*), бересклет бородавчатый (*Euonymus verrucosus*). Травяной ярус разрежен, в нем встречаются типичные лесные растения: ландыш майский (*Convallaria majalis*), купена пахучая (*Polygonatum odoratum*), ортилия однобокая (*Ortilia secunda*), мятлик дубравный (*Poa nemoralis*), снижающий свою численность уязвимый вид – прострел раскрытый (*Pulsatilla patens*). В травостое сосняков немало и степных растений, таких как спаржа лекарственная (*Asparagus officinalis*), винцетоксикум степной (*Vincetoxicum stepposum*), цмин песчаный (*Helichrysum arenarium*). Есть также участки остепнённых сосняков травяных, где встречаются мятлик узколистный (*Poa angustifolia*), герань кровяно-красная (*Geranium sanguineum*). Здесь встречается много больших полей, по сути, представляющих собой участки песчаных степей, где встречаются такие редкие виды как ирис боровой (*Iris pineticola*) [3, с. 128], ковыль перистый (*Stipa pennata*) [2, с. 451; 3, с. 183]. По опушкам изредка встречается коровяк фиолетовый (*Verbascum phoenicium*).

На почве на небольших участках лишайниковых сосняков отмечены такие лишайники как *Ramalina pollinaria*, *Cladonia subulata*, *Cladonia rangiferina*, *Cladonia sylvatica* и *Cladonia macilenta*.

На некоторых участках леса по опушкам из-за эрозии из-под сосен вымыт песок, и они приобретают вид ходульных деревьев, что повышает общую эстетическую ценность территории и придает ей характерный неповторимый облик. Следует отметить, что из-за близости села, сосновые леса подвергаются достаточно сильным антропогенным нагрузкам. Они часто посещаются населением, есть следы рубок и кострищ, лесных пожаров, много натоптанных тропинок, несанкционированные крупные туристические стоянки с сильным замусориванием территории. Поэтому

необходимо принимать меры по снижению антропогенной нагрузки.

По опушкам (особенно с южной стороны лесного массива) и местами на полянах распространены сообщества песчаных степей. Песчаные степи также занимают, в основном, нижние части склонов восточной, западной и южной экспозиции. Они представлены в основном ковыльно-разнотравными, ковыльно-овсяницевыми, овсяничево-келериевыми, ковыльно-келериевыми, ковыльно-келереево-полынными, гвоздично-разнотравными ассоциациями, в разнотравье которых немало редких и уязвимых растений, в том числе занесенных в региональную и федеральную Красные книги. Это и сам эдификатор и доминант сообществ ковыль перистый (*Stipa pennata*) [2, с. 451; 3, с. 183], и козелец мечелистный (*Scorzonera ensifolia*) [3, с. 65] и приволжско-днепровско-донской эндемик ирис боровой (*Iris pineticola*) [3, с. 128], и поволжский эндемик – гвоздика волжская (*Dianthus volgicus*) [3, с. 83], занесённые в Красную книгу Ульяновской области [3]. Наряду с ковылем перистым, доминантом и эдификатором этих сообществ часто выступает овсяница полесская (*Festuca polessica*) – облигатный псаммофильный вид, характерный для сыпучих песков. В этих сообществах также обычны лапчатка песчаная (*Potentilla arenaria*), ластовень степной (*Vincetoxicum stepposum*), тимьян Маршалла (*Thymus marshallianus*), очиток едкий (*Sedum acre*), цмин песчаный (*Helichrysum arenarium*), астрагал прутьевидный (*Astragalus virgatus*) и многие другие характерные виды песчаных степей. На песчано-каменистых участках с выходами небольшого обломочного материала из сливного песчаника наиболее часто встречается очитково-политриховая ассоциация, в которой доминируют очиток едкий (*Sedum acre*) и мох политрихум волосоносный (*Polytrichum piliferum*), лапчатково-келериево-гвоздичная ассоциация, где доминантами и эдификаторами являются келерия песчаная, лапчатка песчаная и гвоздика волжская и ковыльно-разнотравная ассоциация с ковылем перистым, полынью Маршалла, козелецом мечелистным, ирисом боровым и лапчаткой песчаной.

Песчаные степи, примыкающие к сосновым лесам, могут быть отмечены как эталонные участки вблизи г. Ульяновска. Несмотря

на их некоторую нарушенность, всё же там произрастает набор характерных песчано-степных видов.

Таким образом, Большеключищинские полянно-опушечные псаммофильные комплексы являются уникальным резерватом редких и охраняемых видов растений-псаммофилов и, прежде всего – ириса борового и гвоздики волжской, а также псаммофитных растительных сообществ эталонных для лесостепной зоны Приволжской возвышенности, поэтому необходимо скорейшее создание на этой территории регионального ООПТ. Как уже было сказано выше, антропогенная нагрузка на данную территорию очень высокая. Одной из причин является близость крупного населенного пункта – села Большие Ключищи. Самым сильным негативным фактором являются лесные и степные пожары. Основные рекомендации по сохранению сообществ сводятся к полному запрету рубок сосны, предотвращению лесных пожаров, организации и оборудованию туристических стоянок, уборка вблизи них территории от мусора, запрет на любые стройки и нарушения территории, вредящие лесным, полянно-опушечным и степным экосистемам.

Список литературы

1. Благовещенский В.В. Роль хозяйственной деятельности человека в изменении сосновых лесов на Приволжской возвышенности / В.В. Благовещенский // Уч. зап. Ульяновского пед. ин-та. – 1971. – Т. 21. Вып. 6. – С. 3–36.
2. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 855 с.
3. Красная книга Ульяновской области / под науч. ред. Е.А. Артемьевой, А.В. Масленникова, М.В. Корепова; Правительство Ульяновской области. – М.: Буки Веди, 2015. – 550 с.
4. Масленников А.В. Кальцефильная флора центральной части Приволжской возвышенности / А.В. Масленников. – Ульяновск: УлГПУ, 2005. – 162 с.
5. Масленников А.В. Флора кальциевых ландшафтов Приволжской возвышенности / А.В. Масленников. – Ульяновск: УлГПУ, 2008. – 136 с.
6. Овеснов С.А. Флора Пермской области и её анализ: автореф. дис. ... д-ра биол. наук С.А. Овеснов. – СПб., 1998. – 28 с.
7. Сагалаев В.А. Флора степей Среднего Дона: автореф. дис. ... канд. биол. наук / В.А. Сагалаев. – М., 1989. – 23 с.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, ГЕНЕТИКА, МИКРОБИОЛОГИЯ

Андреева Лариса Викторовна

канд. с.-х. наук, доцент
ФГБОУ ВО «Новгородский государственный
университет им. Ярослава Мудрого»
г. Великий Новгород, Новгородская область

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ В ПОЧВАХ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЗОН В ОКРЕСТНОСТЯХ ВЕЛИКОГО НОВГОРОДА

Аннотация: состав и структура почв зависят от множества факторов, в том числе от функционального назначения территории. Почвы сельскохозяйственного назначения обогащаются минеральными и органическими веществами, что приводит к изменениям в составе микроорганизмов. Почвы, находящиеся вблизи автомагистралей и промышленных предприятий, загрязняются нефтепродуктами, тяжёлыми металлами и другими чужеродными веществами, которые оказывают негативное воздействие на почвенные микроорганизмы. В зонах отдыха, охранных зонах водоемов, участках жилой застройки устанавливаются специальные гигиенические требования к качеству почв. В статье приводятся результаты исследования образцов почв, взятых в различных функциональных зонах Новгородского района Новгородской области. Исследованию подвергали образцы из сельскохозяйственной, промышленной и рекреационной зон. Изучали общее количество бактерий, наличие бактерий группы кишечной палочки, нитрифицирующих бактерий, актиномицетов, грибов. Выявили различия в количественном и видовом составе микроорганизмов.

Ключевые слова: почва, микроорганизмы, ферменты, антропогенное воздействие.

Почва представляет сложную многокомпонентную систему, включающую минеральные, органические компоненты, воду, воздух. В составе почвы функционируют различные живые объекты: растения, животные, многочисленные микроорганизмы. Характеристики и состав почвы могут изменяться под влиянием внешних факторов окружающей среды, а также во многом зависят от жизнедеятельности макро и микроорганизмов. С другой стороны, определенные микроорганизмы и ферменты могут служить биоиндикаторами состояния почвы. Особенно это важно для оценки

антропогенного воздействия [1]. Хозяйственная деятельность людей, промышленные предприятия, транспорт, бытовые отходы приносят в состав почвы чужеродные химические соединения, оказывающие значительное влияние на процессы обмена веществ.

Почвенная микробиота реагирует на загрязнение изменением количественного и качественного состава, уменьшением или увеличением активности ферментов. Микроорганизмы пытаются провести деградацию загрязняющих веществ, осуществить процесс самоочищения за счет активности ферментов классов: гидролаз, оксидоредуктаз, трансфераз и др. [2].

Значительную антропогенную нагрузку испытывают почвы, находящиеся в пределах городской черты. В свою очередь от их характеристик зависит состояние воздуха, воды, растительных продуктов питания [3; 4]. Особенно опасным компонентом является патогенная микрофлора. Биологическое загрязнение происходит в результате попадания в почвы отходов жизнедеятельности человека и животных, содержимого свалок, полей фильтрации очистных сооружений и других стоков.

Согласно санитарно-гигиеническим нормативам в чистой почве жилой застройки не допускается наличие патогенных бактерий и возбудителей кишечных инфекций [5]. Управление Роспотребнадзора по Новгородской области регулярно информирует население об увеличении количества заболеваний кишечными инфекциями, особенно в летний период. Проблема качественных и количественных показателей микробиологического состава почв является актуальной для жилой зоны, участков сельскохозяйственного производства, парковых территорий и других зон отдыха.

Объектом проведенного исследования явились образцы почв, взятые для анализа в окрестностях Великого Новгорода в сентябре 2022 г. Образцы первой группы, отбирались на территории поселка Трубичино в зоне сельскохозяйственного назначения. Образцы второй группы были отобраны в поселке Сырково в промышленной зоне вблизи шоссе. Образцы третьей группы брали в поселке Панковка в зоне отдыха. Почву собирали с глубины 10–20 см стерильным совком в стерильные контейнеры. Каждая группа включала пять образцов массой 100 граммов, из которых путем смешения готовили средний образец, который изучали в пяти повторениях.

Исследование микробиологических показателей проводил в лаборатории микробиологии Новгородского государственного университета имени Ярослава Мудрого. Общее количество бактерий определяли методом подсчета колоний при посеве на мясопептонном агаре (МПА) [6]. Показатель общего количества бактерий зависит от многочисленных факторов, как самой почвы, так и окружающей среды, поэтому не является нормируемой величиной. В результате опытов было выявлено, что большее количество колоний микроорганизмов показывает второй образец (зона автомагистралей) – 29 колоний. Минимальное количество колоний обнаружено при посеве третьего образца – 10 колоний. Фактор разведения 10^{-3} .

Для определения количества бактерий группы кишечной палочки был выбран титрационный метод с использованием среды Кесслера и последующим пересевом на среду Эндо. Роста колоний бактерий группы кишечной палочки не обнаружили во всех трех образцах. Данный факт свидетельствует о благополучном санитарно-гигиеническом состоянии почв в исследуемых районах.

Нитрифицирующие бактерии изучали, используя метод предельных разведений и селективную среду Виноградского. Активность нитрифицирующих бактерий и их количество зависят от содержания соединений азота в почве. Источником почвенного азота могут служить азотные удобрения, разложение белковых структур животного и растительного происхождения, иные соединения, попадающие в почву в результате хозяйственной деятельности [7]. Наибольшее количество колоний нитрифицирующих бактерий было обнаружено в образцах первой зоны на третий день после посева – 22 колонии. Этот результат подтверждает, что в почвах сельскохозяйственного назначения процессы превращения азота идут более активно.

Актиномицеты и грибы могут выступать биоиндикаторами почвенной загрязненности, так как активно участвуют в процессах самоочищения почв. Они способны синтезировать ферменты, расщепляющие разнообразные химические соединения [8; 9]. Образцы почв готовили к анализу согласно ГОСТ 17.4.3.01-83. Посев проводили поверхностным способом. Для определения актиномицетов использовали крахмало-аммиачный агар, для грибов – минеральную среду Чапека с добавлением концентрированной молочной кислоты для ингибирования бактерий. Самое большое количество актиномицетов было обнаружено в образцах почвы промышленной зоны, грибов – в образцах почвы сельскохозяй-

ственного назначения. Полученные результаты не позволяют сделать вывод об интенсивности процессов самоочищения с участием актиномицетов и грибов в почве определенной функциональной зоны.

Проведенные исследования подтверждают различие микробного состава в почвах вблизи Великого Новгорода. Для оценки загрязненности почвы и интенсивности процессов самоочищения требуются расширенные исследования, включающие изучение микробного состава, выявление основных загрязнителей, специального оборудования.

Список литературы

1. Поляк Ю.М. Почвенные ферменты и загрязнение почв: биодegradация, биоремедиация, биоиндикация / Ю.М. Поляк, В. И. Сухаревич // *Агрохимия*. – 2020. – №3. – С. 83–93. – DOI 10.31857/S0002188120010123.
2. Биодиагностика состояния окультуренной городской почвы, загрязненной тяжелыми металлами, методами биоиндикации и биотестирования / Ю.М. Поляк, Л.Г. Бакина, Н.В. Маякина [и др.] // *Почвы и окружающая среда*. – 2018. – Т. 1. №4. – С. 231–242. – DOI 10.31251/pos.v1i4.34.
3. Савич В.И. Информационная оценка взаимосвязей свойств, процессов и режимов почв / В.И. Савич, В.А. Седых, Н.В. Минаев // *АгроЭкоИнфо*. – 2022. – №6 (54). – DOI 10.51419/202126642.
4. Рышкель И.В. Влияние антропогенных факторов на микробиологическую активность почвы / И.В. Рышкель, О.С. Рышкель // *Сахаровские чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века: материалы 18-й международной научной конференции* (Минск, 17–18 мая 2018 года) / под ред. С.А. Маскевича, С.С. Позняка. В 3 ч. Ч. 2. – Минск: Информационно-вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь, 2018. – С. 168–169.
5. Соколов М.С. Методология и показатели санитарно-микробиологического контроля безопасности почвы (аналитический обзор) / М.С. Соколов, Д.М. Соколов, С.Н. Тымчук [и др.] // *Биосфера*. – 2014. – Т. 6. №2. – С. 158–169.
6. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Т.Г. Добровольская, Б.А. Бызов, В.С. Гузев [и др.]. – М.: Изд-во Московского государственного университета, 1991. – 304 с.
7. Свирина В.А. Азотный режим и биологическая активность почвы под влиянием известкования и удобрений / В.А. Свирина, О.А. Артюхова // *Плодородие*. – 2019. – №5 (110). – С. 3–6. – DOI 10.25680/S19948603.2019.110.01.
8. Назаренко Н. Н. Актиномицеты как биоиндикационный показатель автотранспортного загрязнения почвы / Н.Н. Назаренко, И.Д. Свистова, И.И. Корецкая // *Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии: материалы II Всероссийской научно-практической конференции* (Киров, 17 ноября 2020 года). – Киров: Вятский государственный университет, 2020. – С. 139–144.
9. Шаркова С.Ю. Биоиндикация городской среды по состоянию микробного комплекса почв / С.Ю. Шаркова, Е.А. Парфенова, Е.А. Полянская // *Экология и промышленность России*. – 2011. – №11. – С. 44–47.

Андреева Наталья Юрьевна

лаборант-исследователь
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»
г. Казань, Республика Татарстан

Кабве Эммануэль

канд. биол. наук, старший научный сотрудник
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»
г. Казань, Республика Татарстан

Давидюк Юрий Николаевич

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник
Институт фундаментальной медицины и биологии
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»
г. Казань, Республика Татарстан
ведущий научный сотрудник
Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-106993

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА ENV ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

***Аннотация:** генетическая гетерогенность ВИЧ влияет на патогенность вируса, прогрессирование заболевания и ответ на комбинированную антиретровирусную терапию у инфицированных пациентов, а также препятствует разработке вакцины против данного заболевания. Молекулярно-генетический анализ ВИЧ позволит отслеживать миграцию и мутации вируса, а также прогнозировать развитие эпидемии. Проведен сравнительный анализ нуклеотидной последовательности участка гена Env вариантов ВИЧ Республики Татарстан (г. Казань). Было обнаружено, что исследованные образцы ВИЧ из Республики Татарстан относятся к подтипу A.1 группы M штамма ВИЧ-1.*

***Ключевые слова:** вирус иммунодефицита человека, подтипы ВИЧ-1, ген Env, генетическая гетерогенность.*

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (Приоритет–2030).

По состоянию на 2023 год около 40 миллионов человек живут с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), и столько же людей за все время погибло от осложнений, вызванных ВИЧ [1]. Репликация ВИЧ в клетках организма без сопутствующего лечения вызывает постепенное истощение CD4⁺ Т-лимфоцитов и различные нарушения в работе иммунной системы, приводящие к повышенному риску осложнений от инфекционных и онкологических заболеваний [2]. Антиретровирусные препараты высокоэффективны в ингибировании репликации ВИЧ, а комбинированная антиретровирусная терапия (АРВТ) приводит к длительному подавлению репликации вируса. Подавление ВИЧ способствует восстановлению иммунитета и практически исключает риск развития синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) [3]. Тем не менее ВИЧ-положительные люди имеют более высокий риск развития сердечных, костных, печеночных, почечных и неврологических заболеваний. Несмотря на значительные достижения в профилактике заболевания, передача ВИЧ остается распространенной среди многих уязвимых групп населения [4]. По состоянию на 2022 год эпидемия ВИЧ в России затронула 1,13 млн человек [5]. Приволжский федеральный округ (ПФО) характеризуется повышенными показателями заболеваемости и высоким уровнем пораженности населения ВИЧ-инфекцией. По состоянию на 2020 год ПФО являлся лидером по абсолютному числу зарегистрированных людей, живущих с ВИЧ – более 244 тысяч человек [6]. Наиболее поражённым регионом являлась Самарская область, где было зарегистрировано более 57 тысяч ВИЧ-инфицированных. Помимо прочего эпидемиологическая ситуация в ПФО осложнялась распространённостью вариантов ВИЧ, устойчивых к АРВТ [7]. ВИЧ относится к роду лентивирусов, принадлежащему к семейству *Retroviridae*. Зрелый вирион представляет собой сферическую структуру диаметром 100–120 нм, состоящую из липидной двухслойной мембраны, окружающей нуклеокапсид с вирусным геномом [8]. Геном ВИЧ содержит вспомогательные и регуляторные гены, фланкированные длинными концевыми повторами (LTR). Геном ВИЧ можно разделить на три функциональные группы: структурные гены (*Gag*, *Pol* и *Env*); регуляторные гены (*Tat* и *Rev*); вспомогательные гены (*Vpu*, *Vpr*, *Vif* и *Nef*)

[9]. Нуклеокапсид ВИЧ содержит две одноцепочечные молекулы (+) РНК, которые при попадании в клетку-мишень обратно транскрибируются в двуцепочечные ДНК (через стадию кДНК) с помощью обратной транскриптазы [10].

ВИЧ обладает широким спектром генетической гетерогенности. Такое разнообразие является результатом высокой скорости репликации вируса, большой частоты мутаций, а также способности обратной транскриптазы стимулировать гомологичную рекомбинацию [11]. Были выделены и охарактеризованы два основных типа ВИЧ: ВИЧ-1 и ВИЧ-2, среди которых ВИЧ-1 является более вирулентным и патогенным [9]. На основании разницы в нуклеотидной последовательности (НП) гена оболочки (*Env*) у типа ВИЧ-1 выделяют три группы: М, N и О [12]. Группа М является наиболее распространенной, на долю вариантов из этой группы приходится около 90% ВИЧ-инфекций во всем мире [13]. Группа М ВИЧ-1 дополнительно подразделяется на подтипы А1, А2, А3, А4, В, С, D, F1, F2, G, H, J и К, с генетической вариабельностью от 25% до 35%. Помимо данных вариантов существуют циркулирующие рекомбинантные формы и уникальные рекомбинантные формы, которые являются результатом заражения одной клетки двумя или несколькими подтипами [14]. Наиболее распространенными являются следующие подтипы: В, встречающийся в основном в Северной Америке и Европе; А и D, которые распространены в основном в Африке; С, встречающийся в основном в Африке и Азии. Самым распространённым на территории России является вариант ВИЧ-1 группы М подтипа А1 [15].

Генетическое разнообразие ВИЧ препятствует разработке вакцины против СПИД. Кроме того, генетическая гетерогенность ВИЧ может влиять на патогенность вируса, прогрессирование заболевания и ответ на АРВТ у инфицированных пациентов [16]. Учитывая данные особенности ВИЧ, представляется необходимым проведение его молекулярно-генетического анализа для лучшего понимания характеристик вируса и их влияния на эффективность АРВТ, а также для снижения количества случаев заболевания и уровня смертности от ВИЧ-инфекции [17]. Результаты молекулярно-генетического анализа ВИЧ позволят отслеживать пути распространения и эволюцию вируса, а также прогнозировать развитие эпидемии, что является важным для разработки ан-

тиретровирусных препаратов и вакцин, а также проведения грамотной противовирусной профилактики [15].

Таким образом, целью данной работы явилось проведение молекулярно-генетической идентификации и сравнительного анализа нуклеотидной последовательности участка гена *Env* образцов ВИЧ, выявленных на территории Республики Татарстан.

Этический комитет Казанского федерального университета одобрил данное исследование (статья 20, Федеральный закон «Об охране здоровья граждан Российской Федерации» №323-ФЗ от 21 ноября 2011 года). Подписанное информированное согласие было получено от каждого пациента в соответствии с руководящими принципами, принятыми в рамках настоящего протокола. Общую РНК из венозной крови ВИЧ-инфицированных пациентов выделяли с использованием реагента TriZol (Invitrogen, США). Синтез кДНК проводили с использованием обратной транскриптазы RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific, США). Для проведения ПЦР-амплификации участка гена *Env* ВИЧ использовали праймеры со следующими последовательностями (в направлении 5'→3'): TAGAAAGAGCAGAAGACAGTGG-CAATGA для прямого праймера и TTTAG-CATCTGATGCASAAAATAG. ПЦР проводили с использованием реакционной смеси 5×Screen Mix (Евроген, Россия). Полученные ПЦР-продукты секвенировали в Междисциплинарном центре коллективного пользования КФУ. Для множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей (НП) использовали алгоритм Clustal W из программы MEGA6.0. Филогенетический анализ НП вариантов ВИЧ проводили методом Maximum Likelihood с использованием Tamura-Nei model в программе MEGA6.0 [18]. Для сравнительного и филогенетического анализа использовали НП вариантов ВИЧ, размещённых в электронной базе данных GenBank. НП гена *Env* ВИЧ-2 из Франции и Гвинеи-Бисау использовали в качестве внешней группы. Для секвенирования методом Сэнгера был выбран участок гена *Env* длиной 650 нуклеотидов. Всего было получено НП участка последовательности гена *Env* пяти образцов ВИЧ из города Казани (образцы №1–5). В результате сравнительного анализа было выявлено, что НП образцов №1 и №2 идентичны между собой, а идентичность НП образцов №3 и №4 равнялась 96,8%. При сравнении исследуемых образцов между собой значения идентичности НП были равны:

97,3% – для образцов №1 и №2, 96,8% – для образцов №3 и №4, 88,2–93,5% между образцами №5 и №1–4.

При сравнении НП исследуемых образцов с НП подтипов А ВИЧ-1 из России и стран СНГ (Казахстан и Узбекистан) а также из Кипра было выявлено, что значения идентичности находились в диапазоне 84,5 – 95,4% (Таблица 1). При сравнении исследуемых образцов с подтипами С, переходным подтипом С/Д, а также переходным подтипом D/G из стран Африки (Замбия, Кения) было показано, что значения идентичности находились в интервале 73,2–77,6%. При сравнении образцов с подтипами В из западных стран и Азии (Испания, Германия, Южная Корея, США и Великобритания) было выявлено, что значения идентичности находились в пределах 73,6–82,5%. Значения идентичности НП при сравнении с типами ВИЧ-2 из Гвинеи-Бисау и Франции составили 52,3–55,6% (табл. 1). Таким образом, можно сделать вывод о том, что анализируемые образцы №1–5 относятся к типу ВИЧ-1.

Таблица 1

Значения идентичности нуклеотидных последовательностей гена *Env* вариантов ВИЧ Республики Татарстан (г. Казань), подтипов штамма ВИЧ-1 из России и стран СНГ, Африки, западных стран и Азии, и штаммов ВИЧ-2

Локация	№	ВИЧ-1											ВИЧ-2	
		Россия + страны СНГ подтип А				Африка подтип С/Д		Западные страны + Азия подтип В					Гвинея-Бисау	Франция
		Россия	Казахстан	Узбекистан	Кипр	Замбия	Кения	Испания	Германия	Южная Корея	США	Великобритания		
Казань	Образец №1	84,5 - 88,5	84,7 - 88,2	88,7	88,5	75,9 - 77,3	75,0 - 75,4	80,2	78,7	73,6	74,4 - 76,5	76,5	52,3	52,9
	Образец №2	84,8 - 88,7	84,9 - 88,5	89,0	88,7	76,2 - 77,6	75,3 - 75,4	80,5	78,4	73,8	74,7 - 76,7	76,7	52,6	53,2
	Образец №3	88,2 - 93,0	90,6 - 93,0	93,0 - 93,3	91,7	76,4 - 77,5	73,2 - 74,7	80,1	78,4	75,3	75,5 - 76,6	76,6	54,3	55,3
	Образец №4	89,8 - 94,6	92,0 - 95,2	95,2 - 95,4	93,8	76,4 - 77,5	74,3 - 76,4	82,5	79,0	76,4	77,1 - 78,0	78,0	54,0	55,6
	Образец №5	86,0 - 88,3	87,3 - 88,5	88,2	86,8	73,4	74,0 - 75,5	80,5	78,2	76,1	75,3 - 77,0	76,5	52,6	53,5
Общее значение идентичности		84,5 - 95,4				73,2 - 77,6		73,6 - 82,5					52,3 - 55,6	

На филогенетическом дереве, построенном для НП участка гена *Env* длиной 650 нуклеотидов, образцы из Казани (обозначены розовым цветом) и образцы из России и стран СНГ образуют отдельную субкладу подтипа А.1 обособленную от остальных суб-

клад, включающих подтипы В, В/Ф, С, D/С, D/Г штамма ВИЧ-1, а также типы ВИЧ-2 (рис. 1).

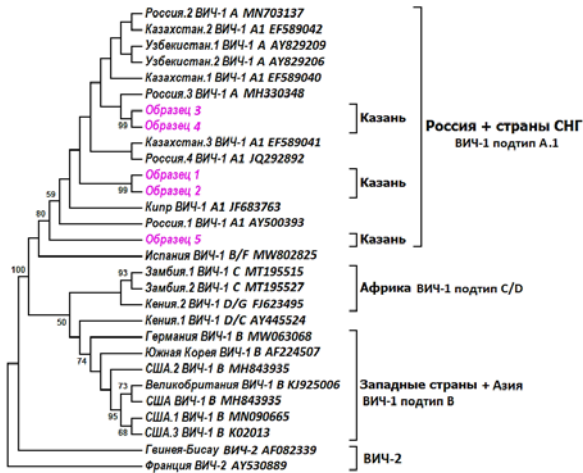


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное для НП частичного гена *Env* ВИЧ длиной 650 п.н.; Генетические линии ВИЧ: подтипы А.1, В, В/Ф, С, D/С, D/Г группы М штамма ВИЧ-1 и штаммы ВИЧ-2

При этом наиболее близкородственными для образцов №3 и №4 выглядят штамм Россия.3 ВИЧ-1 А, а также штаммы из Казахстана и Узбекистана, в то время как образцы №1 и №2 находятся на отдельной ветке, образуют отдельную субкладу, и ни один из референсных штаммов не является к ним близкородственным. На отдельной ветке расположен и образец №5, что в совокупности с результатами сравнительного анализа НП, свидетельствует о значительной генетической дистанции между ним и референсными штаммами из стран СНГ, относящимися к подтипу А.1. Не исключено, что этот образец является представителем какого-то переходного подтипа, например, А/В или А/Ф. Отображенные на филогенетическом дереве субклады различных подтипов штамма ВИЧ-1 соответствуют литературным данным о распространении вариантов ВИЧ в разных странах [15; 19], в частности, о преобладании подтипа А.1 штамма ВИЧ-1 в России.

Таким образом, на основании результатов сравнительного анализа НП и филогенетического анализа можно сделать вывод, что выявленные на территории Республики Татарстан, в частности в городе Казани, варианты ВИЧ относятся к подтипу А.1 группы М

штамма ВИЧ-1 и вместе с подтипами из России и стран СНГ входят в отдельную группу, генетически отличающуюся от групп вариантов, распространённых в Африке, западных странах и Азии.

Список литературы

1. World Health Organization [Electronic resource]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids> – Accessed: 25.05.2023.
2. Moir S., Chun T.-W., Fauci A.S. Pathogenic Mechanisms of HIV Disease // *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* – 2011. – Т. 6. №1. – С. 223–248.
3. Deeks S.G., Overbaugh J., Phillips A., Buchbinder S. HIV infection // *Nat Rev Dis Primers.* – 2015. – Т. 1. №1. – С. 15035.
4. Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide // *Current Opinion in HIV and AIDS.* – 2019. – Т. 14. №3. – С. 153–160.
5. ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2021 г. // Специализированный научно-исследовательский отдел по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора [Электронный ресурс]. <http://www.hivruussia.info/wp-content/uploads/2022/03/Spravka-VICH-v-Rossii-na-31.12.2021-g..pdf>.
6. Таишева Л.А. Оценка поведенческого риска ВИЧ-инфицирования среди молодежи // *Казанский мед. ж.* – 2009. – №3 [Электронный ресурс]. <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-povedencheskogo-riska-vich-infitsirovaniya-sredi-molodezhi>.
7. Зайцева Н.Н., Парфенова О.В., Ефимов Е.И. Анализ распространенности резистентных штаммов ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе // *Вопросы вирусологии.* – 2013. – №6. <https://cyberleninka.ru/article/n/analiz-rasprostranennosti-rezistentnyh-shtammov-vich-k-antiretrovirusnym-preparatam-v-privolzhskom-federalnom-okruge>.
8. Sundquist W.I., Krausslich H.-G. HIV-1 Assembly, Budding, and Maturation // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine.* – 2012. – Т. 2. №7. – С. a006924–a006924.
9. Zulfiqar H.F., Javed A., Sumbal, Afroze B., Ali Q., Akbar K., et.al. HIV Diagnosis and Treatment through Advanced Technologies // *Front. Public Health.* – 2017. – Т. 5. – С. 32.
10. Singh P., Kaur G., Sharma G., Mehra N. K. Immunogenetic basis of HIV-1 infection, transmission and disease progression // *Vaccine.* – 2008. – Т. 26. №24. – С. 2966–2980.
11. Taylor B.S., Sobieszczyk M., McCutchan F., Hammer S. M. The Challenge of HIV-1 Subtype Diversity // *N Engl J Med.* – 2008. – Т. 358. №15. – С. 1590–1602.
12. Thomson M.M., Pérez-Álvarez L., Nájera R. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy // *The Lancet Infectious Diseases.* – 2002. – Т. 2. №8. – С. 461–471.
13. Hemelaar J., Elangovan R., Yun J., Dickson-Tetteh L., et.al. Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990–2015: a systematic review, global survey, and trend analysis // *The Lancet Infectious Diseases.* – 2019. – Т. 19. №2. – С. 143–155.

14. Sarkhoun H., Chehadeh W. CODEHOP-Mediated PCR Improves HIV-1 Genotyping and Detection of Variants by MinION Sequencing // Microbiol Spectr. – 2021. – Т. 9. №2. – С. e01432–21.

15. Казеннова Е.В., Нешумаев Д.А., Рукавицин Д.В., Молекулярно-эпидемиологический анализ эпидемии ВИЧ-инфекции в Благовещенске и Хабаровске (Дальний Восток России) // Вопросы вирусологии. – 2014. – №4 [Электронный ресурс]: <https://cyberleninka.ru/article/n/molekulyarno-epidemiologicheskii-analiz-epidemii-vich-infektsii-v-blagoveschenske-i-habarovskedalniy-vostok-rossii>.

16. Cao Z., Li J., Chen H., Song C., Shen Z., Zhou X., et. al. Effects of HIV-1 genotype on baseline CD4+ cell count and mortality before and after antiretroviral therapy // Sci Rep. – 2020. – Т. 10. №1. – С. 15875.

17. Gregson J., Tang M., Ndembu N., Hamers R.L., Rhee S., Marconi V.C., Diero L., Brooks K. A., Theys K., Rinke De Wit T., Arruda M., Garcia F., Monge S. Global epidemiology of drug resistance after failure of WHO recommended first-line regimens for adult HIV-1 infection: a multicentre retrospective cohort study // The Lancet Infectious Diseases. – 2016. – Т. 16. №5. – С. 565–575.

18. Tamura K., Stecher G., Peterson D., et.al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 // Mol. Biol. Evol. – 2013. – 30. – P. 2725–2729.

19. Osmanov S., Pattou C., Walker N., Schwardländer B., Esparza J. Estimated Global Distribution and Regional Spread of HIV-1 Genetic Subtypes in the Year 2000 // JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. – 2002. – Т. 29. №2. – С. 184–190.

Елбоева Полина Игоревна

студентка

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
г. Казань, Республика Татарстан

Давидюк Юрий Николаевич

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник
Научно-клинический центр прецизионной и регенеративной медицины
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
г. Казань, Республика Татарстан

ведущий научный сотрудник
Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных
проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-106903

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕ-
НОМА PUUMALA ORTHONANTAVIRUS, ВЫЯВЛЕН-
НЫХ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ**

***Аннотация:** проведён молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей участков S- и M-сегментов штаммов *Puumala orthohantavirus*, полученных из трех локаций Республики Мордовия. Установлено, что выявленные штаммы относительно наиболее близкородственны штаммам из Курской области. Полученные результаты дают основания предположить, что штаммы PUUV, циркулирующие в Курской области и выявленные в Республике Мордовия могут относиться к отдельной сублинии в русской генетической линии вируса.*

***Ключевые слова:** геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, *Puumala orthohantavirus*, S-сегмент, M-сегмент, молекулярно-генетический анализ, генетическая вариабельность.*

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПСАЛ–2030).

Ортохантавирусы вызывают хантавирусный кардиопульмональный синдром (ХКПС) и геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС), распространённые в Новом и Старом Свете, соответственно [8]. Возбудителями ГЛПС являются ортохантавирусы Dobrava-Belgrade, Hantaan, Seoul, Puumala (PUUV) [10]. В России основным возбудителем ГЛПС является PUUV, переносимый рыжей полёвкой (*Myodes glareolus*) [12]. PUUV распространён в европейской части РФ, преимущественно в Приволжском Федеральном Округе (ПФО), где ежегодно регистрируется наибольшее количество случаев заболевания ГЛПС в России. Поэтому изучение генома PUUV остаётся актуальной задачей для решения вопроса о снижении уровня заболеваемости ГЛПС в ПФО. Республика Мордовия (РМ) входит в группу регионов ПФО со средним уровнем заболеваемости ГЛПС [1]. Однако на данный момент информация о геновариантах PUUV, циркулирующих в РМ, отсутствует. Поэтому целью работы было выявление и анализ вариантов генома в ряде локаций РМ.

Частицы ортохантавирусов представляют собой сферы, размером 120–160 нм, внутри которой находится геном, представленный сегментированной антисмысловой РНК [6]. Геном PUUV состоит из трех сегментов: S, M и L, кодирующих нуклеокапсидный белок (N белок), предшественника оболочечных гликопротеинов

Gp и Gc (GPC) и РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp), соответственно [7]. Для PUUV характерна высокая скорость накопления нуклеотидных замен в геноме, поэтому в настоящее время различают восемь генетических линий вируса, две из которых – финская (FIN) и русская (RUS) – распространены в России [9].

Замороженные образцы легочной ткани мелких грызунов, пойманных в РМ в 2021 г. были получены из Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)». Общую РНК выделяли с помощью реагента TRIzol (Invitrogen Life Technologies, США) по методике производителя.

Скрининг на наличие в образцах генома вирусной РНК проводили с использованием «Набора реагентов для выявления и идентификации РНК хантавирусов – возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом методом полимеразной цепной реакции в реальном времени» (Синтол, Россия).

Для образцов, в которых была обнаружена РНК PUUV, синтезировали кДНК с использованием реагента RevertAid (Thermo Fisher Scientific, США) по методике производителя. ПЦР-амплификацию участков генома PUUV проводили с использованием смеси «5×Screen Mix» (Евроген, Россия) и праймеров, последовательности которых приведены в [4], а также праймеров собственной разработки.

Разделение ПЦР-продуктов проводили с помощью электрофореза в 1% агарозном геле. Для очистки ПЦР-продуктов использовали набор GeneJET Gel Extraction Kit («Thermo Fisher Scientific», США). Секвенирование ПЦР-продуктов по Сэнгеру проводилось в Междисциплинарном центре коллективного пользования КФУ. Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей (НП) по алгоритму Clustal W проводили с использованием программы MEGA6.0.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей (НП) штаммов PUUV проводили методом Maximum Likelihood с использованием Tamura-Nei model в программе MEGA6.0 [11]. В качестве референсных использовали НП штаммов, размещенных в базе данных GenBank.

Всего было получено НП S-сегмента длиной 645 нуклеотидов для 6 штаммов PUUV из трёх локаций и НП M-сегмента длиной 614 нуклеотидов для 3 штаммов PUUV из двух локаций.

В результате сравнительного анализа установлено, что разница между НП выявленных штаммов не превышала 0.7%, а различия в кодируемых секвенированным участком АП составили до 1.0%. По результатам сравнения с НП референсных штаммов наименьшее значение было получено для разницы между НП штаммов из РМ и Курской области (табл. 1).

Таблица 1

Значения разницы НП* участка S-сегмента между штаммами PUUV, циркулирующими в популяциях рыжей полевки РМ и референсными штаммами, относящимися к генетической линии RUS и циркулирующими в популяциях рыжей полевки ряда регионов европейской части России, %

Обозначение выявленных штаммов	РТ, Предкамье	РТ, Закамье	РТ, Предволжье	Ульяновская область	Самара	Курск	Башкирия
ML2922	12.8–14.8	13.2–15.7	13.5–14.5	13.8	14.1	10.1–10.8	13.6
ML2923	13.2–15.2	13.6–16.1	13.5–14.8	14.0	14.5	10.5–11.1	13.2
ML2924	12.8–14.8	13.2–15.7	13.5–14.5	13.8	14.1	10.1–10.8	13.6
ML2953	13.0–14.5	13.5–16.0	13.7–14.8	14.0	14.3	10.3–11.0	13.0
ML2992	12.8–14.8	12.8–15.3	13.0–14.5	13.4	13.6	10.3–11.0	12.8
ML2994	13.0–15.0	13.4–15.9	13.7–14.7	14.0	14.3	10.3–10.7	13.4

* – жирным шрифтом выделены минимальные значения разницы НП между исследованными и референсными штаммами PUUV.

При сравнении с НП референсных штаммов генетических линий FIN, CE, N-SCA были получены значения разницы в интервале 14.5–19.9%, то есть заметно выше, чем при сравнении со штаммами русской генетической линии. Поэтому можно сделать вывод, что выявленные в РМ штаммы PUUV относятся к генетической линии RUS.

Разница АП между исследованными и референсными штаммами, относящимися к генетической линии RUS, составила 1,6–

3,7%, а при сравнении со штаммами других генетических линий находилась в интервале 2,1–5,3%.

У штаммов из РМ в АП была обнаружена аминокислотная замена Thr79Ala, аналогичная замена обнаружена у штамма MG1710 из Предволжья РТ и двух штаммов из Курской области. Для большинства штаммов из РМ характерна замена Ile131Leu, обусловленная нуклеотидными мутациями A435C и T437C (у штамма ML2992 выявлена только замена A435C).

Кроме того, у исследуемых штаммов была обнаружена уникальная аминокислотная замена – Leu193Ile, которая возможно является молекулярным маркером для штаммов, циркулирующих в исследованных локациях РМ.

Выявленные в РМ штаммы PUUV оказались идентичными как по НП участка М-сегмента, так и по АП кодируемого полипептида. В результате сравнительного анализа установлено, что разница НП выделенных штаммов из РМ и Курской области составляет 11,0–12,4%, а со штаммами из регионов Поволжья – 13,3–18,2% (табл. 2).

Разница НП исследуемых штаммов со штаммами генетических линий FIN, CE, N-SCA составила 17,0–22,3%.

Таблица 2

Значения разницы НП* участка М-сегмента между штаммами PUUV, циркулирующими в популяциях рыжей полевки РМ и референсными штаммами, относящимися к генетической линии RUS и циркулирующими в популяциях рыжей полевки ряда регионов европейской части России, %

Обозначение выявленных штаммов	РТ, Предкамье	РТ, Закамье	РТ, Предволжье	Ульяновская область	Самара	Курск	Башкирия
ML2922	13.3–17.3	15.3–17.3	15.4	15.1	15.6	11.0–11.6	15.0
ML2923	13.3–17.3	15.3–17.3	15.4	15.1	15.6	11.0–11.6	15.0
ML2994	13.8–17.9	15.9–18.2	16.0	15.3	15.3	11.8–12.4	17.4

* – жирным шрифтом выделены минимальные значения разницы НП между исследованными и референсными штаммами PUUV

Таким образом, результаты сравнительного анализа НП и АП, а также филогенетического анализа дают основание полагать, что штаммы PUUV, выявленные в РМ, являются генетически относительно близкородственными штаммам из Курской области и, возможно образуют вместе с ними отдельную сублинию в генетической линии RUS [2].

Нужно отметить, что географически исследованные локации из РМ расположены намного ближе к районам циркуляции штаммов PUUV в Поволжье, чем к локациям из Курской области.

Тем не менее генетическая разница между штаммами из РМ и Поволжья заметно выше, чем между штаммами из РМ и Курской области.

Возможно, что такое распределение генетических вариантов PUUV является следствием миграций рыжих полёвок по Восточноевропейской равнине в постледниковый период.

Существуют предположения, что один из миграционных потоков двигался из Карпатского рефугиума в общем направлении «запад-восток» [3], а другой – из приазовского рефугиума в общем направлении «юг-север-северо-запад» [5; 9].

Представляется вероятным, что выявленные в РМ штаммы были принесены рыжими полёвками, двигавшимися с запада, а в регионы Поволжья штаммы вируса были принесены миграциями полёвок с юга или юго-востока.

Однако имеющихся результатов недостаточно для полного понимания причин выявленного распределения генетических вариантов PUUV в европейской части России.

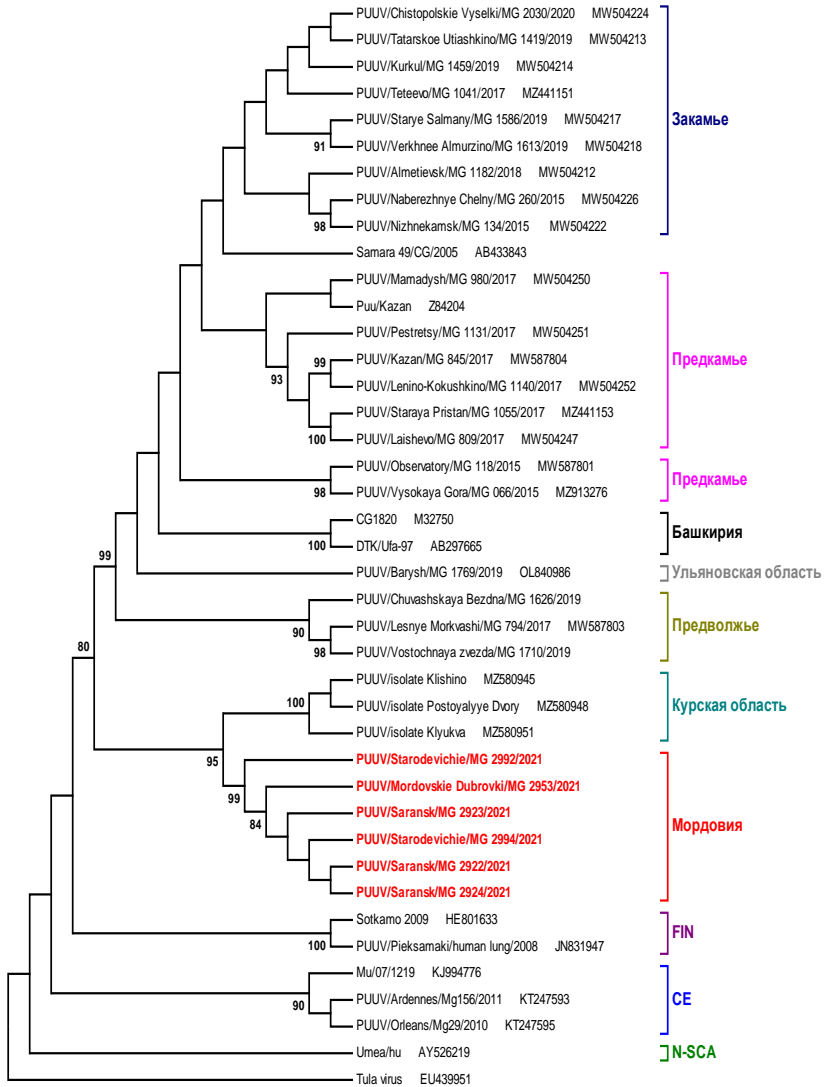


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное для участка S-сегмента штаммов PUUV. Значения бутстрепов менее 70 не показаны

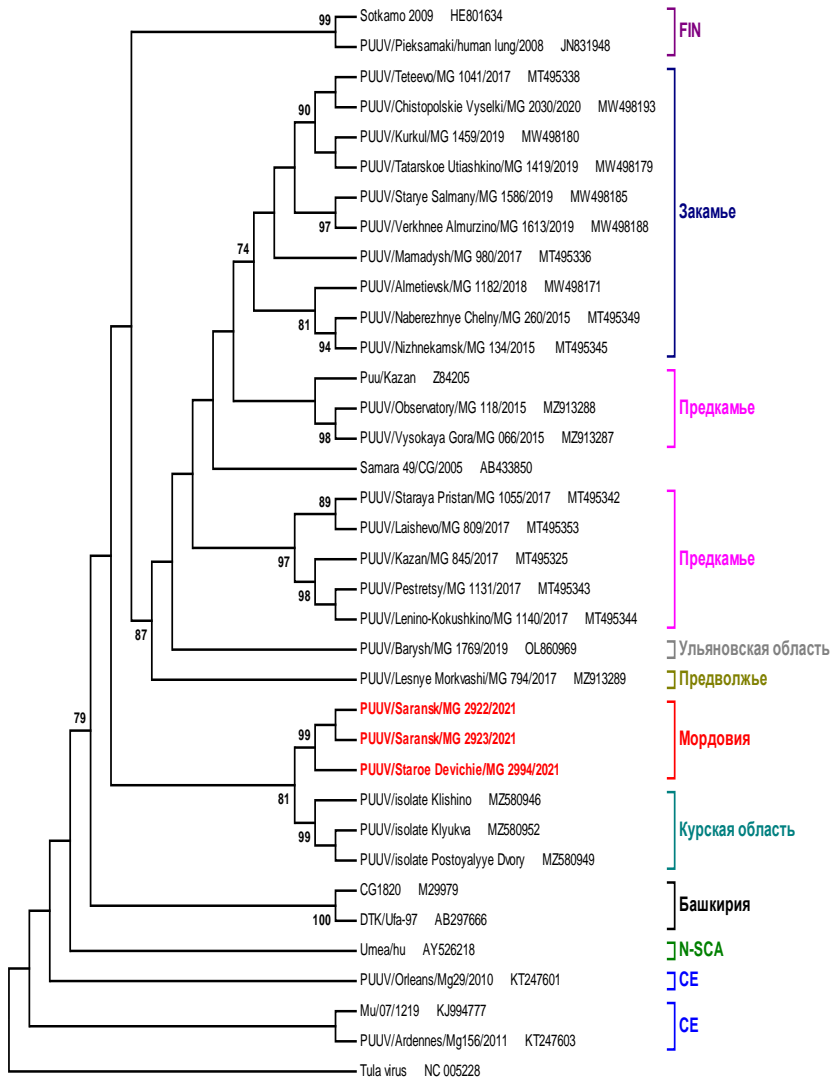


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное для участка М-сегмента штаммов PUUV. Значения бутстрепов менее 70 не показаны.

Список литературы

1. Савицкая Т.А. Анализ эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. / Т.А. Савицкая, А.В. Иванова, Г.Ш. Исаева [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2023. – Т. 1. – С. 85–95.
2. Blinova E. A fatal case of haemorrhagic fever with renal syndrome in Kursk Region, Russia, caused by a novel Puumala virus clade / E. Blinova, A. Deviatkin, S. Kurashova [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2022. – V. 102. – P. 105–111.
3. Castel G. Phylogeography of Puumala orthohantavirus in Europe / G. Castel, F. Chevenet, M. Razzauti [et al.] // *Viruses*. – 2019. – V. 11. – P. 679–687.
4. Davidyuk Y. Prevalence of the Puumala orthohantavirus Strains in the Pre-Kama Area of the Republic of Tatarstan, Russia / Y. Davidyuk, A. Shamsutdinov, E. Kabwe [et al.] // *Pathogens*. – 2020. – Vol. 9. – Art. 540.
5. Dekonenko A. Genetic similarity of Puumala viruses found in Finland and western Siberia and of the mitochondrial DNA of their rodent hosts suggests a common evolutionary origin / A. Dekonenko, V. Yakimenko, A. Ivanov [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2003. – V. 4. – P. 245–257.
6. Douglas K.O. Serological Evidence of Human Orthohantavirus Infections in Barbados, 2008 to 2016 / K.O. Douglas, T.A. Samuels, M. Gittens-St. Hilaire // *Pathogens*. – 2021. – V. 10. – P. 571–584.
7. Drewes S. Identification of a novel hantavirus strain in the root vole (*Microtus oeconomus*) in Lithuania, Eastern Europe / S. Drewes, K. Jeske, P. Strakova [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2020. – V. 90. – P. 1–10.
8. Hägele S. Cells of the human respiratory tract support the replication of pathogenic Old World orthohantavirus Puumala / S. Hägele, C. Nussbag, A. Müller [et al.] // *Virology Journal*. – 2021. – V. 18. – P. 169–178.
9. Razzauti M. Microevolution of Puumala hantavirus in its host, the bank vole (*Myodes glareolus*): dis. M. Razzauti PhD; 24.02.12 / M. Razzauti, Haartman Institute Faculty of Medicine. – Helsinki, 2012. – 88 l.
10. Srisawat N. Tropical Infections Causing Acute Kidney Injury / N. Srisawat, S. Peerapornratana, S. Eiam-Ong // *Critical Care Nephrology*. – 2019. – V. 3 – P. 492–499.
11. Tamura K. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 / K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson [et al.] // *Molecular biology and evolution*. – 2013. – V. 30. – P. 2725–2729.
12. Tkachenko E.A. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (History, problems and Research Perspectives) / E.A. Tkachenko, J.K. Dzagurova, A.D. Bernshtein [et al.] // *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. – 2016. – V. 15. – P. 23–34.

Куницына Анастасия Владимировна

научный сотрудник, ассистент

Королева Анастасия Константиновна

лаборант-исследователь

Ачилов Атабег Батырович

младший научный сотрудник, магистрант

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор, директор

Научно-исследовательский центр фундаментальных

и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-106992

ОЦЕНКА МУТАЦИОННОГО СТАТУСА ГЕНОВ *BRAF*, *NRAS* И *CDKN2A* В ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ОБРАЗОВАНИЯХ КОЖИ

Аннотация: невусы относят к доброкачественным меланоцитарным новообразованиям с неопределённым биологическим потенциалом. Между генами, ассоциированными с невусом и меланомой, а также между фенотипическими и клеточными особенностями невусов и меланомы проявляются выраженные корреляции. В связи с этим для эффективного мониторинга и ранней диагностики меланомы необходим одномоментный мультиплексный скрининг по всем основным драйверным мутациям. В статье отражены результаты молекулярно-генетических исследований мутаций генов *BRAF*, *NRAS* и *CDKN2A* пациентов с гистологическим заключением внутридермальный невус кожи.

Ключевые слова: меланома кожи, внутридермальный невус, *BRAF*, *NRAS*, *CDKN2A*.

Патогенез меланомы и формирование злокачественной меланомы проходит этапы – образование «простых», диспластических невусов, меланомы *in situ* и инвазивной меланомы [3]. Невусы – это доброкачественные меланоцитарные опухоли с неопределённым биологическим потенциалом, которые возникают внутриутробно (врожденные) или после рождения (приобретенные) [10]. «Драйверная» мутация даже в одном меланоците или предшественнике меланоцитов инициирует образование невуса, что приводит к повышению уровня пролиферации. В свою очередь бесконтрольная пролиферация ингибируется неповрежденными кле-

точными системами защиты, «выполняется» программа старения. Только при появлении дополнительных онкогенных изменений, которые могут обеспечить «уход» от онкоген-индуцированного старения, наблюдается злокачественная прогрессия невуса [2; 4]. У пациентов с множественными невусами процент трансформации в меланому достигает 50%, особенно в условиях повышенного воздействия УФ-излучения [6; 12]. Основную роль в опухолевой трансформации новообразований кожи, как злокачественных, так и доброкачественных (невус), играет активация сигнального пути MAPK (mitogen-activated protein kinase) [17; 18]. Активация пути MAPK происходит за счет мутаций в генах *BRAF* (в 40–60% случаев) и *NRAS* (в 20–25% случаев) и является первым важным фактором для меланоцитарной пролиферации, но недостаточным для трансформации невусов в меланому [17]. *BRAF*^{V600E} является хорошо известной «драйверной» мутацией, которая активирует сигнальный путь MAPK встречающейся при меланоме. Согласно литературным данным около 80% доброкачественных образований, которые в основном развиваются в течение первых 25 лет жизни [8], несут мутацию *BRAF* [1, 12]. Мутации гена *NRAS* являются еще одним онкогенным событием в развитии меланомы [7]. Наиболее распространенным участком мутации является кодон 61 в экзоне 2. Причем замены C181A (Q61K) и A182G (Q61R) обнаруживаются чаще всего. *NRAS*-мутации были обнаружены примерно в 6–20% невусов [21]. При этом мутации в генах *BRAF* и *NRAS* являются взаимоисключающими. Вместе с тем, *BRAF*-негативные опухоли требуют дальнейшего исследования мутационного статуса на наличие мутаций в генах *NRAS*, *NF1*, *c-KIT*.

Второй сигнальный путь, активирующий развитие меланомы – PI3K-АКТ-mTOR, является универсальным для большинства клеток, который блокирует апоптоз, рост, пролиферацию клеток, метаболизм. Так, в частности, ген *CDKN2A* является регулятором деления клеток, кодирует два разных белка: INK4A (p16^{INK4A}) и ARF (p14^{ARF} у человека) [19]. Утрата функции INK4A приводит к нарушению регуляции клеточного цикла [9]. Мутации зародышевой линии в p16^{INK4A} обуславливают семейную предрасположенность к меланоме [5]. Поскольку мутантный белок BRAF индуцирует старение клеток за счет повышения экспрессии гена

CDKN2A, в связи с этим мутации гена *CDKN2A* также наблюдаются в случае трансформации невуса в меланому [8].

Таким образом, между генами, ассоциированными с невусом и меланомой, а также между фенотипическими и клеточными особенностями невусов и меланомы проявляются выраженные корреляции [2]. Исходя из выше сказанного и меланома и невусы генетически многолики, в связи с этим для эффективного мониторинга и ранней диагностики меланомы необходим одномоментный мультиплексный скрининг по всем основным драйверным мутациям.

В связи с этим целью нашей работы являлось выявление мутаций генов *BRAF*, *NRAS* и *CDKN2A* пациентов с гистологическим заключением внутридермальный невус кожи.

Материалы и методы. Источником ДНК для молекулярно-генетического анализа на наличие мутаций генов *BRAF*, *NRAS* и *CDKN2A* служили парафиновые срезы с FFPE-блоков 22 пациентов с гистологическим заключением внутридермальный невус кожи (ВДН) (*intradermal naevus cutis*) топологически различных участков тела, разного пола и возраста. ДНК выделяли с помощью коммерческого набора «ExtractDNA FFPE» (Евроген, Россия), согласно инструкции производителя. Анализ мутаций выполняли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами (табл. 1) к «горячим точкам» генов *BRAF*, *NRAS* и *CDKN2A* (табл. 1) с последующим секвенированием по методу Сенгера.

Секвенирующая амплификация проводилась по стандартному протоколу для набора BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, США), по следующей программе: первичная денатурация при 95°C – 5 минут и 35 циклов в режиме: денатурация – 95°C – 20 сек., отжиг – 62°C – 20 сек., синтез при 72°C – 1 мин.

Прямое секвенирование исследуемых ампликонов по методу Сэнгера проводили с использованием генетического анализатора ABI 3500 Series Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Перевод хроматограмм и обработка результатов секвенирования по Сэнгеру в нуклеотидную последовательность осуществлялся в программе UGENE (Unipro, Russia) с помощью функции выравнивания прочтений на референсную последовательность с корректировкой результатов вручную.

Таблица 1

Ген	Мутация	Праймеры	Длина продукта, пн
<i>BRAF</i>	p.V600E (c.1799T>A)	прямой: ctagtaactcagcagcatctcagg обратный: gaaagcatctcacctcatcctaacac	434
<i>NRAS</i>	p.Q61H (c.183R>Y)	прямой: aagctctatcttccttagtgtgg обратный: gacaaccagataggcagaaatgg	409
	p.Q61R (c.182A>G); p.Q61L (c.182A>T)		
	p.Q61K (c.181C>A)		
<i>CDKN2A</i>	p.P114L (c.341C>T)	прямой tgctggaaaatgaatgctctgagc обратный: atgtagggtacttagacacctgg	403
	p.W110* (c.330G>A)		
	p.W110* (c.329G>A)		
	p.R80* (c.238C>T)		
	p.R58* (c.172C>T)		
	p.Q50* (c.148C>T)		
p.P48L (c.143C>T)	прямой ctcattcctctcttgcttcc обратный: agcaccggaggaagaagaggag	466	

Результаты и их обсуждение. При микроскопировании гистологических препаратов невусов кожи, окрашенных гематоксилин-эозином отмечено: у 9-ти из 22-х пациентов невоидные клетки с выраженным пигментным компонентом (ПК), что составляет 40,9% (рис. 3) от общей выборки.

От общей выборки пациенты женского пола составляли большую часть (табл. 2). В зависимости от возраста выделили 4 группы – 18–30 лет, 31–45 лет, 46–60 лет и более 61 года (рис. 2). Образования преимущественно располагались на туловище, то есть на участках кожи не подверженных постоянному солнечному излучению, реже – на лице, и в меньшей степени – в области верхней и нижней конечности (табл. 3). Относительно локализации невусов в литературных источниках приводятся различные данные, так, например, Prata A. Y в своей работе отмечает, что чаще всего невусы локализуются на лице и волосистой части головы, теле, конечностях и некоторых областях, часто подвергающихся воздействию солнечных лучей [11].

Таблица 2

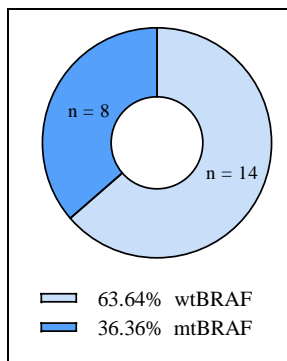
Пол пациентов (n = 22)

Пол	Характеристика	Кол-во – n пациентов, %
	женский	17 (77,3)
мужской	5 (22,7)	

Локализация невусов (n = 22)

Характеристика		Кол-во – n пациентов, %
Локализация новообразований	лицо	5 (22,7)
	туловище	14 (63,6)
	верхняя и нижняя конечности	3 (13,7)

Молекулярно-генетические исследования мутаций анализируемых генов показали – мутация гена $BRAF^{V600E}$ выявлена у 8 пациентов, у остальных пациентов данный вид мутации не обнаружен (рис. 1).

Рис. 1. Частота мутации (%) $BRAF^{V600E}$ в исследуемой группе

По возрастным группам встречаемость мутаций генов $NRAS$ и $CDKN2A$ не выявлена, тогда как мутация $BRAF^{V600E}$ у пациентов в возрастной группе 31–45 лет встречается выше в сравнении с другими возрастными группами. Из 11 пациентов данной возрастной группы у 4 обнаружена мутация $BRAF^{V600E}$. Группа 18–30 лет включала 6 пациентов, из которых только в одном случае была обнаружена мутация (рис. 2).

Частота встречаемости мутации $BRAF^{V600E}$ по гендерному признаку характеризуется отсутствием явных отличий (табл. 4).

В зависимости от локализации новообразования, $BRAF^{V600E}$ чаще всего обнаруживается в новообразованиях на участках кожи не подверженных хронической солнечной инсоляцией (область спины, живота и т. д.) (табл. 5).

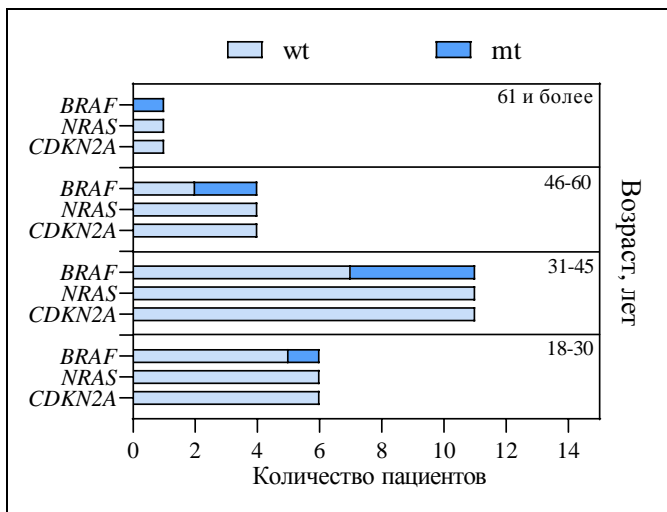


Рис. 2. Результаты молекулярно-генетического анализа мутаций в генах *BRAF*, *NRAS* и *CDKN2A* в разных возрастных группах

Таблица 4

Количество пациентов с мутацией <i>BRAF</i> ^{V600E}		
Характеристика	Кол-во – n пациентов с мутацией <i>BRAF</i> ^{V600E} , %	
Пол	женский	6 (35,3)
	мужской	2 (40,0)

Таблица 5

Количество пациентов с мутацией *BRAF*^{V600E} в соответствии с локализацией новообразования

Характеристика	Кол-во – n пациентов с мутацией <i>BRAF</i> ^{V600E} , %	
Локализация новообразования	лицо	1 (20,0)
	туловище	6 (42,8)
	верхняя (нижняя) конечность	1 (33,3)

Полученные нами данные согласуются с работами других авторов. Так, в работе Shitara D. [16] было показано, что трансформация невусов в меланому чаще всего происходит на коже не подверженной хронической солнечной инсоляции (без CSD) у относительно молодых пациентов. При этом меланомы, которые развиваются на коже с CSD (например, на голове и шее), лишь изредка связаны с невусами [14]. Bastian и его коллеги предположи-

ли [2], что меланомы, возникающие на коже с CSD и без CSD, действительно принципиально генетически различаются. Меланомы без CSD имеют больше мутаций $BRAF^{V600E}$.

Во ВДН с ПК в 4 из 9 случаях обнаружена мутация $BRAF^{V600E}$. Так же в 4 из 13 случаях мутация обнаружена в образцах ВДН без ПК. Мутации генов $NRAS$ и $CDKN2A$ в представленных образцах не выявлены. Все генотипы по основным «горячим точкам» – дикого типа (WT) (рис. 3).

Полученные данные о частоте встречаемости мутации $BRAF^{V600E}$ изученных ВДН согласуется с гипотезой о том, что эта мутация может быть ранним событием в меланоцитарном онкогенезе, даже если одной ее недостаточно для прогрессирования до меланомы [15]. Поскольку в остальных образцах мутации не выявлены по всем трем генам, в дальнейшем планируется провести дополнительное исследование на наличие мутации в генах $NF1$, $c-Kit$, $MC1R$, $MIFT$, на примере большей выборки с целью определения механизмов онкогенеза меланомы по неус-ассициированному пути, в связи с тем, что с возрастом обычные невусы могут формировать клинически выраженные формы в условиях дополнительного мутационно-направленного роста.

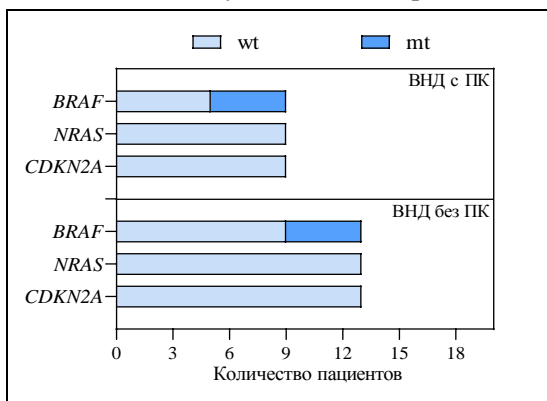


Рис. 3. Результаты молекулярно-генетического анализа мутаций в генах $BRAF$, $NRAS$ и $CDKN2A$ в группах ВДМ с ПК и без ПК

Список литературы

1. Соколикova В.Б., Ю.В. Можинская, Е.М. Непомнящая и др. Отличительные морфологические и молекулярно-генетические особенности меланомы кожи и диспластических невусов // Молодой ученый. – 2016. – №15.2 (119.2). – С. 5–37.

2. Bastian B.C. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia // Annual review of the Pathology. – 2014. – V. 9:239 – P. 71.
3. Clark W.H., Elder D.E., Guerry D., Epstein M.N., Greene M.H., Van Horn M. A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma // Human Pathology. – 1984. – V. 15 (12). – P. 1147–1165.
4. Damsky W.E., Bosenberg M. Melanocytic nevi and melanoma: unraveling a complex relationship // Oncogene. – 2017. – 36 (42). – P. 5771–16. – DOI 10.1038/nc.2017.189. – EDN YKCYLL
5. Gray-Schopfer V.C., Chong H., Chow J., Moss T., Abdel-Malek Z.A., Marais R., Wynford-Thomas D., Bennett D.C., et al. Cellular senescence in naevi and immortalisation in melanoma: a role for p16? // British journal of cancer. – 2006. – 95 (4). – P. 496–505. – DOI 10.1038/sj.bjc.6603283. – EDN KYNMOF
6. Haenssle H.A., Mograby A., Ngassa A. et al. Association of patient risk factors and frequency of nevus-associated cutaneous melanomas // JAMA Dermatology. – 2016. – v. 152 (3). – P. 291–298.
7. Kelleher F.C., McArthur G.A. Targeting NRAS in melanoma // Canc J. – 2012. – 18 (2). – P. 132–136.
8. Mackiewicz-Wysocka M. Oncogenic BRAF mutations and p16 expression in melanocytic nevi and melanoma in the Polish population // Advances in Dermatology and Allergology. – 2017. – V. 34 (5) – P. 490–498.
9. Mohammadpour A., Derakhshan M., Darabi H., et al. Melanoma: where we are and where we go // J Cell Phys. – 2019. – V. 234 (4). – P. 3307–3320.
10. Malladi N.S., Chikhalkar S.B., et al. A descriptive observational study on clinical and dermoscopic features of benign melanocytic neoplasms // Indian J Dermatol Venereol Leprol. – 2020 – 86 (3). – P. 251–261.
11. Pratama A.Y. Description and Histopathology Type of Pigmentosus Nevus in Dustira Hospital and Cibabat Hospital Cimahi // Conference: 12th Annual Scientific Meeting, Medical Faculty, Universitas Jenderal Achmad Yani, International Symposium on «Emergency Preparedness and Disaster Response during COVID 19 Pandemic». – 2021. – vol. 37. – P. 193–196.
12. Schadendorf D., et al. Melanoma // The Lancet. – 2018. – vol. 392, no. 10151. – pp. 971–984.
13. Shain A.H., Yeh I., Kovalyshyn I., et al. The genetic evolution of melanoma from precursor lesions // The New England Journal of Medicine. – 2015. – 373 (20). – P. 1926–1936.
14. Shain A.H., Bastian B.C. From melanocytes to melanomas // Nature reviews Cancer. – 2016. – 16. – P. 345–58.
15. Shitara D., Tell-Marti G., Badenas C., et al. Mutational status of naevus-associated melanomas // Br. J. Dermatol. – 2015. – 173 (3). – P. 671–680.
16. Shitara D., Nascimento M.M., Puig S., et al. Nevus-associated melanomas: clinicopathologic features // Am J Clin Pathol. – 2014. – 142. – P. 485–491.
17. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics // Canc J Clin – 2020. – v. 70 (1). P. 7–30.
18. Tan J.M., Tom L.N., Jagirdar K., et al. The BRAF and NRAS mutation prevalence in dermoscopic subtypes of acquired naevi reveals constitutive mitogen-activated protein kinase pathway activation // British Journal of Dermatology. – 2018. – 178. – P. 191–7.
19. Wei Han. Identification, Validation, and Functional Annotations of Genome-Wide Profile Variation between Melanocytic Nevus and Malignant Melanoma / Wei Han, W.-H. Xu, J.-X. Wang et al. // BioMed Research International. – 2020. – 1840415.
20. Whiteman D.C., et al. Melanocytic nevi, solar keratoses, and divergent path-ways to cutaneous melanoma // Jour Nation Canc Inst. – 2003. – 95. – P. 806–812.
21. Yeh I., von Deimling B.C. Clonal BRAF mutations in melanocytic nevi and initiating role of BRAF in melanocytic neoplasia // Jour Nation Canc Inst. – 2013. – 105.–P. 917–919.

Насыров Тимур Радикович

студент

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
г. Казань, Республика Татарстан

Давидюк Юрий Николаевич

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник
Научно-клинический центр прецизионной и регенеративной медицины
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
г. Казань, Республика Татарстан
ведущий научный сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-106792

АНАЛИЗ ГЕНОМА ШТАММОВ PUUMALA ORTHOHANTAVIRUS, ВЫЯВЛЕННЫХ В БАВЛИН- СКОМ РАЙОНЕ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Аннотация: в статье проведён сравнительный и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей S- и M-сегментов штаммов *Puumala orthohantavirus* из Бавлинского района Республики Татарстан. Установлено, что исследованные штаммы не имеют близкого родства с другими штаммами из Закамья Татарстана и, вероятно, могут относиться к отдельной группе штаммов, циркулирующих в бассейне реки Ик.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, *Puumala orthohantavirus*, S-сегмент, M-сегмент, вариабельность генома.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПСАЛ-2030).

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – наиболее распространенное природно-очаговое заболевание в Российской Федерации, представляющее серьезную проблему в отношении санитарно-эпидемиологического благополучия населения [11]. Возбудителями ГЛПС являются представители семейства *Hantaviridae*, рода *Orthohantavirus*, резервуарами – различные мелкие млекопитающие, преимущественно грызуны. В России возбудителями ГЛПС в западной части страны являются ортохан-

тавирусы *Dobrava-Belgrade* (DOBV) и *Puumala* (PUUV), в восточной – *Seoul* (SEOV) и *Hantaan* (HNTV) [10]. В период с 1978 по 2022 гг в России было зарегистрировано 292079 случаев заболевания ГЛПС, более 98% из них – в европейской части страны. В течение всего периода наблюдений за ГЛПС, как правило, более 80% случаев заболевания приходится на Приволжский федеральный округ (ПФО). Так, в 2022 г в России было зарегистрировано 6952 случая заболевания, 6176 из них – на территории ПФО. Основным возбудителем ГЛПС в ПФО является PUUV, природным резервуаром для которого служит рыжая полёвка *Myodes glareolus* [11].

Генетический материал ортохантавирусов представлен тремя сегментами одноцепочечной антисмысловой РНК: малым – Small (S), средним – Medium (M), большим – Large (L), кодирующими нуклеокапсидный белок N, полипептид GPC (прекурсор поверхностных гликопротеинов G_n и G_c) и РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp), соответственно [9].

В настоящее время в виде PUUV различают 8 генетических линий. В генетических линиях вируса также наблюдается большое разнообразие вариантов генома. В России распространены представители двух линий: штаммы финской линии (FIN) распространены на территориях Карелии и Западной Сибири, штаммы русской линии (RUS) циркулируют на большей части территории европейской части России, в том числе в ПФО [5; 7]. Для линии RUS на данный момент определены последовательности участков генома штаммов PUUV из ряда субъектов ПФО [3; 4; 6; 7; 12], Республики Башкортостан (РБ) [7], Курской области [1]. Целью данной работы были выявление штаммов PUUV из Бавлинского района, находящегося в юго-восточной части Закамья и граничащего с РБ, выявление и анализ нуклеотидных последовательностей (НП) их S- и M-сегментов.

Замороженные образцы лёгочной ткани *Myodes glareolus*, пойманных в Бавлинском районе в 2020 году, были получены из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)». Для выделения общей РНК из лёгочной ткани был использован реагент «ExtractRNA» (Евроген, Россия). Синтез кДНК проводили с использованием обратной транскриптазы «RNAscribe RT»

(Биолабмикс, Россия). Для проведения ПЦР использовали реакционную смесь «5× ScreenMix» (Евроген, Россия), последовательно использованных праймеров приведены в [3]. Полученные ПЦР продукты секвенировали по Сэнгеру в Междисциплинарном центре коллективного пользования КФУ. Для выравнивания НП и построения филогенетических деревьев использовалась программа MEGA v6.0 [8]. Для сравнительного и филогенетического анализа в качестве референсных использовали НП S- и M-сегментов и аминокислотные последовательности (АП) кодируемых полипептидов штаммов PUUV, принадлежащих к разным генетическим линиям и размещенные в электронной базе данных GenBank. При построении филогенетических деревьев применяли метод Maximum Likelihood и модель Tamura-Nei из программы MEGA v6.0 [8]. НП *Tula orthohantavirus* использовали в качестве внешней группы.

РНК ортохантавируса *Puumala* была выявлена в трёх образцах (MG2060, MG2061 и MG2066) лёгочной ткани рыжих полёвок, пойманных поблизости от с. Александровка, Бавлинского района. Для этих образцов были получены НП полной кодирующей области (CDS) S-сегмента длиной 1302 нуклеотида и участков CDS M-сегмента.

В результате сравнительного анализа НП полной CDS S-сегмента исследованных штаммов было установлено, что они идентичны на 100%. При сравнении их с НП S-сегмента штаммов PUUV генетической линии RUS из ряда регионов европейской части России значения идентичности находились в интервале от 88,4% до 95,5% (табл. 1). Значения идентичности НП при сравнении со штаммами, относящимися к финской (FIN), центрально-европейской (CE) и северно-скандинавской (N-SCA) генетическим линиям вируса, были заметно ниже: от 82,6% до 86,4% (табл. 1). Таким образом, выявленные штаммы из Бавлинского района относятся к генетической линии RUS.

Значения идентичности АП белка N были относительно выше и находились в интервалах 98,4–99,5% при сравнении со штаммами генетической линии RUS и 96,1–97,7% при сравнении со штаммами, относящимися к генетическим линиям FIN, CE, N-SCA (табл. 1). В АП белка N образцов из Бавлинского района были обнаружены две уникальные замены аминокислотного остатка

Thr5Ala и Val34Met, произошедшие вследствие нуклеотидных замен A13G и G100A, соответственно.

Таблица 1

Значения идентичности НП полной CDS S-сегмента, участка CDS M-сегмента, АП белка N и фрагмента белка GPC исследованных штаммов из Бавлинского района и референсных штаммов разных генетических линий PUUV

	Генетическая линия PUUV								
	RUS						FIN	CE	N-SCA
	Предкамье, РТ	Западное Закамье, РТ	Восточное Закамье, РТ	Предволжье, РТ	Республика Башкортостан	Курская область			
S-сегмент									
НП	94,0–94,7	93,5–94,5	93,3–94,3	94,0	95,5	88,4	85,5–86,4	82,6–84,0	84,5
АП	98,8–99,5	99,3	98,8–99,5	99,1	98,8–99,1	98,4	96,5–97,0	96,1–97,7	96,5
M-сегмент									
НП	90,9–92,3	90,2–91,6	90,2–92,4	90,6	84,5–85,1	86,5	82,5–83,8	80,4–81,3	81
АП	97,6–98,5	97,6–98,5	97,0–98,2	98,5	95,3–96,7	97,3	95,6	90,8–92,3	91,1

Для анализа НП участка CDS M-сегмента и АП фрагмента белка GPC были использованы участки референсных штаммов и штамма MG2066 длиной 1014 нуклеотидов (поз. 1499–2512) и 338 аминокислотных остатков (поз. 487–824), соответственно. При сравнении НП участка M-сегмента штамма MG2066 со штаммами линии RUS из других регионов значения идентичности составили

84,5–92,4%, со штаммами линий FIN, CE, N-SCA – 80,4–83,8% (табл. 1).

По результатам сравнительного анализа АП фрагмента белка GPC штамма MG2066 значения идентичности составили: 95,3–98,5% при сравнении со штаммами генетической линии RUS и 90,8–95,6% при сравнении со штаммами генетических линий FIN, CE, N-SCA (табл. 1). В АП участка белка GPC исследованного образца были обнаружены пять уникальных замен аминокислотных остатков: Met495Thr, Arg634Lys, Ala665Ser, Ser692Cys и Trp732Gly, произошедших вследствие нуклеотидных замен T1524C, C1940A+G1941A, G2033T, C2115G и T2234G, соответственно.

На филогенетическом дереве, построенном на основе НП полной CDS S-сегмента, исследованные штаммы не образуют общую субкладу с географически близкорасположенными штаммами из РТ (рис. 1). Они расположены вблизи ветки штаммов из РБ, образуя с ними субкладу «S1», что может свидетельствовать о возможном близком родстве этих штаммов. Филогенетическое дерево, построенное на основе НП участка CDS M-сегмента, топологически похоже на дерево S-сегмента (рис. 1). Однако штамм MG2066 из Бавлинского района не образует общую субкладу с географически близкорасположенными штаммами из РТ, а также не группируется со штаммами из РБ, что свидетельствует о меньшем родстве их M-сегмента по сравнению с S-сегментом. В то же время на дереве M-сегмента штамм MG2066 выглядит более близкородственным к штаммам из Зеленодольского (MG118) и Высокогорского (MG066) районов Предкамья РТ. Можно предположить, что разное положение ветки штаммов из Бавлинского района на филогенетических деревьях является признаком гибридного, в том числе реассортантного, происхождения их геномов.

Таким образом, в результате анализа НП и АП установлено, что исследованные штаммы PUUV из Бавлинского района не находятся в близком родстве с географически близкорасположенными штаммами из восточного Закамья РТ. Подобное несоответствие генетической дистанции между штаммами PUUV и географического расстояния между территориями их распространения может являться результатом разнонаправленных миграционных потоков рижей полёвки в постледниковый период. Согласно со-

временной точке зрения, такие миграции происходили в общем направлении юг – север из приазовского рефугиума [2; 5] и юго-восток – северо-запад из южноуральского рефугиума [2]. В предложенной недавно гипотезе предполагается, что основные миграционные потоки проходили по долинам рек, а водоразделы служили препятствиями для миграций рыжих полёвок, что привело к географической и генетической изоляции штаммов PUUV из популяций рыжей полёвки, локализованных в долинах разных рек [4].

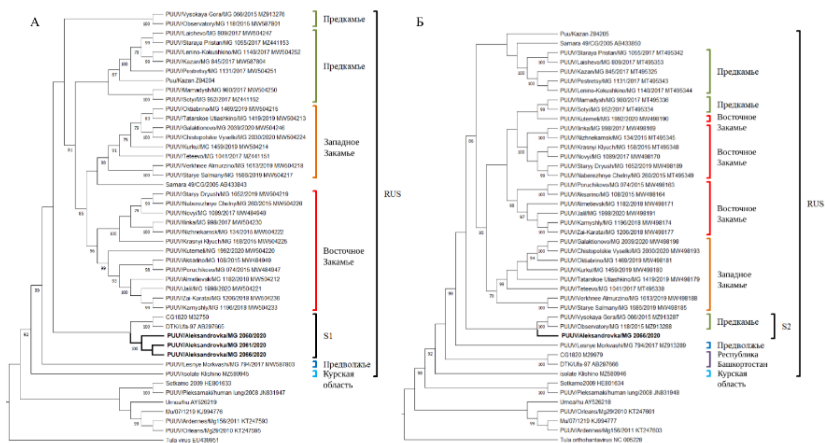


Рис. 1. Филогенетические деревья, построенные для: А – НП полной CDS S-сегмента PUUV; Б – участка CDS M-сегмента PUUV. Исследованные штаммы выделены жирным шрифтом

Так, с. Александровка, вблизи которого выявлены исследованные штаммы PUUV, находится в берегах р. Александровка, относящейся к бассейну реки Ик, в то время, как районы распространения референсных штаммов из Закавказья расположены в долинах других рек. Если миграция рыжей полёвки в район с. Александровка произошла вверх по течению р. Ик и её притоков, то разделение миграционных потоков произошло достаточно давно, что могло привести к формированию ряда близкородственных генетических вариантов PUUV в бассейне р. Ик. В пользу предположения о возможной длительной независимой эволюции группы штаммов PUUV в бассейне р. Ик также свидетельствует наличие уникальных замен аминокислотных остатков у штаммов из Бав-

линского района: двух в АП белка N и пяти в АП участка белка GPC.

Таким образом было установлено, что штаммы PUUV, циркулирующие в популяции рыжей полёвки поблизости от с. Александровка Бавлинского района, относятся к генетической линии RUS. Они также не являются близкородственными штаммам, распространенным в исследованных в настоящее время районах Закамья РТ, и, вероятно, могут относиться к генетически отличающейся группе штаммов, циркулирующих на территориях бассейна р. Ик.

Список литературы

1. Blinova E. A fatal case of haemorrhagic fever with renal syndrome in Kursk Region, Russia, caused by a novel Puumala virus clade / E. Blinova, A. Deviatkin, S. Kurashova [et al.] // Journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases. – 2022. – Vol. 102. – Art. 105295
2. Castel G. Phylogeography of Puumala orthohantavirus in Europe / G. Castel, F. Chevenet, M. Razzauti, [et al.] // Viruses. – 2019. – Vol. 11. – Art. 679.
3. Davidyuk Y. Prevalence of the Puumala orthohantavirus Strains in the Pre-Kama Area of the Republic of Tatarstan, Russia / Y. Davidyuk, A. Shamsutdinov, E. Kabwe [et al.] // Pathogenes. – 2020. – Vol. 9. – Art. 540
4. Davidyuk Y. The Distribution of Puumala orthohantavirus Genome Variants Correlates with the Regional Landscapes in the Trans-Kama Area of the Republic of Tatarstan / Y. Davidyuk, E. Kabwe, A. Shamsutdinov [et al.] // Pathogenes. – 2021. – Vol. 10. – Art. 1169.
5. Dekonenko A. Genetic similarity of Puumala viruses found in Finland and western Siberia and of the mitochondrial DNA of their rodent hosts suggests a common evolutionary origin / A. Dekonenko, V. Yakimenko, A. Ivanov [et al.] // Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases. – 2003. – Vol. 3. – P. 245–257.
6. Kabwe E. Puumala Orthohantavirus Reassortant Genome Variants Likely Emerging in the Watershed / E. Kabwe, A.F. Shamsutdinov, S. Suleimanova [et al.] // Frontiers in bioengineering and biotechnology. – 2023. – Vol. 24. – Art. 1018.
7. Kariwa H. Epidemiological study of hantavirus infection in the Samara Region of European Russia / H. Kariwa, E. A. Tkachenko, V. G. Morozov [et al.] // The Journal of veterinary medical science. – 2009. – Vol. 71. – P. 1569–1578.
8. Tamura K. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. / K. Tamura, G. Strecher, D. Peterson [et al.] // Molecular Biology and Evolution. – 2013. – Vol. 30. – P. 2725–2729.
9. Vaheri A. Uncovering the mysteries of hantavirus infections / A. Vaheri, T. Strandin, J. Herpöjoki [et al.] // Nature reviews. Microbiology. – 2013. – Vol. 11. – P. 539–550.
10. Иванис В.А. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом -проблема здравоохранения настоящего времени / В.А. Иванис, А.Ф. Попов, Г.С. Томилка, В.А. Фигурнов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2015. -Vol. 1. – P. 21–25.
11. Савицкая Т.А. Анализ эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. / Т.А. Савицкая, А.В. Иванова, Г.Ш. Исаева [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2023 – Vol. 1. – P. 85–95.
12. Яшина Л.Н. Возбудитель вспышки ГЛПС в Саратовской области, 2019 г. / Л.Н. Яшина, Т.В. Трегубчак, Б.С. Мальшев [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2021. – Vol. 4. – P. 150–156.

Рашитова Софья Денисовна¹

бакалавр, лаборант-исследователь

Куницына Анастасия Владимировна¹

научный сотрудник, ассистент

Фирсова Наталья Викторовна¹

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

Ленгесова Наталья Анатольевна¹

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник

Якунин Семён Викторович²

бакалавр

Антонова Елена Ивановна¹

д-р биол. наук, профессор, директор

¹Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных

проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

²ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-107055

ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ УФ ОБЛУЧЕНИЯ

Аннотация: после ультрафиолетового облучения клеточных культур клеток кожи человека (меланоциты, фибробласты), в сравнении с контролем, нами был зафиксирован высокий уровень хромосомных аббераций. Среди числовых и структурных нарушений – делеции, инверсии, моносомии и трисомии: моносомия по 8, 12, 18, 19 хромосоме; в том числе делеция длинного плеча 4 хромосомы (*del4q*); трисомия 6 и 16 хромосомы; инверсия хромосомы 9 и 4 (*inv9p*; *inv4q*).

Ключевые слова: меланома, клеточные линии клеток кожи человека, цитогенетический анализ, УФ-облучение, хромосомные абберации.

Для изучения онкогенеза меланомы клеточная культура меланоцитов используется в качестве модельной системы после воздействия ультрафиолета и других экстремальных факторов с целью изучения генетической нестабильности и канцерогенного потенциала [1; 3; 8]. Использование клеточной культуры снимает как множество этических проблем, так и трудности, связанные с использованием большого количества клинического материала [25]. В частности, эксперименты с использованием меланоцитов, выращенных в культуре, особенно актуально для изучения генетики и механизмов пигментных нарушений [18; 24]. Ряд сигналь-

ных путей, регулирующих пролиферацию, клеточное старение и апоптоз, подвержен влиянию общих генетических изменений при меланоме [10].

При оценке генетической нестабильности популяции на хромосомном уровне используют метод кариотипирования [6]. Цитогенетический метод известен уже более 100 лет и по сей день остается одним из наиболее востребованных лабораторно-клинических методов оценки генома человека [4]. Преимущества цитогенетического метода в медицине неоспоримы: во-первых, выявление кариотипически аномального клона почти всегда свидетельствует о злокачественности опухоли; во-вторых, некоторые генетические аномалии характерны для определенных заболеваний, что помогает в дифференциальной диагностике; в-третьих, результаты цитогенетического анализа опухоли помогают в прогнозе, а иногда – и в выборе тактики лечения [2].

При меланоме нестабильность генома возникает преимущественно на хромосомном уровне, более чем у 95% первичных меланом показаны увеличение или потери участков хромосом. Таким образом, хромосомный анализ может оказать помощь при классификации меланоцитарных поражений, пограничных по гистологии. Этот аспект имеет большое клиническое значение, поскольку методы, применяемые при классификации таких поражений, ограничены.

Так, в частности, благодаря использованию цитогенетического анализа меланоцитов у больных меланомой отмечено 27 видов мутаций, две из которых являются строго специфичными для меланомы [7]. В настоящее время не представляет сомнений участие определенных генетических изменений в развитии и прогрессировании меланомы: это разнообразные делеции, амплификации, сверхэкспрессия генов или молчащие гены, то есть те нарушения, многие из которых могут быть обнаружены на хромосомном уровне [16].

Меланома кожи представляет собой злокачественную опухоль, которая возникает из меланоцитов или из невусов. Каждый из подтипов меланомы имеет различные характерные мутационные генетические характеристики. Поскольку геномная нестабильность является важной отличительной чертой меланомы, которая может объяснять ее большое разнообразие фенотипических изменений, механизмы геномной нестабильности представляют значительный интерес [13].

Одним из основных пусковых механизмов, лежащих в основе роста заболеваемости меланомой, считается произошедшее за последнее время по различным причинам увеличение суммарного времени воздействия ультрафиолетовой части спектра естественного солнечного света на кожу человека, не всегда подготовленную к этому генетически. Избыточная инсоляция не только приводит к повреждению кератино- и меланоцитов, но и вызывает специфическую иммуносупрессию, связанную с нарушением функции естественных клеток-киллеров, что сопровождается повышенным риском развития меланомы.

Воздействие УФ-излучения является основным фактором окружающей среды, определяющим развитие меланомы кожи, за счет накопления нерепарированных соматических мутаций ДНК [19]. Кроме того, другие факторы риска, такие как пол, индивидуальный фототип кожи, возраст и хроническое или периодическое воздействие УФ-излучения, способствуют повышению риска развития меланомы [11]. В дополнение к этому, ультрафиолетовое излучение определяет возникновение мутаций в генах-супрессорах опухолей p53, и как следствие влечет за собой нарушение процессов регуляции апоптоза и инициирование рака кожи [27]. Хотя роль УФ в меланоме была спорной в течение многих лет, клеточные линии меланомы содержали УФ-подобные мутации в регуляторе клеточного цикла *CKDN2*. Понимание причин наследственной меланомы привело к открытию роли нескольких ключевых генов, многие из которых также соматически мутированы при меланоме, включая *CDKN2A*, *TERT*, *MIF* и *PTEN* [29]. В настоящее время основными генетическими детерминантами риска являются мутации зародышевой линии в основных известных генах восприимчивости к высокому риску, *CDKN2A* и *CDK4*, а также варианты гена низкого риска *MC1R*, который является ключевым в процессе пигментации [17].

Известно, что на хромосоме 9p21 расположен наиболее часто инактивируемый ген-супрессор опухоли при меланоме – *CDKN2A*. Его инактивация может быть результатом возникающих мутаций, делеций или эпигенетических изменений, таких как гиперметилирование промотора [23]. Мутации зародышевой линии в гене-супрессоре *CDKN2A* являются наследственными генетическими факторами риска меланомы кожи. У носителей мутаций *CDKN2A* риск развития меланомы увеличивается более чем в 65

раз, а пенетрантность меланомы на протяжении жизни составляет от 60% до 90% [14; 22]. На сегодняшний день генетическое консультирование по меланоме кожи в основном сосредоточено на *CDKN2A* и *CDK4* генах. Использование данных секвенирования в клинической практике остается спорным из-за различия в оценках пенетрантности данных генов (28–91%) в зависимости от географического района, этнической принадлежности, УФ-облучения [9].

Ген *MC1R*, расположенный на хромосоме 16q24, связанный с G-белком, экспрессируется в меланоцитах и играет ключевую роль в пигментации кожи людей, проявляющих фенотип рыжих волос и повышенную предрасположенность к меланоме. Помимо своей роли в пигментации, *MC1R* все больше признается как способствующий репарации повреждений ДНК, вызванных УФ-излучением [21]. *MC1R*-зависимый ответ на УФ-излучение индуцирует множество генов, связанных с регуляцией клеточного цикла, онкогенезом [20; 26; 30]. Гиперактивация передачи сигналов по пути PI3K в первичных меланоцитах может приводить к усилению старения, при меланоме с мутациями *BRAF*^{V600E} полиморфизмы *MC1R*, могут способствовать онкогенной трансформации [12]. Для носителей мутации *CDKN2A* и *MC1R* это двойной риск развития меланомы [15].

В связи с этим целью нашей работы является оптимизация протокола получения препаратов хромосомных пластинок клеточных линий меланоцитов для изучения генетической нестабильности генома на хромосомном уровне после УФ-облучения.

Материал и методы. Для культивирования гетерогенной клеточной линии меланоцитов и фибробластов использовали экспланты кожного локуса размерами 1,0×5,0 см. Для получения культуры фрагмент измельчали и помещали в стерильные чашки Петри. Далее вносили питательную среду, состоящую из RPMI-1640 (Панеко, Россия), 10% сыворотки эмбрионов телят (HyClone, США), гентамицин (Панеко, Россия) в концентрации 100 мкг/мл. Все инкубации клеточных культур следует проводить в увлажненном инкубаторе при 37°C и 10% CO₂.

В качестве источника ультрафиолетового излучения использована лампа с мощностью 36 Вт (Thermo Scientific, США). Излучателем в этом источнике служит электрическая дуга, возникающая в парах ртути низкого давления. Она испускает линейчатый спектр в ультрафиолетовой области, более 80% энергии которого

приходится на длину волны 253,7 нм, данная длина волны по глубине воздействия соответствует влиянию на эпидермис кожи *in vivo*. УФ-облучение проводили в течение 30 сек, мощность, в пересчете на площадь облучаемой поверхности, составила 20 Дж/см². Цитогенетический анализ проводили перед посевом клеток и на 8-й день культивирования (через 1 сутки после облучения).

Цитогенетический анализ. Препараты метафазных хромосом были получены из клеточных линий 3-го пассажа, на котором отмечался высокий индекс пролиферации. Клетки инкубировали с колцемидом с конечной концентрацией 0,15 мкг/мл (Cargison scientific, Германия) в течение 80 минут при 37°C. Далее обрабатывали гипотоническим раствором 0,075м KCL и инкубировали на водяной бане при температуре +37°C. Материал фиксировали раствором 40 мл этанола 100% и 10 мл ледяной уксусной кислоты. Далее на подготовленные стекла, раскапывали суспензию фиксированных клеток. GTG-окрашивание проводилось с использованием 0,25% Трипсин-ЭДТА (ПанкЭко, Россия) с последующим окрашиванием по Романовскому-Гимзе (Biovitrum, Россия). При анализе хромосом было просмотрено не менее 20 метафазных пластинок. Хромосомы анализировались с помощью микроскопа «Axio Lab.A1» (Carl Zeiss, Германия) и программного обеспечения Ikaros Karyotyping System (Metasystems, Германия).

Результаты и обсуждение. Для успешного цитогенетического анализа хромосомных препаратов необходимо достаточное число метафазных пластинок с хорошей морфологией. Облучение 30 секунд позволило нам получить небольшое количество метафазных пластинок тем не менее с приемлемой морфологией для анализа.

После УФ-облучения клеточных культур клеток кожи человека (меланоциты, фибробласты), в сравнении с контролем, нами был зафиксирован высокий уровень хромосомных аббераций. Среди числовых и структурных нарушений – делеции, инверсии, моносомии и трисомии: моносомия по 8, 12, 18, 19 хромосоме; в том числе, делеция длинного плеча 4 хромосомы (del4q); трисомия 6 и 16 хромосомы; инверсия хромосомы 9 и 4 (inv9p; inv4q) (рис. 1).

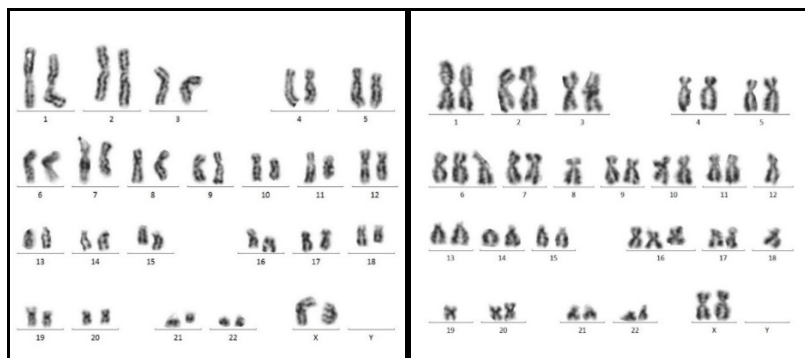


Рис. 1. Кариограмма клеток до и после УФ-облучения.

По данным литературы, малигнизированные новообразования имеют, как правило, околотрехплоидный или даже тетраплоидный набор хромосом с множественными численными и структурными повреждениями. Наиболее часто вовлекаются хромосомы 1, 6, 7, 9, 10 и 11. Делеция длинного плеча 4-ой хромосомы, отмеченная нами, согласуется с литературными данными по аналогичным исследованиям культур меланоцитов кожи [2].

Установленная нами трисомия по 6-й хромосоме (6+) коррелирует с подобными случаями обнаружения численной абберации у пациентов с гистологическим заключением меланомы и эпидермальный невус. Трисомия по 6-й хромосоме ранее не рассматривалась как изолированная находка при эпидермальных невусах, а также отмечена корреляция трисомии по хромосомам 6 и 8 с увеличением риска развития меланом. Цитогенетические исследования других авторов на культурах меланом показали, что структурные изменения хромосомы 6 играют роль в процессах метастазирования [28]. Были также проведены эксперименты по созданию гибридных клеток меланом, когда в клетки вводили одну нормальную копию хромосомы 6. Такие клетки при инъекции «nude» мышам не вызывали развитие опухоли, в то время как вновь утраченная хромосома 6 приводила к восстановлению злокачественного потенциала этих клеток.

Обнаруженная нами инверсия короткого плеча хромосомы 9 (inv9p) может являться причиной инактивации гена *CDKN2A*, расположенного в локусе 9p21. Потеря гетерозиготности в этом локусе

обнаружена не только в тканях меланомы, но и в диспластических и даже в доброкачественных невусах. Это означает, что потерю гетерозиготности в этом локусе можно выявить даже в предполагаемых предраковых очагах, то есть до появления гистологических признаков опухоли. Кроме того, мутации этого гена характерны для семейной меланомы [2]. Следует отметить, что хромосома 9 достаточно часто вовлекается в перестройки при меланомах. При этом различные структурные перестройки встречаются гораздо чаще, чем отсутствие или появление добавочной хромосомы. Имеется мнение, что делеция 9p наиболее часто появляется именно в клетках этих опухолей. В коротком плече хромосомы 9 выявляются многочисленные микроделеции и точечные мутации. Конституционные мутации *CDKN24* гена, расположенного в 9p, связаны с высоким риском развития меланомы. Возможно, что несколько генов-супрессоров опухоли, которые могут быть вовлечены в образование меланобластомы, расположены в этом участке хромосомы [5]. Многие исследователи отмечают высокий процент уменьшения копийности хромосом 9 и 10. С большой частотой оба эти нарушения встречаются как при первичной, так и при метастатической меланоме. Причем потеря в области 9p чаще наблюдается в поверхностно распространяющихся меланомах, а утрата хромосомы 10 – в узловой. Кроме того, потеря гетерозиготности 8 или более микросателлитных маркеров, расположенных на 9p, является надежным прогностическим фактором в плане появления метастазов в ближайшие 4,4–6,3 года от начала заболевания.

Трисомия по 16 хромосоме обнаруженная нами при исследовании клеточных линий после УФ-облучения, может повлиять на экспрессию гена *MC1R*, расположенного в хромосоме 16q24, но данное предположение требует гистохимического подтверждения увеличения экспрессии меланина.

Таким образом, цитогенетический анализ культивируемых клеток меланом демонстрирует значительное число хромосомных изменений, позволяющих при определенных условиях прогнозировать их метастатический потенциал. Определение генетических локусов, ответственных за развитие злокачественных опухолей, таких как меланома, - дальнейшее определение стратегии лечения.

Список литературы

1. Антонова Е.И. Клеточные линии меланоцитов и их биология при меланоме / Е.И. Антонова, С.А. Бармина, Е.С. Волкова [и др.] // Научное обозрение. – 2019. – №5. – С. 15–18.
2. Барышников А.Ю. Клеточные линии меланомы человека / А.Ю. Барышников, О.С. Бурова, Е.С. Воронина [и др.]; под общ. ред. И.Н. Михайловой, М.М. Давыдова. – СПб.: Научно-технологические технологии, 2017. – 174 с. EDN ZQJXHT
3. Верле О.В. Влияние синхронизации клеточной культуры Vero на результаты цитотоксических тестов при изучении новых лекарственных препаратов / О.В. Верле, Е.В. Зыкова, О.В. Островский, В.Е. Веровский // Вестник ВолГМУ. – 2020. – №1 (73). – С. 34–37. DOI 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-34-37. EDN TGGXUI
4. Дмитренко Д.В. Цитогенетика: клинический случай диагностики новой неклассифицируемой хромосомной мутации / Д.В. Дмитренко, Е.А. Шаповалова, Н.А. Шнайдер // Вестник Клинической больницы. – 2010. – №51 (11). – С. 51–57.
5. Колюбаева С.Н. Гетерогенность хромосомных аномалий в культивируемых клетках меланомы кожи человека / С.Н. Колюбаева, А.Б. Данилова, И.А. Балдуева [и др.] // Вопросы онкологии. – 2014. – №5 (60). – С. 596–601. EDN SXTEQJ
6. Мельникова Е.В. Современные подходы к проведению оценки качества препаратов для клеточной терапии / Е.В. Мельникова, О.В. Меркулова, О.А. Рачинская [и др.] // Биофармацевтический журнал. – 2016. – №8 (4). – С. 35–46. EDN USWJSF
7. Нероев В.В. Факторы риска экстрабульбарного роста после локального лечения увеальной меланомы / В.В. Нероев, С.В. Саакян, А.Г. Амирян [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2011. – №2 (128). – С. 68–70.
8. Сабурова И.Н. 3D культура меланоцитов как тест-система и клеточная модель для изучения патологии меланогенеза / И.Н. Сабурова, Е.В. Джусоева, А.А. Горкун [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т. 62. №4. – С. 265–268. DOI 10.25557/0031-2991.2018.04.265-268. EDN VOHDHW
9. Aspinwall L.G. Unaffected family members report improvements in daily routine sun protection 2 years following melanoma genetic testing / L.G. Aspinwall, J.M. Taber, W. Kohlmann // Genetics Medical. – 2014. – №16. – P. 846–853.
10. Bennett D.C. Genetics of melanoma progression: the rise and fall of cell senescence / D.C. Bennett // Pigment Cell Melanoma Res. – 2016. – №29 (2). – P. 122–140.
11. Bobos M. Histopathological classification and prognostic factors of melanoma: update 2021 / M. Bobos // Dermatol. Venerol. – 2021. – №156. – P. 300–321.
12. Cao J. MC1R is a potent regulator of PTEN after UV exposure in melanocytes / J. Cao, L. Wan, E. Hacker, et al. // Molecular cell. – 2013. – vol. 51 (4). – P. 409–422.
13. Cherepakhin O.S. Genomic and transcriptomic underpinnings of melanoma genesis, progression, and metastasis / O.S. Cherepakhin, Z.B. Argenyi, A.S. Moshiri // Cancers (Basel). – 2021. – 14 (1) 123. doi: 10.3390/cancers14010123. EDN WDCEWA

14. Demenais F. Association of MC1R variants and host phenotypes with melanoma risk in CDKN2A mutation carriers: a GenoMEL study / F. Demenais, H. Mohammadi, V. Chaudru [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2010. – 102 (20). P. 1568–1583. DOI 10.1093/jnci/djq363.
15. Fargnoli M. MC1R variants increase melanoma risk in families with CDKN2A mutations: a meta-analysis / M. Fargnoli, S. Gandini, K. Peris, et al. // *Eur.J. Cancer.* – 2010. – №46. – P. 1413–1420.
16. Gerami P. A highly specific and discriminatory FISH assay for distinguishing between benign and malignant melanocytic neoplasms / P. Gerami, G. Li, B. Blondin [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2012. – Vol. 36 (6). – P. 808–817. DOI 10.1097/PAS.0b013e31824b1efd.
17. Ghiorzo P. MC1R variation and melanoma risk in relation to host/clinical and environmental factors in CDKN2A positive and negative melanoma patients / P. Ghiorzo, L. Bonelli, L. Pastorino // *Experimental dermatology.* – 2012. – №21 (9). – P. 718–720.
18. Godwin L.S. Isolation, culture, and transfection of melanocytes / L.S. Godwin, J.T. Castle, J.S. Kohli [et al.] // *Curr. Protoc. Cell Biol.* – 2014. – 63:1.8. – P. 1–20.
19. Guhan S. Melanoma genomics: a modern review of practical clinical applications / S. Guhan, N. Klebanov, H. Cao // *Dermatol.* – 2021. – 185. P. 272–281.
20. Guida S. Sporadic melanoma in Southeastern Italy: the effect of melanocortin 1 receptor polymorphism (MC1R) analysis on low-risk individuals and a report on three new variants of Arch / S. Guida, N. Bartolomeo, P.T. Zana [et al.] // *Dermatol. Res.* – 2015. – 307. – P. 495–503. DOI 10.1007/s00403-015-1552-4. EDN UTZHZN
21. Guida S. MC1R functions, expression, and implications for targeted therapy / S. Guida, G. Guida, C.R. Goding // *J. Invest. Dermatol.* – 2022. – №142 (2). – P. 293–302.
22. Helgadottir H. High risk of tobacco-related cancer in families with melanoma positive for CDKN2A mutation / H. Helgadottir, V. Höiom, G. Jönsson // *J. Med.Genet.* – 2014. – 51 (8). – P. 545–552.
23. Kreuger I. Therapeutic strategies for targeting CDKN2A loss in melanoma / I. Kreuger, R.C. Sliker, T. van Groningen, R. van Doorn // *J. Invest. Dermatol.* – 2023. – №143 (1). – P. 18–25.
24. Le L. Melanosome biogenesis in the pigmentation of mammalian skin / L. Le, J. Sires-Campos, G. Raposo [et al.] // *Integr. Comp. Biol.* – 2021. – №61 (4). – P. 1517–1545. DOI 10.1093/icb/icab078. EDN VABRYJ
25. Ly D.V. Lipid producing ciliochoroidal melanoma with expression of HMGCoA reductase / D.V. Ly, D. Wang, R. Conway [et al.] // *Ocul. Oncol. Path.* – 2020. – №6 (6). P. 416–421.
26. Manganelli M. Behind the Scenes: Using MC1R to reduce risk and prevent skin cancer genes / M. Manganelli, S. Hyde, A. Ferrite [et al.] // *Genes (Basel).* – 2021. – №12. – P. 1093.
27. Narayanan D.L. Ultraviolet radiation and skin cancer / D.L. Narayanan, R.N. Saladi, J.L. Fox // *Int. J. Dermatol.* – 2010. – 9. – P. 978–986.
28. North J.P. Assessment of copy number status of chromosome 6 and 11 by FISH provides independent prognostic information in primary melanoma / J.P. North,

J.T. Vetto, R. Murali [et al.] // Am. J. Surg. Pathol. – 2011. – Vol. 35 (8). – P. 1146–1150.

29. Reddy B. Somatic leading mutations in melanoma / B. Reddy, D.M. Miller, H. Cao // Cancer. – 2017. – №123 (S11). – P. 2104–2117.

30. Yin K. MC1R and NR4A receptors in cellular stress and DNA repair: implications for UVR protection / K. Yin, R.A. Sturm, A.G. Smith // Experim. Dermatol. – 2014. – Vol. 23 (7). – P. 449–452.

Шахматова Анна Александровна

лаборант-исследователь, бакалавр

Шитова Ирина Александровна

лаборант-исследователь, бакалавр

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор, директор

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет имени И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-107071

МИКРОБИОМ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПРИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Аннотация: статья посвящена изучению микробиома верхних дыхательных путей пациентов с острыми респираторными заболеваниями (ОРЗ). Проведена масс-спектрометрическая видовая идентификация консорциумов микроорганизмов с определением антибиотикочувствительности.

Ключевые слова: микробиом, респираторный тракт, времяпрелетная масс-спектрометрия, антибиотикочувствительность.

Микробиом человека представляет собой совокупность микроорганизмов, которые заселяют организм [4] и включает в себя микробиом дыхательной системы, пищеварительного тракта, кожи, репродуктивной системы и т. д. Благодаря появлению новых высокопроизводительных технологий на сегодняшний день проведение профилирования генома и микробиома респираторного тракта у людей с ОРЗ. Изучение взаимодействий микробиома организма человека актуально с позиции профилактики респираторных заболеваний [8]. Известно, что нормофлора верхних дыхательных путей играет важную роль в поддержании иммунного баланса респираторного тракта, обеспечивает устойчивость слизистых оболочек к более агрессивным атакам и препятствует заражению бактериями и

другими возбудителями на поверхности кожи и слизистых оболочек. Однако, большинство микроорганизмов, входящих в состав нормофлоры, могут стать причиной различных заболеваний (хронический ринит, риносинусит, отит, аденоидные вегетации, тонзиллофарингит, ларингит, бронхиальная астма) при воздействии на организм неблагоприятных факторов. Анализируя современные эпидемиологические исследования, становится ясно, что частота рецидивирующих респираторных заболеваний у людей продолжает оставаться высокой уже более 40 лет, и составляет от 10% до 50% у людей среднего возраста. На сегодняшний день, главной задачей системы здравоохранения является поиск методов метагеномного анализа, которые помогли бы управлять микробиологическими факторами в микроэкологии респираторного тракта человека [1].

Целью нашего исследования является изучить таксономию микробиоты верхних дыхательных путей у здоровых людей, а также у людей с острыми респираторными заболеваниями, с последующим определением чувствительности выделенных консорциумов к антимикробным препаратам.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

– с применением культуральных методов выделить первичные клеточные линии микроорганизмов микробиома верхних дыхательных путей человека в норме и с респираторными заболеваниями с определением доминирующих видов микроорганизмов методом времяпролетной масс-спектрометрии;

– провести конструирование микробных консорциумов с определением доминирующих видов микроорганизмов;

– определить антибиотикочувствительность консорциумов микроорганизмов у пациентов с ОРЗ в сравнении с контрольной группой.

Материалы и методы исследования. Для решения поставленных задач формировали две экспериментальные группы: 1 группа – условно здоровые люди (контроль); 2 группа – пациенты, болеющие ОРЗ.

Забор материала проводили swabами (ArexLab, Россия) в пробирку с транспортной средой STUART в период с января по март 2023 г (табл. 1).

Все работы выполнялись с соблюдением требований СанПИН и «Правил устройства, техники безопасности, производственной

санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораторных условиях» [5].

Таблица 1

Количество проб и зона забора материала для исследований

Наименование показателя и количество проб	Зона забора материала (кол-во проб)		Итого (кол-во проб)
	Мазок из носа	Мазок из зева	
1 группа			214
забор №1	6	6	
2 группа			
забор №1	8	8	
забор №2	12	12	
забор №3	11	11	
забор №4	16	16	
забор №5	19	19	
забор №6	16	16	
забор №7	19	19	

Выделение и идентификация микроорганизмов проводилась согласно общепринятым методологическим подходам [6], а также согласно рекомендациям по выделению и идентификации некоторых возбудителей изданными Международной Ассоциацией Клинической Микробиологии и Антимикробной Химиотерапии (МАКМАХ) полуавтоматическими, автоматическими и высокотехнологичными методами.

Выделение микроорганизмов проводили культуральным методом, высевая бактериологический материал на плотные питательные среды. Для первичного посева был подобран комплекс сред:

- кровяной агар – питательная среда общего назначения;
- агар Сабуро – среда для культивирования грибов;
- тиогликолевая среда – жидкая питательная среда, предназначенная для накопления биомассы микроорганизмов;
- агар Эндо – среда предназначенная для культивирования микроорганизмов группы кишечной палочки.

Культивирование проводили в термостате (LabTech, США) при температуре 37°С в течение 18 часов. Подсчет образовавшихся колоний проводился методом посева на питательные среды (чашечный метод). Расчет среднего количества микроорганизмов [2] КОЕ (N) в 1 мл проводили по формуле:

$$K = a * b * c,$$

где: K – количество микроорганизмов, в 1 г КОЕ/мл; a – среднее арифметическое число колоний в чашке; b – степень разведения; c – масса, объем, поверхность (г/мл).

Следующим этапом нашего исследования было проведение идентификации выделенных консорциумов микроорганизмов методом времяпролетной масс-спектрометрии на времяпролетном масс-спектрометре MALDI-TOF (Bruker, Германия). Проведение идентификации осуществлялось по стандартной методике компании производителя. Интерпретация результатов исследования проводилась в программе MBT Compass по полученным в ходе идентификации масс-спектрам, которые несут в себе информацию о молекулярной массе аналита и его структуре. В дальнейшем, опираясь на результаты, полученные в ходе времяпролетной масс-спектрометрии проводили повторное культивирование колоний микроорганизмов естественных консорциумов с подсадкой к ним микроорганизмов других консорциумов для конструирования консорциумов, с целью изучения взаимного влияния различных видов микроорганизмов, а также для последующего анализа антибиотикочувствительности микроорганизмов консорциумов в зависимости от видового состава.

Анализ антибиотикочувствительности выделенных консорциумов микроорганизмов диско-диффузионным методом [7].

Результаты исследования и обсуждение.

Анализ полученных данных первой группы (контроль)

По результатам данных времяпролетной масс-спектрометрии были идентифицированы следующие консорциумы микроорганизмов верхних дыхательных путей:

- 1) *Staphylococcus aureus* + *Lactobacillus sharpae*;
- 2) *Streptococcus vestibularis* + *Lactobacillus mucosae*.

В данных консорциумах доминирующими видами являлись:

- *Staphylococcus aureus* (из консорциума 1);
- *Streptococcus vestibularis* (из консорциума 2).

По результатам видовой идентификации методом времяпролетной масс-спектрометрии патогенных видов микроорганизмов не обнаружено. Среди выделенных микроорганизмов отмечен условно-патогенный вид микроорганизма – *Staphylococcus aureus*, но его содержание не превышает норму (<10 КОЕ/мл).

По результатам повторного культивирования полученных естественных консорциумов между собой с целью конструирования

ния консорциумов, а также подтверждения или опровержения доминирующей роли микроорганизмов, входящих в состав естественных консорциумов, выявлено:

– *Staphylococcus aureus* является доминирующим видом над *Lactobacillus mucosae* и *Lactobacillus sharpae*, то есть подавляет их рост;

– *Streptococcus vestibularis* является доминирующим видом над *Lactobacillus sharpae* и *Lactobacillus mucosae*, то есть подавляет их рост.

Анализ консорциумов группы пациентов второй группы

Проведя анализ 7 групп пациентов второй группы можно сделать вывод о том, что естественный консорциум в сравнении с моделями «микробиологического конструирования» всегда обладал доминирующими свойствами.

Сравнительная характеристика естественного консорциума проводилась в сравнении с 45-ю сконструированными моделями микробиома (рис. 1). Так в частности:

– *Staphylococcus epidermidis* входит в состав консорциумов: 2 и 3 (группа 1), 1, 3, 4, 5 (группа 2), 3 (группа 3), 1, 5, 7 (группа 4), 2, 3, 4 (группа 5), 2 и 7 (группа 6), 2,4 (группа 7) и составляет 30,3% от всех консорциумов микроорганизмов;

– *Staphylococcus aureus* входит в состав консорциумов: 5 (группа 1), 3 (группа 2), 3, 5, 6 (группа 4), 2 и 3 (группа 5), 3, 4, 7 (группа 6), 2,3,5 (группа 7) и составляет 26,7% от всех консорциумов;

– *Streptococcus vestibularis* входит в состав консорциумов: 2 (группа 1), 3 (группа 3), 4 и 5 (группа 5), 1 и 3 (группа 6) и составляет 10,7% от всех консорциумов микроорганизмов;

– *Streptococcus salivarius* входит в состав консорциумов: 1 (группа 2), 2 (группа 4 и 5), 6 (группа 6) и составляет 7,1% от всех консорциумов микроорганизмов;

– *Klebsiella oxytoca* входит в состав консорциумов: 1 (группа 1), консорциум 4 (группа 4), 6 и 7 (группа 7) и составляет 7,1% от всех консорциумов микроорганизмов;

– *Klebsiella pneumoniae* входит в состав консорциумов: 5 (группа 1) и 4 (группа 6) и составляет 3,5% от общего числа консорциумов микроорганизмов;

– *Rothia mucilaginosa* входит в состав консорциумов: 3 (группа 1), 4 (группа 2), 2 (группа 4), 2 и 8 (группа 6) и составляет 8,9% от общего числа микроорганизмов;

– *Neisseria subflava* входит в состав консорциумов: 4 (группа 1), 2 и 4 (группа 3), 8 (группа 7) и составляет 7,1% от общего числа микроорганизмов;

– *Neisseria flavescens* входит в состав консорциумов: 6 (группа 2), 1 и 4 (группа 3), 1 (группа 5 и 7) и составляет 8,9% от всех консорциумов микроорганизмов;

– *Neisseria mucosae* входит в состав консорциума 4 (группа 1), 1 и 8 (группа 7) и составляет 5,3% от общего числа консорциумов;

– *Klebsiella aerogenes* входит в состав консорциума 1 (группа 2), 5 (группа 6) и составляет 3,5% от общего числа микроорганизмов;

– *Haemophilus parainfluenzae* входит в состав консорциумов: 3 (группа 1), 4 (группа 3), 8 (группа 6) и составляет 5,3% от общего числа консорциумов;

– *Lactobacillus rhamnosus* входит в состав консорциумов: 6 (группа 6), 3 и 5 (группа 7) и составляет 5,3% от общего числа консорциумов;

– *Escherichia coli* входит в состав консорциумов: 5 (группа 1), 2 (группа 2) и составляет 3,5% от общего числа консорциумов.

Оставшиеся микроорганизмы, входящие в состав оставшихся 38 консорциумов представлены единичными случаями и составляют 2,1% и менее.

На основании полученных данных можно заключить, что в выделенных консорциумах микроорганизмов доминирующими видами являются:

Staphylococcus epidermidis (30,3%), *Staphylococcus aureus* (26,7%), *Streptococcus vestibularis* (10,3%);

– менее 10% составляют микроорганизмы: *Streptococcus salivarius*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Rothia mucilaginosa*, *Neisseria subflava*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria mucosae*, *Klebsiella aerogenes*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Escherichia coli*;

– оставшиеся 138 микроорганизмов входящие в состав консорциумов составляют менее 2%.

Согласно диско-диффузионному методу (рис. 2) определения антибиотикочувствительности микроорганизмов входящих в состав консорциумов, выявлена абсолютная чувствительность к антимикробным препаратам ряда фторхинолонов, оказывающим широкий спектр антимикробного действия в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, в отличие от других групп антимикробных препаратов. Именно

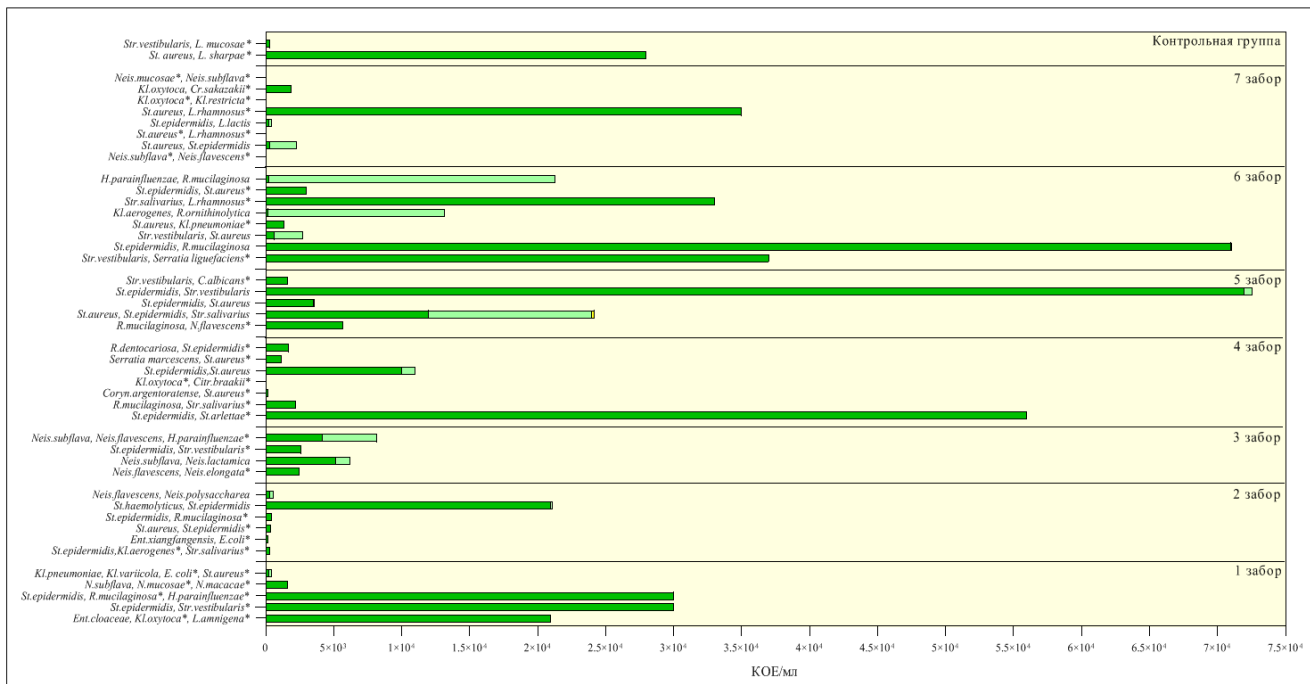


Рис. 1. Количественное соотношение и доминирующая роль отдельных микроорганизмов в естественных консорциумах

Примечание: * обозначены микроорганизмы количество колониеобразующих единиц менее 10²; Темно-зеленым цветом показаны доминирующие микроорганизмы в соответствующих естественных консорциумах; Светло-зеленым и желтым цветом показаны иные микроорганизмы, входящие в состав соответствующих естественных консорциумах.

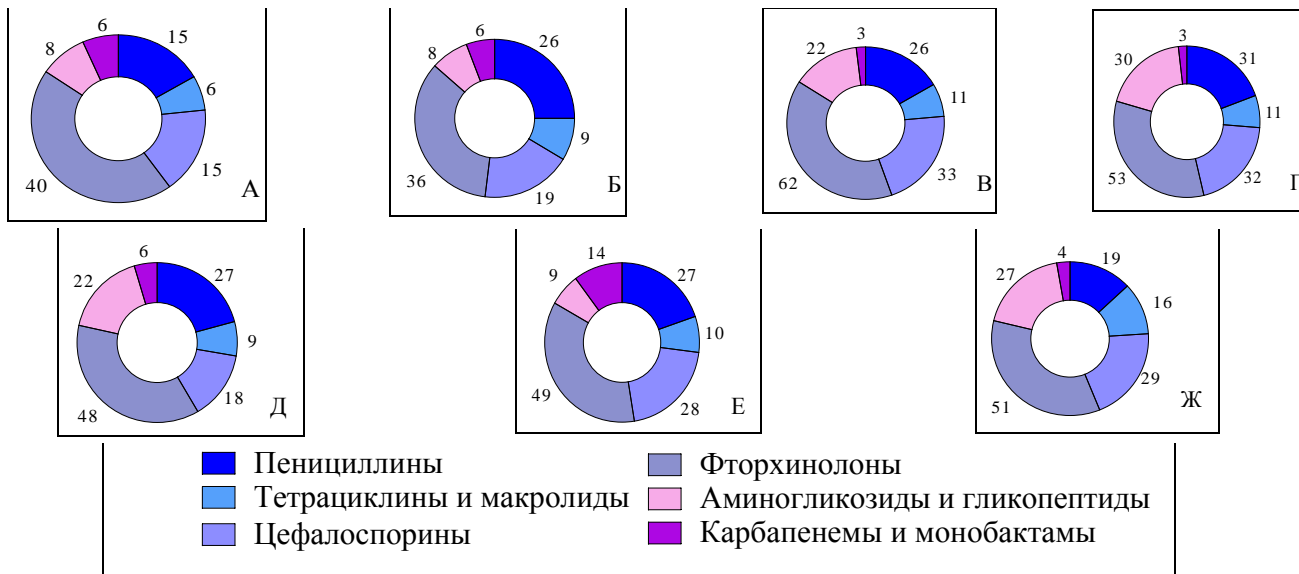


Рис. 2. Результаты антибиотикочувствительности выделенных из биологического материала (мазков из носа и зева) микроорганизмов у 7-ми групп пациентов второй группы

Примечание: А – забор №1; Б – забор №2; В – забор №3; Г – забор №4; Д – забор №5; Е – забор №6; Ж – забор №7.

поэтому, группе данных препаратов следует отдавать предпочтение в назначении лечения острых респираторных заболеваний.

Список литературы

1. Буслаев В.Ю. Анализ микробиоты лёгких и респираторного тракта человека при заболеваниях легочной системы (обзор) // Сибирский федеральный университет. Биология. – 2022. – Вып. 15 (3). – С. 396–421.

2. Красникова Л.В. Общая и пищевая микробиология. Ч. I. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://lifelib.info/>

3. Семина Н.А., Сидоренко Н.В., Резван С.П., и др. Методические рекомендации: определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания МУК 4.2.1890–04 // Клиническая микробиологическая антимикробная химиотерапия. – 2004. –Т. 6. №4. – 54 с.

4. Микробиота человеческого организма [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://servier.ru/mikrobiota-chelovecheskogo-organizma>

5. Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения с изменениями на 25 ноября 2020 года // Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/9037002>

6. Приказ об унификации микробиологических методов исследования №535 // Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/4202452931>

7. Рекомендации МАКМАХ // Российский микробиологический портал [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://microbius.ru/library/rekomendatsii-makmah-opredelenie-chuvstvitelnosti-mikroorganizmov-k-antimikrobnym-preparatam-2021-novaya-versiya-2021-01>

8. Кобзев Д.Ю., Удовиченко Е.Н., Перфилова И.А., и др. Роль микробиома дыхательных путей в респираторном здоровье / Д.Ю. Кобзев, // Лечащий врач. – 2019. –№4. – С. 1–6.

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ И БИОИНФОРМАТИКА

Федоров Даниил Александрович

аспирант

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»
г. Санкт-Петербург

DOI 10.31483/r-107114

ПРОВЕРКА ГИПОТЕЗЫ О СЛУЧАЙНОМ ХАРАКТЕРЕ УВЕЛИЧЕНИЯ С ВОЗРАСТОМ ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПА 5./5 27bp VNTR INTRON4 ГЕНА NOS3 У МУЖЧИН СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ С ПОМОЩЬЮ НЕПАРАМЕТРИЧЕСКОГО ПАРНОГО КРИТЕРИЯ ЗНАКОВЫХ РАНГОВ

Аннотация: в статье показана ассоциация генотипа 5./5 27bp VNTR intron4 гена NOS3 с долголетием у мужчин Северо-западного региона России, что опровергает предположение об отсутствии такой ассоциации [1].

Ключевые слова: генотип 5./5, NOS3 intron 4 VNTR, ген NOS3, долголетие.

Многое в сердечно-сосудистой системе человека зависит от функционирования синтазы оксида азота третьего типа (эндотелиальной NO-синтазы) NOS3 [2; 3], поэтому проверка на ассоциацию с долголетием ассоциированного (согласно выводам, сделанным в работе [8]) с различием в уровнях нитрита и нитрата (NO_x) минисателлита в интроне 4 гена NOS3 была совершенно необходима и проведена О.С. Гловым [1].

Материалы и методы исследования в работе [1] были следующие: работа была выполнена на образцах ДНК, выделенных из лейкоцитов периферической крови, с применением методов ПЦР, электрофореза в полиакриламидном геле, гидролиза ПЦР продуктов эндонуклеазами рестрикции, гетеродуплексного анализа, гибридизации на биологическом «ПФ-биочипе» с последующим

анализом результатов на биочип – анализаторе. Был проведен анализ образцов ДНК 376 человек. В исследование были взяты 3 группы. Первая группа – 109 новорожденных (НИИ АГ им. Д.О. Отта РАМН), из них 56,9% (62) девочки и 43,1% (47) мальчики; вторая группа – 119 человек в качестве популяционного контроля в возрасте 20–50 лет (точный возраст людей в этой группе указан не был), не являющиеся родственниками и проживающие в Северо-западном регионе России, из них 51,3% (61) женщины и 48,7% (58) мужчины; третья группа – 148 лиц старше 69 лет (1-й Санкт-Петербургский городской дом престарелых) несколько поколений, которых проживало в Северо-западном регионе России из них 81,1% (120) женщины и 18,9% (28) мужчины.

Результаты и обсуждение. О.С. Глотов в работе [1] пришёл к следующим заключениям: «Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена *NOS3* (полиморфный сайт в 27п.о. 4/5 в 4 интроне) между выборками новорожденных, лиц среднего возраста и лиц старше 69 лет не выявил статистически значимых различий ($p > 0.05$). Частота аллели 4, ассоциированной с сердечно-сосудистыми заболеваниями не отличалась у новорожденных (20,5%), лиц среднего возраста (20,6%), лиц старше 69 лет (18,5%). При сравнении частоты носительства аллели 4 гена *NOS3* в трех возрастных группах отмечено уменьшение частоты 4/- генотипа в ряду новорожденные – лица среднего возраста – лица старше 69 лет (39%, 38,7% и 33,8%, соответственно)» [1]. На основании вышеизложенного был сделан следующий вывод: «Учитывая отсутствие различий в распределении частот аллелей и генотипов у новорожденных, лиц среднего возраста и трех подгрупп лиц старше 69 лет, можно предположить, что изученный полиморфизм гена *NOS3*, определяющий различный уровень синтеза оксида азота не ассоциирован с долгожительством.» [1] О.С. Глотов разрешил автору данной работы провести повторный анализ использованных для написания работы [1] данных, что и было сделано в тезисах [4] и [5] и в нескольких последующих тезисах, из которых стоит отметить [6] и [7], входящие в РИНЦ. Ещё в [6] автор указывал, «что вместо критерия знаков лучше применять существенно более чувствительный критерий Уилксона», но сама процедура приведена здесь впервые. Рассмотренный здесь критерий является непараметрическим парным критерием знако-

вых рангов (рассматриваются пары значений частоты генотипа 5./5 у мужчин до достижения определённого возраста и после). Проверяется нулевая гипотеза о равенстве нулю математического ожидания сдвига частоты генотипа 5./5 с возрастом против альтернативной гипотезы «математическое ожидание сдвига частоты генотипа 5./5 с возрастом больше нуля».

Итак, всего лиц мужского пола было исследовано 133, из них 87 имели генотип 5./5, что составило 65,4%. Далее в скобках в таблице 1 приводятся изменения частоты этого генотипа у мужчин старше определённого возраста, а ранги идут отдельным столбцом.

Таблица 1

мужчин старше 20 лет было 86, из которых 60 имели генотип 5./5, что составило 69,8% (+4,4%)	6,5
мужчин старше 29 лет было 28, из которых 20 имели генотип 5./5, что составило 71,4% (+1,6%)	2
мужчин старше 30 лет было 27, из которых 20 имели генотип 5./5, что составило 74,1% (+2,7%)	3
мужчин старше 31 года было 23, из которых 18 имели генотип 5./5, что составило 78,3% (+4,2%);	5
мужчин старше 32 лет было 22, из которых 17 имели генотип 5./5, что составило 77,3% (-1,0%)	1
мужчин старше 33 лет было 17, из которых 14 имели генотип 5./5, что составило 82,4% (+5,1%)	8
мужчин старше 34 лет было 14, из которых 12 имели генотип 5./5, что составило 85,7% (+3,4%)	4
мужчин старше 35 лет было 11, из которых 10 имели генотип 5./5, что составило 90,1% (+4,4%)	6,5
8 мужчин старше 36 лет с генотипом 5./5, что составило 100,0% (+9,9%)	9

Наименьшее по модулю изменение частоты генотипа 5./5 составило 1,0% – этому изменению присваиваем ранг 1, и это единственное отрицательное изменение частоты генотипа 5./5. Таким образом, сумма рангов, приписанных уменьшению частоты генотипа 5./5 с возрастом (статистика Вилконсона, иногда в литературе называемая статистикой Манна-Уитни) будет равна 1. Сумма рангов положительных значений, соответствующих увеличению частоты генотипа 5./5 с возрастом составляет 2 + 3 + 4 + 5 + 6,5 + 2 + 8 + 9 = 44. Так как проверяется «односторонняя гипотеза» о случайном характере увеличения (но не уменьшения) частоты ге-

нотипа 5/5 с возрастом, то следует брать из статистической таблицы односторонний квартиль. Для $n = 9$ односторонний однопроцентный квартиль равен 3. 1 меньше 3, следовательно, гипотеза о случайном характере увеличения частоты генотипа 5/5 с возрастом отвергается при уровне значимости 0,01.

Список литературы

1. Глотов О.С. Анализ полиморфизма генов сердечно-сосудистой системы и системы детоксикации в различных возрастных группах Санкт-Петербурга: специальность 03.00.15: дис. ... канд. биол. наук / Глотов Олег Сергеевич. – СПб., 2007. – 188 с. – EDN NOUQDN.
2. Дударь А.И. Открытие и исследования оксида азота в биологических системах: ретроспективный анализ / А.И. Дударь // Наука. Мысль. – 2015. – Т. 5. №6. – С. 8–13.
3. Кулева Н.В. Значение различных путей генерации оксида азота в кровеносных сосудах млекопитающих при старении / Н.В. Кулева, Д.А. Федоров, И.Е. Красовская // Цитология. – 2018. – Т. 60. №1. – С. 5–13. – DOI 10.31116/tsitol.2018.01.01. – EDN YMYTMK.
4. Федоров Д.А. Простой метод поиска генотипов ассоциированных с долголетием // Биология – наука XXI века: 17-я международная Пушинская школа-конференция молодых ученых. Сборник тезисов (Пушино, 21–26 апреля 2013). – С. 80–81. – <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29178.54721>
5. Федоров Д.А. NOS 3 как «ген дожития» мужчин северо-запада России / Д.А. Федоров // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2013. – №12–3. – С. 81–83.
6. Федоров Д.А. Элементы возможной методики статистической обработки экспериментальных данных при поиске генотипов ассоциированных с долголетием / Д.А. Федоров // В мире научных открытий. – 2015. – №12–1 (72). – С. 274–283. – EDN VHAVZF.
7. Федоров Д.А. Борьба с ложноотрицательными результатами при поиске генотипов, ассоциированных с долголетием (на примере NOS3-intron-4-VNTR) / Д.А. Федоров // Гены и Клетки. – 2020. – Т. 15. № S3. – С. 151. – EDN EMPKFJ.
8. Wang XL, et al. Genetic contribution of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Nov; 17 (11): 3147–53. doi: 10.1161/01.atv.17.11.3147.

Hussein Abobakr Mohamed Abbakar

graduate student, senior lecturer
Bauman Moscow State Technical University
Moscow

OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECT SEMEN QUALITY: HOW EXPOSURE TO ME- CHANICAL VIBERATION IMPACTS REPRODUCTIVE INDICES

***Abstract:** it is well known that sperm is a unique cell with a function to be done by itself outside the body and this function is second to none for species' continuity. The sperm mission of reaching the ova and is affected by both chemical and physical factors influence its ability to survive, move and fertilize the ova. Vibration as an environmental external physical stressor that affect semen viscosity and accordingly semen velocity, is reported to be prevalent among drivers occupied in industrial jobs whose inability to produce natural sperm compared to other occupation will be reviewed in this paper. We will also review the effects of mechanical vibrations with a special attention to shaking semen samples in assisted reproductive technologies in vitro. The effects of whole body exposure to vibrations on reproductive indices will also be investigated.*

***Keywords:** whole body vibration, sperm motility, car drivers, sperm activation in vitro, environmental factors.*

Хуссейн Абобакр Мохамед Аббакар

аспирант, старший преподаватель
ФГБОУ ВО «Московский государственный
технический университет им. Н.Э. Баумана»
г. Москва

д-р техн. наук, научный сотрудник
Научно-исследовательский институт машиностроения
Российской академии наук (математика)

DOI 10.31483/r-106760

ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ И ФАКТОРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ВЛИЯЮТ НА КАЧЕСТВО СПЕРМЫ: КАК ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ВИБРАЦИИ ВЛИЯЕТ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

***Аннотация:** хорошо известно, что сперматозоид – это уникальная клетка, функционирующая самостоятельно вне организма, и эта функция – для продолжения рода - не имеет себе равных. Задача сперматозоида – достичь яйцеклетки, и на его способность выживать, перемещаться и оплодотворять яйцеклетку влияют как химические, так и физические*

*факторы. Сообщается, что вибрация как внешний физический стрессор окружающей среды, влияющий на вязкость спермы и, соответственно, на скорость сперматозоидов, распространена среди водителей, занятых на промышленных работах, чья неспособность производить сперму по сравнению с другими видами деятельности будет рассмотрена в статье. Рассмотрено воздействие механических вибраций, уделив особое внимание встряхиванию образцов спермы при вспомогательных репродуктивных технологиях *in vitro*, а также исследовано влияние воздействия вибраций на репродуктивные показатели всего тела.*

Ключевые слова: *вибрация всего тела, подвижность сперматозоидов, водители автомобилей, активация сперматозоидов в пробирке, факторы окружающей среды.*

1. Introduction

According to the WHO in 2010, a normal semen analysis sample has to contain at least a volume of 2ml, with a pH above or equal to 7.2, the sperm concentration must be equal to or higher than 15 million/ml, total sperm count must be higher than 39 million per ejaculation, a minimum of 40% of which has to have movement until 1 hour after ejaculation, not less than 32% of sperm must have rapid progressive movement and 4% has to have normal morphology as per Kruger's criteria [17].

Sperm motility is an essential predictor of male fertility potential and it directly correlated with fertilization success in both natural and some types of assisted reproduction. It can however be impaired by both genetic and environmental factors.

All bodies with mass and elasticity like humans are capable of vibrating. Resonance occurs If the excitation frequency of the external vibration coincides with the natural frequency of the system [1], resulting in large oscillations within in structure creating potentially harmful stress.

Whole body vibration is used in physiotherapy to improve muscle function [3] but Continues vibration is however, uncommon force to affect semen samples *in vitro* although the human genitalia are sometimes being vibrated as a part of some types of jobs [2] or in cases of impotence due to spinal cord injury where a pineal vibrator is used to induce ejaculation [4].

Asthenospermia

Asthenozoospermia being widely spread clinical presentation is an infertility condition in which a person experiences defects in sperm motility whether it be slow, non-directed, or even immotile but viable according to severity [5] and It imposes heavy costs for infertile individuals and couples [12; 13].

ART is an important treatment of this problem by using (ISCI) or (IVF) (IUI) the outcome of which is directly affected by the sperm [6–8] Assisted reproductive techniques are likely to have a greater impact on the infertile couple [18].

Vibration has a high effect potential when it comes to the reproductive system [14, 15]. The aim of this review is to highlight the positive and negative impacts of mechanical vibration on semen quality and other reproductive indices.

2. Effect of Vibration on semen Quality

Vibration influences the body in a variety of ways. The response to a vibration exposure is primarily dependent on the frequency, amplitude, and duration of exposure besides other factors like the direction of vibration input, location and mass of different body segments, level of fatigue and presence of external support [9]. Therefore, the energy is absorbed by the tissue and organs that had medical significance when vibrations are attenuated in the body.

Sperm preparation processes in vitro include centrifugation pipette aspiration, shaking are forms of mechanical vibration

2.1. Shaking:

By using shakers for 20 minutes [1] consisting of a M540 DC motor equipped with PWM controller to control the rotational speed from 5–2400 rpm, a significant increase ($P < 0.05$) found by Saeed et al. in percentage of sperm active directed motility (grade A) with a non-significant increase in sluggish motility and a non-significant decrease in percentage of immotile sperms percentage. No significant changes were found regarding sperm morphology and count. It was concluded that vibrating seminal sample for 20min increases the overall sperms activity with significant increase in percentage of highly active directed sperms [1]. As shown in *Table 1 below*.

Altavista al (2018) in a different study found no significant change in sperm morphology and total sperm count and concluded that simple vibration of the semen sample for 20minutes increases overall sperm

activity with a considerable increase in the percentage of highly active fast progressive sperm [29].

Table 1. Certain parameters of standard seminal fluid examination before and after 20 min Vibration at 37C

Certain sperm function parameters		Before Vibration	After 20 min. Vibration	P – Value
	Count (sperm/ml)	42.82 ± 19.52	42.25 ± 19.15	P > 0.05
Motility (%)	Grade A (%)	3.37 ± 5.92	7.12 ± 9.66	P < 0.05
Motility(%)	Grade B (%)	39.12 ± 16.44	41.25 ± 16.86	P > 0.05
Motility(%)	Grade C (%)	23.37 ± 11.62	21.25 ± 11.07	P > 0.05
Motility(%)	Grade D (%)	34.37 ± 19.38	31 ± 20.19	P > 0.05
	Morphology (%)	34 ± 11.72	38.87 ± 14.60	P > 0.05

Values are expressed as Means ± SD.
Patients No. = 40.

2.2. Whole body vibration WBV

In a study conducted by Zarei et al. (2022) among taxi drivers in Tehran to determine the effect of exposure to WBV on sperm parameters. A statistically significant difference in total sperm count, progressive motility, non-progressive motility and total motility was observed between the taxi drivers and the office employees. According to the univariate analysis of variance, exposure to WBV had a decremental effect on the most of sperm parameters, but these effects were not statistically significant [18] as in *Table 2* below.

2.3. Centrifugation

Centrifugation of human spermatozoa induces sub lethal damage; separation of human spermatozoa from seminal plasma by a dextran swim-up procedure without centrifugation extends their motile lifetime [19].

Centrifuging dog sperm for 5 min at 720 x g proved to be the best strategy to remove prostatic fluid because the loss of sperm cells is acceptable and the functional parameters of the spermatozoa are well preserved, even after 3 days of storage [20].

3. Environmental factors.

It is a well documented fact that environmental pollution unfavorably impacts semen quality by impairing spermatogenesis, steroidogenesis, and sperm functions and Sertoli cell, hence leading to decreased male fertility [36; 37].

Table 2

Effect of WBV on sperm parameters

Variable		Sperm Concentration			
		P-value	95% Confidence Interval		Exp (B)
			Lower Bound	Upper Bound	
Age		0.162	-0.552	3.244	-1.346
BMI		0.758	-5.862	4.285	-0.789
Whole Body Vibration		0.249	-56.597	32.214	-49.376
Smoking Habit	Yes, Routinely	0.290	-16.597	41.652	-14.528
	No	0.835	-20.146	24.873	2.363
Physical Exercise	No Exercise/Light Activity	0.551	-50.402	27.075	-11.664
	Medium	0.721	-47.847	33.244	-7.302
Group	Taxi drivers	0.102	-103.783	9.501	-47.141
Variable		Progressive Motility			
		P-value	95% Confidence Interval		Exp (B)
			Lower Bound	Upper Bound	
Age		0.399	-0.483	0.981	-0.399
BMI		0.914	-1.456	1.624	-0.084
Whole Body Vibration		0.314	-14.620	38.853	-13.117
Smoking Habit	Yes, Routinely	0.581	-10.581	5.964	-2.308
	No	0.285	-3.185	10.688	3.751
Physical Exercise	No Exercise/Light Activity	0.197	-8.087	19.514	-7.713
	Medium	0.186	-8.047	20.585	-7.302
Group	Taxi drivers	0.071	-33.104	1.441	-15.846
Variable		Immature Sperm			
		P-value	95% Confidence Interval		Exp (B)
			Lower Bound	Upper Bound	
Age		0.745	-0.831	1.157	0.163
BMI		0.745	-4.197	1.064	1.567
Whole Body Vibration		0.894	-46.908	40.984	2.962
Smoking Habit	Yes, Routinely	0.894	-15.191	13.060	1.066
	No	0.333	-17.650	6.039	-5.805
Physical Exercise	No Exercise/Light Activity	0.620	-25.202	15.098	5.052
	Medium	0.973	-24.388	20.673	7.302
Group	Taxi drivers	0.724	-24.207	34.728	5.261
Variable		Normal Morphology			
		P-value	95% Confidence Interval		Exp (B)
			Lower Bound	Upper Bound	
Age		0.006	0.028	0.164	-0.096
BMI		0.135	-0.316	0.043	-0.136
Whole Body Vibration		0.121	-3.638	5.631	-2.631
Smoking Habit	Yes, Routinely	0.237	-1.542	0.387	-0.577
	No	0.638	-0.616	1.000	0.192
Physical Exercise	No Exercise/Light Activity	0.441	-0.839	1.911	-0.536
	Medium	0.495	-0.940	1.931	0.495
Group	Taxi drivers	0.442	-3.570	0.452	-1.559

In spite of the adverse influence of environmental chemicals such as herbicides, industrial waste, insecticides, pesticides, food additives, etc. on spermatogenesis men, there still insufficient data on the direct impact of these chemicals in humans since the studies available are all but conducted in an occupational setting, where the population is exposed to these substances at very high concentrations [38, 39]. *Figure 1* below summarizes the effects of environmental factors on semen quality. All these factors are modifiable and can therefore provide opportunities for the treatment of male fertility.

These environmental factors and their impact on semen quality and overall male fertility are discussed in detail as under.

3.1. Air Pollution.

Caused mainly by automobile exhaust, factories, fire, household, agriculture, waste treatment, oil refineries, natural sources, such as

volcanic eruptions, wind, etc. Presence of PM 2.5 particles in the air is directly associated with total sperm number and concentration [40; 41] PM 10 is however, related to semen volume and typical forms and inversely related to atypical forms [40; 42] while SO 2 exposures at the time of sperm development results in sperm oxidaticoncentration [43]. Air pollution may also affect testosterone levels [42].

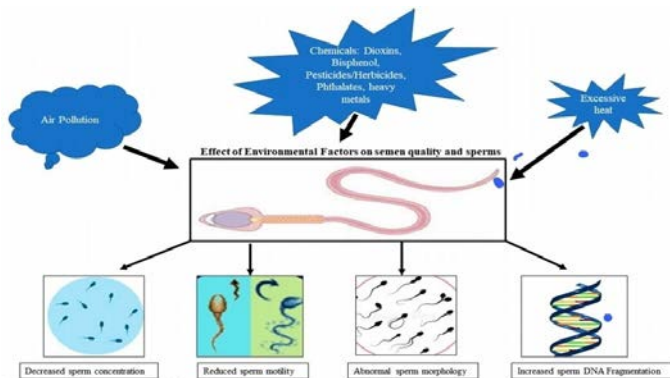


Fig. 1. Environmental factors affecting sperm quality

3.2. Dioxins/Furans

Causing Pro-oxidative/apoptotic mitochondrial dysfunction [44] Dioxins are produced as a by-product of industrial and natural processes, such as biomedical and plastic waste incineration, smelting, chlorine bleaching of paper and pulp, production of pesticides.

3.3. Bisphenol A (BPA)

Believed to reduce sperm motility, sperm count, concentration, and increased sperm morphological abnormalities [45; 46], Bisphenol is released during use, production, or disposal of plastics and breakdown of industrial plastic-related wastes

3.4. Pesticides/ Herbicides

Cause Reduction in total sperm counts, sperm concentration, larger sperm head sizes, an increased number of morphologically abnormalities [47; 48], pesticides and Herbicides are used in agriculture, to control insects found in numerous consumer products, such as medications, personal care products, toys, pharmaceuticals, cosmetic products, building and construction materials and scent retainers

3.5. Heat exposure

Drivers and people working in furnaces, jakuzzi and hot bath laudable bakeries, welding, ceramic factories, laundries, dry cleaning shops, hot climate, excessive use of hot tubs, experience extremes of temperature the thing that results t in decreased semen quality [49]. Reduced sperm concentration and total amount per ejaculate in summers compared to winters [50].

4. Discussion

According to a study conducted by Saeed et al [1] an overall increase in sperm motility obtained post 20 minutes shaking of semen sample disagreed with the other studies of sperm samples shaking (21) and centrifuging [22] so more investigation need to be conducted to validate the results.

As far as WBV is concerned, results showed that those with a history of exposure to WBV had altered sperm parameters, although vibration was not associated with semen quality [23]. Figà-Talamanca et al. assessed the association between the exposures of professional drivers to WBV and their reproductive health, by studying a group of 201 drivers in Rome Italy. The results showed that taxi drivers, compared to the controls, had a significantly lower prevalence of normal sperm forms (45.8% vs. 64.0% [23; 24].

It is worth mentioning that the effect of WVB on the organ being vibrated is not destructive in the short term and only causes reduced performance in the individual. People who are subjected to high amplitude vibrations for extended periods of time each day [19] will suffer adverse effects in the long run. The effect of low amplitude vibration on the human body is not thoroughly understood. The threshold of adverse effects due to vibration also differs among individuals which makes it impossible to define threshold limits and sensitivity to vibration [18; 26; 28].

Vaziri et al. (2011), also claim a relationship between type of occupation and quality of sperm and stated that the lowest mean sperm motility they observed was among those working in the transportation industry [26] having investigated the effects of mechanical vibration on sperm activity in humans in laboratory conditions Al-Azzawi et al. (2018) found that vibration had led to a significant increase in the rate of fast progressive motility (grade A), a maginal increase in slow progressive motility and an insignificant reduction in the number of imotile sperm [27]. In another study, Jurewicz et al. (2014) looked at

the relationship between exposure to occupational factors and semen quality parameters and concluded that occupational factors may affect the quality of semen. A significant inverse relationship between occupational exposure to vibration and reduced sperm motility and increased DNA fragmentation was also found [30].

Mechanisms

Hormone and enzyme levels disruption in blood circulation in the testicular tissue is highly likely to be the potential mechanism of effect involved in the impact of vibration on the reproductive system primary asthenospermia. And secondary asthenospermia manifest when motility is affected by the structure of the sperm flagella and when white blood cells are present in semen, respectively [33]. Asthenospermia could also happen due morphologically abnormal sperms in the semen [34] as these abnormal cells cause liberation of factors that increase the oxidative stress in seminal plasma [35] but no clear chemical could be suggested to explain it. But the explanation could be physical as high frequency movements cause activation of the structure of sperm flagella or mitochondria that synthesis energy [1].

5. Conclusion

Vibration along with other Environmental factors and vibration affect semen viscosity and accordingly semen velocity. Vibration is reported to be prevalent among drivers occupied in industrial jobs whose inability to produce natural sperm compared to other occupation was reviewed in this paper. Shaking affects, the viscosity of the semen and consequently sperm motility will increase. Shaking and centrifugation for small duration and acceleration are negligible and higher rates of acceleration and velocity will also be of no advantage for sperm motility and it may even cause harmful side effects [1].

The effect of WVB on the organ being vibrated is not destructive in the short term and only causes reduced performance in the individual. People who are subjected to high amplitude vibrations for extended periods of time each day like drivers will suffer adverse effects in the long run.

Environmental factors be it air pollution or other chemicals unfavorably impact semen quality by impairing spermatogenesis, steroidogenesis, and sperm functions and Sertoli cell, hence leading to decreased male fertility.

References

1. Saeed G, Al-Azzawi S, Al-Wasti H (2018) The Effect of Mechanical Vibration on Human Sperm Activity in Vitro. *Biomed & Pharm J*, Vol.11(3), p.1617–1621. DOI: <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/1529>
2. Bovenzi M. Health risks from occupational exposures to mechanical vibration. *La Medicina del lavoro*, 97(3): p. 535–541 (2006).
3. Kessler J. et al. Effect of stochastic resonance whole body vibration on functional performance in the frail elderly: A pilot study. *Arch. of gerontol and geriatrics*, 59(2): p.305–311 (2014).
4. Biering-Sørensen F. et al. The effect of penile vibratory stimulation on male fertility potential, spasticity and neurogenic detrusor overactivity in spinal cord lesioned individuals. *Re-Engineering of the Damaged Brain and Spinal Cord: Evidence-Based Neurorehabilitation*, 93: p. 159–163 (2005).
5. Cooper T.G. et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human reproduction update*, 16 (3): p. 231–245 (2010).
6. Küçük T., Sözen E., Buluç B. Effect of heat-induced hypermotility on pregnancy rate in intrauterine insemination for male factor infertility associated with asthenospermia: a prospective, randomized, controlled study. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 25(6): p. 235–238 (2008).
7. Firestone R.S. et al. The Effects of Low Level Laser Light Exposure on Sperm Motion Characteristics and DNA Damage. *Journal of andrology*, 33 (3): p. 469–473 (2012).
8. Lewis-Jones D. et al. Andrology: Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. *Human reproduction*, 11 (11): p. 2465–2467 (1996).
9. Biering-Sørensen F. et al, The effect of penile vibratory stimulation on male fertility potential, spasticity and neurogenic detrusor overactivity in spinal cord lesioned individuals. *Re-Engineering of the Damaged Brain and Spinal Cord: Evidence-Based Neurorehabilitation*, 93: p. 159–163 (2005).
10. Organisation W.H. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge university press (1999)
11. Baghianimoghadam MH, Aminian AH, Baghianimoghadam B, et al. Mental health status of infertile couples based on treatment outcome. *Iran J Reprod Med*. 2013; 11: 503.
12. Zagami SE, Roudsari RL, Janghorban R, Bazaz SMM, Amirian M, Allan HT. A qualitative study of the experiences of Iranian infertile couples after unsuccessful assisted reproductive technologies. *Int J Women's Health Reprod Sci*. 2019; 7: 331–8.
13. Tas S, Lauwerys R, Lison D. Occupational hazards for the male reproductive system. *Crit Rev Toxicol*. 1996; 26: 261–307. <https://doi.org/10.3109/10408449609012525>. EDN: YANJXX
14. Baranski B. Effects of the workplace on fertility and related reproductive outcomes. *Environ Health Perspect*. 1993; 101: 81–90.
15. Sas M, Szöllosi J. Impaired spermiogenesis as a common finding among professional drivers. *Arch Androl*. 1979; 3: 57–60.
16. Figà-Talamanca I, Cini C, Varricchio G, et al. Effects of prolonged automobile driving on male reproductive function: a study among taxi drivers. *Am J Ind Med*. 1996; 30: 750–8.
17. Edition F. Examination and processing of human semen. Geneva: World Health, 2010.
18. Zarei, S., Dehghan, S.F., Vaziri, M.H. et al. Assessment of semen quality of taxi drivers exposed to whole body vibration. *J Occup Med Toxicol* 17, 16 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12995-022-00357-z>. EDN: WSYAYH
19. Rijsselaere T, Van Soom A, Maes D, de Kruif A. Effect of centrifugation on in vitro survival of fresh diluted canine spermatozoa. *Theriogenology*. 2002 Apr 1; 57 (6) :1669–81.
20. 2017. Schmitz T.L., Smith K.S. Mechanical vibrations: modeling and measurement. 2011: Springer Science & Business and Media.
21. Makler A., Jakob iP. Effects of shaking and centrifugation on human sperm motility. *Archives of andrology*, 7 (1): p. 21–26 (1981).

22. Eisenberg ML, Chen Z, Ye A, GMB L. Relationship between physical occupational exposures and health on semen quality: data from the Longitudinal Investigation of Fertility and the Environment (LIFE) Study. *Fertil Steril*. 2015; 103: 1271–7.
23. Figà-Talamanca I, Cini C, Varricchio G, et al. Effects of prolonged autovehicle driving on male reproductive function: a study among taxi drivers. *Am J Ind Med*. 1996; 30: 750–8.
24. Kumar A, Varghese M, Mohan D, et al.. Effect of whole-body vibration on the low back: a study of tractor-driving farmers in North India. *Spine*. 1999; 24: 2506
25. Wikström B-O, Kjellberg A, Landström U. Health effects of long-term occupational exposure to whole-body vibration: a review. *Int J Ind Ergon*. 1994; 14: 273–92. [https://doi.org/10.1016/0169-8141\(94\)90017-5](https://doi.org/10.1016/0169-8141(94)90017-5). EDN: XXVOIX
26. Vaziri MH, Gilani MAS, Kavousi A, et al. The relationship between occupation and semen qua.
27. Saeed GT, Al-Azzawi KSA, Al-Wasti HSH. The effect of mechanical vibration on human sperm activity in vitro. *Biomed Pharmacol J*. 2018; 11: 1617–21.
28. Jurewicz J, Radwan M, Sobala W, Radwan P, Bochenek M, Hanke W. Effects of occupational exposure-is there a link between exposure based on an occupational questionnaire and semen quality? *Syst Biol Reprod Med*. 2014; 60: 227–33
29. Saeed GT, Al-Azzawi KSA, Al-Wasti HSH. The effect of mechanical vibration on human sperm activity in vitro. *Biomed Pharmacol J*. 2018; 11: 1617–21.
30. Wike EL, Wike SS, Wagner JE. Effects of prolonged low-frequency wholebody vibration on rats. *Psy*
31. Dumas V. et al. Extracellular matrix produced by osteoblasts cultured under low-magnitude, high-frequency stimulation is favourable to osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Calcified tissue international*, 87 (4): p. 351–364 (2010).
32. Aitken R., Baker H.G. Seminal leukocytes: passengers, terrorists or good samaritans? *Human Reproduction*, 10: p. 1736–1736 (1995). EDN: IPHLZD
33. Said T.M. et al. Novel association between sperm deformity index and oxidative stress induced DNA damage in infertile male patients. *Asian J of andrology*, 7(2): p.121–126 (2005).
34. Twigg J. et al., Iatrogenic DNA damage induced in human spermatozoa during sperm-preparation: protective significance of seminal plasma. *Molecular human reproduction*, 4(5): p. 439–445 (1998).
35. Belyaev I. Non-thermal biological effects of microwaves. *Microwave Review*, 11(2): p.13–29 (2005).
36. Nateghian Z, Aliabadi E (2020) Aspects of Environmental Pollutants on Male Fertility and Sperm Parameters. *J Environ Treat Tech* 8 (1): 299–309. <http://www.jett.dormaj.com>
37. Selvaraju V, Baskaran S, Agarwal A, Henkel R (2021) Environmental contaminants and male infertility: effects and mechanisms. *Andrologia* 53 (1): e13646. Oliva A, Spira A, Multigner L (2001) Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Hum Reprod* 16 (8): 1768–1776. <https://doi.org/10.1093/humrep/16.8.1768>
38. Sharpe RM (2010) Environmental/lifestyle effects on spermatogenesis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365(1546):1697–1712. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0206>.
39. De Rosa M, Zarrilli S, Paesano L, et al. (2003) Traffic pollutants affect fertility in men. *Human Reprod (Oxford, England)* 18 (5) : 10551061. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg226>
40. Wu L, Jin L, Shi T, et al. (2017) Association between ambient particulate matter exposure and semen quality in Wuhan, China. *Environ Int* 98: 219–228.
41. Radwan M, Jurewicz J, Polańska K, Sobala W, Radwan P, Bochenek M, Hanke W (2016) Exposure to ambient air pollution-does it affect
42. Zhang G, Jiang F, Chen Q, et al. (2020) Associations of ambient air pollutant exposure with seminal plasma MDA, sperm mtDNA copy number, and mtDNA integrity. *Environ Int*:105483.
43. Barbonetti A, Castellini C, Di Giammarco N et al. (2016) In vitro exposure of human spermatozoa to bisphenol A induces pro-oxidative/apoptotic mitochondrial dysfunction. *Reprod Toxicol* 66: 61–67.

44. Lwin TZ, Than AA, Min AZ, et al. (2018) Effects of pesticide exposure on reproductivity of male groundnut farmers in Kyauk Kan village, Nyaung-U, Mandalay region, Myanmar. Risk Manag Healthc Policy 11: 235–241. <https://doi.org/10.2147/RMHP.S175230>.

45. Hossain F, Ali O, D'Souza UJ, Naing DK (2010) Effects of pesticide use on semen quality among farmers in rural areas of Sabah. Malaysia J Occup Health 52(6):353–360.

46. Broe A, Pottegård A, Hallas J, et al. (2018) Association between use of phthalate-containing medication and semen quality among men in couples referred for assisted reproduction. Hum Reprod 33 (3): 503–511.

47. Bloom MS, Whitcomb BW, Chen Z, Ye A, Kannan K, Buck Louis GM (2015) Associations between urinary phthalate concentrations and semen quality parameters in a general population. Hum Reprod 30 (11): 2645–2657. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev219>

48. Cheung K, Daher N, Kam W, et al. (2011) Spatial and temporal variation of chemical composition and mass closure of ambient coarse particulate matter (PM10–2.5) in the Los Angeles area. Atmos Environ 45(16): 2651–2662. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.02.066>

49. Zhang L, Yang Y, Li Y, et al. (2019) Short-term and long-term effects of PM2.5 on acute nasopharyngitis in 10 communities of Guangdong. China Sci Total Environ 688:136–142. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.470>

Чернов Алексей Викторович

д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой

Борисова Елена Альбертовна

д-р мед. наук, доцент

Панина Ирина Леонидовна

ассистент

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»

Минздрава России

г. Воронеж, Воронежская область

РЕАБИЛИТАЦИЯ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID–19, С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

Аннотация: *в настоящее время остро встает вопрос о необходимости разработки системы восстановительного лечения после перенесенного коронавируса, в том числе с применением немедикоментозных средств и методов лечения. Использование антигомотоксического препарата Церебрум композитум и индивидуально подобранных занятий лечебной физкультурой значительно улучшило психоэмоциональное состояние пациентов после перенесенного COVID-19 и позволило восстановить когнитивные способности головного мозга, что подтверждается тестами САН, методиками «Пиктограмма» и «Расстановка чисел».*

Ключевые слова: *гомотоксикология, антигомотоксический препарат Церебрум композитум, когнитивные нарушения, психоэмоциональное состояние, лечебная физкультура.*

Введение: Коронавирус (COVID-19) представляет из себя системное заболевание, сопровождаемое множеством осложнений. По данным исследования, проводимого в столице Италии, из 143 госпитализированных пациентов с COVID от 19 до 84 лет через два месяца после начала болезни только у 12,6% не было никаких симптомов; у 32% – от одного до двух симптомов; у 55% – более трех симптомов [1]. 44,1% больных жаловались на ухудшение уровня качества жизни; больше половины обследованных отмечали повышенную усталость при попытках выполнения незначительной физической нагрузки, головные боли, субфебрильную температуру, боли в суставах и мышцах, длительное расстройство кишечника, сильную одышку. Многие пациенты описывают вегетативно обеспеченные ощущения «холода» в груди, спине, горле, или чувство жжения, «печения» в груди и спине, в области сердца. Проведенные исследования выявили, что через 2 месяца после COVID-19 у 87,4% сохраняется как минимум один осложняющий симптом.

SARS-CoV-2 поражает почти все органы: кишечник, сердце, легкие, кровеносные сосуды, центральную нервную систему [4]. Есть также гипотеза о возможности патологического влияния на репродуктивную систему, особенно у мужчин, поскольку в тестикулах находится большое количество рецепторов ACE2, которые являются основной мишенью нового коронавируса. Это может привести к серьезным иммунным повреждениям яичек, орхиту и дисфункции некоторых репродуктивных клеток.

Отмечено, что COVID-19 протекает особенно тяжело у людей с диабетом и лишним весом [5]. При этом сам вирус может стать триггером для запуска аутоиммунных процессов (подострый тиреоидит, синдром Гийена-Барре, диабет) и, возможно, демиелинизирующих заболеваний (рассеянный склероз) [6].

COVID-19 оказывает влияние и на психику [7]. Пациенты с подтвержденными случаями заболевания часто сталкиваются со страхом перед последствиями новой, плохо изученной и потенциально фатальной инфекции. Из средств массовой информации, с экранов телевизоров люди постоянно слышат о «вирусе-убийце», и, заболев, часто впадают в панику. В случае карантина и самоизоляции их охватывает чувство одиночества, безысходности, страха и гнева. Эти состояния часто усугубляют симптомы забо-

левания и побочные эффекты лечения, которые сохраняются длительное время после того, как сам вирус погибает. Психиатры констатируют случаи депрессии, панические атаки, тревожность, психомоторное возбуждение, психозы, и в некоторых случаях даже попытки суицида.

В этих условиях важно не только выработать тактику лечения больных в период заболевания, но и разработать систему восстановительного лечения после перенесенного коронавируса [9]. В настоящее время остро встает вопрос о необходимости включения в программу восстановительных постковидных мероприятий различных, в том числе немедикоментозных средств и методов лечения. Возможности традиционной медицины позволяют широко применять акупунктуру, мануальную терапию, гирудотерапию, фитотерапию и ароматерапию, а также антигомотоксическую терапию для лечения последствий и осложнений ковидной инфекции.

Гомотоксикология, являясь одним из натуропатических направлений современной науки, представляет собой синтез современных достижений медицины и гомеопатического подхода к лечению больных. Этот метод продолжил и развил принципы холистической медицины, предусматривающей комплексный подход к лечению человека как единой биологической системы. Болезнь, по мнению основателя направления и метода гомотоксикологии немецкого врача Ханса – Хайнриха Реккевега, представляет собой комплекс целесообразных защитных процессов в организме, а также проявлений попыток компенсировать интоксикацию.

Антигомотоксические препараты получили название комплексных в силу того, что в их состав входит целый ряд гомеопатических средств, сочетанное действие которых позволяет обеспечить обширный детоксикационный эффект. Поэтому антигомотоксическая терапия, на наш взгляд, может быть использована как самостоятельная фармакологическая стратегия лечения. Это объясняется тем, что комплексные антигомотоксические препараты назначаются пациентам вовсе не по законам классической гомеопатии [11, с 24]. Более того, являясь по своей технологической сути все же гомеопатическими средствами, они, в то же время, могут быть причислены и к классу аллопатических препаратов,

традиционно используемых в клинической медицине, так как имеют общие показания к применению. Поэтому, сохраняя некоторую принадлежность к обоим фармакологическим направлениям (гомеопатии и аллопатии), комплексные антигоммотоксические препараты выделяют в особую фармакологическую область – клиническую гомеопатию, развивающуюся согласно принципам доказательной медицины.

Кроме того, эти лекарственные средства имеют несомненное преимущество по сравнению с обычными фармакологическими препаратами в отношении развития индивидуального подхода в различных лечебно-профилактических и реабилитационно-восстановительных программах. Именно такой подход следует рассматривать как наиболее перспективный в медицине, поскольку он предполагает доскональное изучение у индивидуума патофизиологического и биохимического фона, на котором проводится то или иное терапевтическое воздействие, а также позволяет учитывать этот фон для качественной оптимизации лечения в каждом конкретном случае.

Как известно, одним из основных, базовых эффектов комплексных антигоммотоксических препаратов является иммуномодулирующий, который сводится к цитокиновой регуляции – одному из самых физиологических способов оптимизации функционального состояния иммунной системы [11]. Поддержание баланса между различными группами цитокинов (функциональных антагонистов) обеспечивает изначальную интегративность иммунных механизмов при любом патогенном факторе и является проявлением готовности организма по их включению в регуляцию соответствующего иммунного ответа. Важным моментом в иммунологических регулирующих процессах, оказываемых комплексными антигоммотоксическими средствами, является не только диапазон материального субстрата их компонентов, но и сама гомеопатическая технология приготовления препаратов данного класса. Процесс потенцирования, активирующий молекулярное действие исходного вещества и оказывающий регулирующее воздействие на орган-мишень или ткань, обеспечивает в итоге корректирующие биохимические и метаболические эффекты на различные органы и системы.

Цель исследования: оценить эффективность применения метода лечебной физкультуры, а также действия антигомтоксического препарата Церебрум композитум на больных, перенесших COVID-19.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились на базе спортивно – оздоровительного комплекса (СОК) Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко. Были обследованы и пролечены 30 пациентов в возрасте от 25 до 46 лет, из них 17 женщин и 13 мужчин, обратившихся за медицинской помощью после перенесенного ковида от 2-х до 6 месяцев, подтвержденного тестированием. Во время COVID-19 все пациенты находились под наблюдением терапевта поликлиники по месту жительства, проходили обследование и получали весь курс необходимых лекарственных препаратов. Однако после перенесенного заболевания и выхода на работу или учебу пациенты продолжали предъявлять жалобы на общую слабость, повышенную утомляемость, особенно при выполнении незначительной физической нагрузки, снижение памяти, нарушение внимания, трудности с усвоением нового материала, периодические головные боли вследствие переутомления или перемены погоды, боли в суставах и мышцах, холодные руки и ноги, а также периодическое ощущение «холода» или «жара» в области груди и спины, что и явилось причиной их обращения к специалистам спортивно-оздоровительного комплекса.

От всех больных было получено информированное согласие. Все полученные данные регистрировались в специальной индивидуальной регистрационной карте, исполненной в соответствии с рекомендациями М.В. Леоновой и И.Л. Асецкой [13].

Пациенты были разделены на 3 группы: контрольную и 2 основных. Пациенты контрольной группы, 10 человек, из них 4 женщины и 6 мужчин в возрасте от 25 до 32 лет, согласились на проведение диагностических тестов, но отказались от какого-либо лечения. Для всех остальных пациентов (20 человек) врачом лечебной физкультуры был разработан индивидуальный комплекс упражнений с учетом физической подготовки и жалоб больных. Занятия проводились 3 раза в неделю по 1 часу под контролем методиста ЛФК в течение 3-х недель. Кроме то-

го, пациентам второй основной группы, составившей 10 человек, из них 7 женщин и 3 мужчин в возрасте от 26 до 44 лет, кроме занятий ЛФК был рекомендован курс инъекционной антигомотоксической терапии препаратом Церебрум композитум по 1 ампуле 3 раза в неделю в течение 3-х недель внутримышечно.

ЦЕРЕБРУМ КОМПОЗИТУМ Н

Лекарственная форма: Раствор для инъекций гомеопатический.

Состав (на одну ампулу 2,2 мл (= 2,2 г)): Активные компоненты: Cerebrum suis D8 22 мкл, Embryo totalis suis D10 22 мкл, Hepar suis D10 22 мкл, Placenta totalis suis D10 22 мкл, Kalium phosphoricum D6 22 мкл, Selenium D10 22 мкл, Thuja occidentalis D6 22 мкл, Strychnos ignatii D8 22 мкл, Bothrops lanceolatus D10 22 мкл, Acidum phosphoricum D10 22 мкл, Cinchona pubescens D4 22 мкл, Sulfur D10 22 мкл, Kalium bichromicum D8 22 мкл, Gelsemium sempervirens D4 22 мкл, Ruta graveolens D4 22 мкл, Arnica montana D28 22 мкл, Aesculus hippocastanum D4 22 мкл, Manganum phosphoricum D8 22 мкл, Magnesium phosphoricum D10 22 мкл, Semecarpus anacardium D6 22 мкл, Conium maculatum D4 22 мкл, Medorrhinum-Nosode D13 22 мкл, Hyoscyamus niger D6 22 мкл, Aconitum napellus D6 22 мкл, Anamirta cocculus D6 22 мкл, Ambra grisea D10 22 мкл; Вспомогательные компоненты: натрия хлорид для установления изотонии около 9 мг/мл, вода для инъекций до 2,2 мл.

Показания к применению: энцефалопатия различного генеза (расстройство памяти, внимания); стимуляция процессов регенерации и неспецифического иммунитета.

Противопоказания: Повышенная индивидуальная чувствительность к компонентам препарата. Известная повышенная чувствительность к хинину. Дети до 18 лет в связи с недостаточностью клинических данных.

Способ применения и дозы: внутримышечно, внутривожно, подкожно по 1 ампуле 1–3 раза в неделю. Курс лечения – 4–6 недель. Возможны повторные курсы лечения после согласования с лечащим врачом.

При этом в начале и в конце исследования эмоциональное состояние пациентов оценивалось по шкале САН, предложенной сотрудниками Ленинградской Медицинской академии [12].

Оценка эмоционального состояния больных проводилась самими испытуемыми и складывалась из трёх основных составляющих: самочувствия, активности и настроения. Каждую составляющую пациентам предлагалось охарактеризовать полярными оценками типа плохой – хороший, сильный – слабый, пассивный – активный и т. д. Максимальная выраженность признака оценивалась в 3 балла, нейтральное состояние – 0 баллов. Каждая категория характеризовалась 10 парами полярных слов. При обработке данных пользовались 7-бальной шкалой. При этом 1 балл соответствовал плохому самочувствию, низкой активности и плохому настроению; нейтральное состояние оценивалось в 4 балла; очень хорошее самочувствие, высокая активность и отличное настроение соответствовали 7 баллам. Затем для каждой составляющей по 10 признакам определялось среднее арифметическое значение. Сумма баллов, набранная испытуемыми по всем 30 шкалам, делилась на 30. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ. 1–3 балла – человек, у которого преобладает плохое настроение 3,5–4,5 балла – человек, у которого доминирует изменчивое настроение или такой человек, который сам не в состоянии оценить свое настроение как хорошее или плохое. 5–7 баллов – человек, у которого чаще всего доминирует хорошее настроение. Используемый метод семантического дифференциала позволил достаточно точно оценить потенциальные возможности организма и диагностировать ранние изменения функционального состояния больных.

Исследовались также функции памяти и внимания.

Методика «Пиктограмма» А.Р. Лурия [14, с. 12] предназначена для изучения индивидуальных особенностей памяти и мышления.

Материал для проведения методики: карандаш, бумага, список слов для запоминания. Инструкция: «Этот тест предназначен для изучения зрительной памяти. На листке бумаги можете рисовать слова, которые я называю. Цифры и буквы рисовать нельзя.» В списке для запоминания 18 слов, но можно ограничиться и 10. В этот список можно добавить свои слова.

Список слов и словосочетаний. Веселый праздник. Тяжелая работа. Развитие. Вкусный ужин. Смелый поступок. Болезнь. Счастье. Разлука. Ядовитый вопрос. Дружба. Темная ночь. Печаль. Справедливость. Сомнение. Теплый ветер. Обман. Богатство. Голодный ребенок.

После выполнения задания листочек с рисунками откладывается и в течение часа испытуемого можно занять разговорами или прохождением других тестов. Через 1 час психолог дает испытуемому листок с рисунками, испытуемый должен воспроизвести слова, которые он нарисовал.

Уровень развития опосредованного запоминания: средний показатель: 90–95% (9–10 слов из 10). Память плохая, если испытуемый вспоминает 8 и меньше слов из 10. Слабая память и мышление, если испытуемый вспоминает меньше 2 слов из 10.

При исследовании функции внимания использовалась методика «расстановка чисел» [15, с 58]. Методика предназначена для оценки произвольного внимания. Инструкция: в течение 2 минут Вы должны расставить в свободных клетках бланка для заполнения в возрастающем порядке числа, которые расположены в случайном порядке в 25 клетках квадрата бланка стимульного материала.

Стимульный материал Бланк для заполнения

16 37 98 29 54

80 92 46 59 35

43 21 8 40 2

65 84 99 7 77

13 67 60 34 18

Числа записываются построчно, никаких отметок в левом квадрате делать нельзя. Оценка производится по количеству правильно записанных чисел в течение 2 минут. Средняя норма – 22 числа и выше.

Результаты исследования. Пациенты контрольной группы были обследованы и протестированы дважды – в первый день обращения и спустя 3 недели. Со слов больных, их состояние в течение времени наблюдения несколько улучшилось: стали постепенно восстанавливаться сон и аппетит, появились силы для прогулок и занятий с легкой физической нагрузкой, уменьшились вегетативные проявления – стали постепенно согреваться конечности,

уменьшилось чувство дискомфорта в груди. Однако, по-прежнему трудно было сосредоточиться на работе или учебе, сохранялись проблемы с запоминанием нового материала, оставались быстрое утомление и слабость, а также повышенная чувствительность к переменам погоды. По шкале САН в начале исследования испытуемые оценивали свое самочувствие в среднем на 3,5 балла; активность – на 3,2 балла; настроение – на 3,4 балла. Спустя 3 недели эти показатели изменились незначительно: самочувствие улучшилось до 3,8 баллов, активность возросла до 3,6 баллов, а настроение поднялось до 3,9 баллов, что было ниже среднестатистической нормы.

При проведении теста «Пиктограмма» в начале исследования средний показатель развития опосредованного запоминания в этой группе пациентов составил 70%; в конце 3-й недели – 80%, что находится за нижними пределами нормальной функции памяти.

При исследовании функции внимания с использованием методики «расстановка чисел» в начале исследования этот показатель составлял в среднем для группы 15 чисел; в конце исследования оказался несколько выше – 18 чисел, что по-прежнему оказалось ниже среднестатистической нормы.

Первая основная группа исследуемых, 10 человек, из них 6 женщин и 4 мужчины в возрасте от 26 до 46 лет, отказалась от лекарственных препаратов, но согласилась на занятия с инструктором по лечебной физкультуре. Они также прошли тестирование в начале занятий и спустя 3 недели. При обращении этих пациентов беспокоили общая слабость, недомогание, периодические, ни с чем не связанные головные боли, нарушение памяти, особенно на последние события, плохое усвоение нового материала, рассеянность, нарушение внимания с невозможностью сосредоточиться, периодически холодный пот или жар. Эта группа исследуемых при первом обращении оценивала свое самочувствие в среднем на 3,4 балла; настроение – на 3,3 балла и активность – на 3,3 балла. После занятий по индивидуальной программе с инструктором ЛФК пациенты отметили улучшение в виде повышения толерантности к физической нагрузке. 30% из них впервые стали заниматься утренней зарядкой дома, а 50% продолжили занятия,

включив в свой график легкие утренние пробежки. У этих пациентов также улучшились сон и аппетит, значительно уменьшились частота и длительность головных болей. При этом интенсивность головных болей снизилась на столько, что больные могли не пользоваться обезболивающими лекарственными препаратами, что раньше было невозможно. Значимо уменьшились вегетативные проявления в виде чувства холода или жара в груди и конечностях. По окончании курса лечебной физкультуры исследуемые оценивали свое самочувствие на 4,2 балла; активность – на 4,4 балла и настроение – на 4,3 балла. Однако, с когнитивными функциями головного мозга, со слов пациентов, оставались проблемы. По-прежнему трудно было сосредоточиться, выполнить работу, требующую повышенной концентрации внимания, длительно оставаться на рабочем месте без перерывов, вспоминать детали учебного процесса.

При проведении теста «Пиктограмма» в начале исследования средний показатель развития опосредованного запоминания в этой группе пациентов составил 70%; в конце 3-й недели – 85%, что также находится за нижними пределами нормальной функции памяти.

При исследовании функции внимания с использованием методики «расстановка чисел» в начале исследования этот показатель составлял в среднем для группы 17 чисел; в конце исследования оказался несколько выше – 20 чисел, что по – прежнему оказалось ниже среднестатистической нормы.

Вторая основная группа исследуемых, 10 человек, из них 7 женщин и 3 мужчины в возрасте от 26 до 46 лет, более серьезно подошла к проведению реабилитационных мероприятий и согласилась не только посещать занятия по лечебной физкультуре, но и провести курс восстановительного лечения антигомтоксическим препаратом Церебрум композитум, который вводился через 1 день внутримышечно по 2,2 мл. Все пациенты хорошо перенесли лекарственное средство, никаких побочных эффектов выявлено не было. Эта группа исследуемых также прошла тестирование до начала занятий и лечения, и спустя 3 недели. На первом приеме больные жаловались на общую слабость, чувство разбитости, невозможность выполнить обычную домашнюю работу из-за отсутствия сил. Частые головные боли мешали сосредоточиться на работе и способствовали нарушению неглубокого сна с постоянными

ми просыпаниями. Утром пациенты с трудом вставали на работу или учебу, а эффективность их труда была, со слов испытуемых, минимальна, что вызывало понятное недовольство и раздражение у руководства и снижало и без того плохое настроение. По методике САН в начале лечения средние значения самочувствия в этой группе пациентов составляли 3,3 балла; активности – 3,5 балла; настроения – 3,5 балла.

После занятий с инструктором по ЛФК и инъекционным курсом препаратом Церебрум композитум больные отметили значительные положительные сдвиги в состоянии здоровья. Появилась двигательная активность, захотелось что – то делать, занятия по ЛФК принесли истинное удовольствие, и 40% участников исследования захотели продолжить индивидуальные занятия с инструктором. Головные боли практически больше не беспокоили, вегетативные нарушения в виде жара или холода также остались в прошлом. Но главное, на что обратили внимание все участники исследования этой группы – стало легче жить и работать, просыпаться утром отдохнувшим. Длительная напряженная работа не утомляла, после работы оставались силы на дом и семью. Пациенты этой группы по окончании курса восстановительного лечения оценили свое самочувствие на 5,2 балла, активность – на 5,4 балла и настроение – на 5,5 балла.

При проведении теста «Пиктограмма» в начале исследования средний показатель развития опосредованного запоминания в этой группе пациентов составил 75%; в конце 3-й недели – 95%, что свидетельствует о восстановлении нормальной функции памяти.

При исследовании функции внимания с использованием методики «расстановка чисел» в начале исследования этот показатель составлял в среднем для группы 18 чисел; в конце исследования оказался выше – 25 чисел, что указывает на значительное улучшение внимания.

Выводы:

1. Коронавирус (COVID-19) представляет собой системное заболевание, сопровождаемое множеством осложнений, в том числе со стороны нервной системы.
2. Существующие методы и способы лечения осложнений коронавируса не могут в полном объеме решить эту проблему.

3. Методы восстановительной терапии, такие, как лечебная физкультура и средства антигомотоксической терапии значительно улучшают физическое здоровье пациентов после перенесенного COVID-19, повышают психоэмоциональный фон и когнитивные способности головного мозга.

4. Наилучшие результаты в реабилитационных мероприятиях достигаются сочетанным применением лечебной физкультуры и антигомотоксического препарата Церебрум композитум.

Список литературы

1. Жизнь после COVID-19 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://theins.ru/obshchestvo/jizn-posle-covid-19>
2. COVID-19 может оказаться заболеванием сосудов, и это всё объяснит [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://22century.ru/popular-science-publications/coronavirus-may-be-a-blood-vessel-disease>
3. Петербургские ученые нашли еще один механизм поражения сосудов при COVID-19 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doctorpiter.ru/articles/25705/>
4. Как коронавирус атакует сосуды, сердце, мозг, кровь и легкие [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://rth.ru/koronavirus/kak-koronavirus-atakuet-sosudy-serdce-mozg-krov-i-legkie/>
5. Профессор Первого меда: почему пациенты с диабетом и ожирением рискуют умереть от COVID-19 больше других [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://doctorpiter.ru/articles/25285/>
6. Что следует знать о связи коронавирусной инфекции и рассеянного склероза? [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://medvisor.ru/articles/rasseyannyi-skleroz/koronavirus-i-rasseyannyi-skleroz>
7. Психические расстройства при COVID-19 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://medqueen.com/otdyh-i-ozdorovlenie/psihologiya/psihologiya-statya/2424-psihicheskie-rasstroystva-pri-covid-19.html>
8. Потеря обоняния при коронавирусе: на какой день, сколько длится, что делать [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://zdravotvet.ru/poterya-obonyaniya-pri-koronaviruse-na-kakoj-den-skolko-dlitsya-chto-delat/>
9. Схема лечения коронавируса у человека COVID-19 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://yandex.ru/turbo/endometriy.com/s/koronavirus/lechenie-covid-19>
10. Резистентность к антибиотикам: почему врачи против антибиотиков при COVID-19? [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://medaboutme.ru/articles/rezistentnost_k_antibiotikam_pochemu_vrachi_protiv_antibiotikov_pri_covid_19/
11. Головкин В.И. Современные гомеотерапевтические подходы при рассеянном склерозе: учебное пособие / В.И. Головкин, А.А. Марьяновский, А.П. Симак. – М.: Арнебия, 2016. – 80 с.
12. Доскин Тест дифференцированной самооценки функционального состояния / В.А. Доскин [и др.] // Вопросы психологии. – 1973. – №6. – С. 141–145.
13. Леонова М.В. Разработка протокола и индивидуальной регистрационной карты исследований / М.В. Леонова, И.Л. Асецкая // Качественная клинич. практика – 2001. – №2. – С. 14–17.
14. Лурия А.Р. Альманах психологических тестов / А.Р. Лурия. – М., 1995.
15. Сборник психологических тестов. – Ч. II. Пособие / сост. Е.Е. Миронова – Минск: Женский институт ЭНВИЛА, 2006. – 146 с.

КЛЕТочная биология, цитология, гистология, анатомия и физиология

Ерофеева Людмила Михайловна

д-р биол. наук, профессор,
ведущий научный сотрудник
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
морфологии человека»
Московский медицинский университет «Реавиз»
г. Москва

Дорохович Галина Павловна

канд. мед. наук, доцент
УО «Белорусский государственный
медицинский университет»
г. Минск, Республика Беларусь

DOI 10.31483/r-106860

АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ТИМУСА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ СИЛОЙ 2G В РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ

Аннотация: одним из неблагоприятных факторов, которые испытывают космонавты, являются гравитационные перегрузки. В связи с этим обсуждается вопрос о возможности формирования в организме гравитационной памяти путем тренировочных воздействий гипергравитации малой величины [5, с. 28]. В статье представлены результаты сравнительного изучения морфофункционального состояния тимуса крыс после длительного воздействия гипергравитации силой 2g в однократном и повторном режимах. Показано, что длительное пребывание крыс в условиях повышенной силы тяжести приводит к выраженным морфологическим изменениям в тимусе, характерным для стресса. Полного восстановления структуры органа не наблюдалось даже к 30-м суткам реабилитационного периода. Однако повторное воздействие после периода реабилитации не сопровождалось уменьшением численности популяции зрелых лимфоцитов, незначительное увеличение количества деструктивных клеток компенсировалось повышением уровня митотической активности. По мнению авторов, это может свидетельствовать о повышении адаптационных возможностей тимуса при повторном воздействии гипергравитационного фактора.

Ключевые слова: тимус, лимфоциты, гипергравитация, адаптация, факторы космического полета.

Проблема профилактики неблагоприятного воздействия на организм космонавтов факторов космического полета, таких как гипокинезия, микрогравитация, гипергравитация и др. является актуальной в связи с перспективой длительных межпланетных экспедиций. Одним из методов профилактики является воздействие искусственной силы тяжести малой величины [1, с. 95; 3, с. 239; 4, с. 227]. Показано, что тренировочные перегрузки предупреждают возможные нарушения в системе кровообращения и другие неблагоприятные проявления воздействия факторов космического полета [3, с. 239; 7, с. 21]. Имеются данные о более высоком уровне функциональной активности структурных элементов соматосенсорной коры головного мозга, нейроэпителия отолитового аппарата и коры узелка мозжечка у крыс при повторном длительном воздействии гипергравитации силой 2g по сравнению с однократным аналогичным воздействием [2, с. 249; 5, с. 28; 6, с. 192].

В связи с этим *цель* настоящего исследования: изучение морфофункционального состояния тимуса крыс при длительном воздействии гипергравитации силой 2g и возможности усиления адаптационного потенциала органа посредством повторного аналогичного воздействия.

Экспериментальная часть работы была выполнена на базе ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем» РАН. Гипергравитацию моделировали путем непрерывного вращения животных в периферических клетках центрифуги ЦКБ-365 с радиусом 1,41 м. Скорость вращения центрифуги – 33,3 об./мин., величина перегрузки – 2g. Вращение осуществлялось в непрерывном режиме с ежедневной остановкой на 20 минут для уборки клеток и раздачи корма. Животные во время вращения находились в нефиксированном состоянии. Животные – крысы-самцы Вистар массой 197 ± 2 г были распределены на 4 группы по 10 особей в каждой. Животные 1-й группы подвергались воздействию в течение 19-ти суток с последующей реадаптацией к условиям силы тяжести Земли в течение 30-ти суток, животных 2-ой группы вращали двукратно 19 и 5 суток с реадаптационным периодом в 30 суток между вращениями, животных 3-й группы подвергали однократному вращению в течение 5-ти суток. Контрольная группа животных во время вращения экспериментальных находилась в том же помещении. Программа исследований одобрена Комиссией по биоме-

дицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Все манипуляции с животными выполнялись в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) и приказом №755 Министерства здравоохранения СССР «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» от 12 августа 1987.

После однократного 5-суточного воздействия гипергравитации силой 2g в тимусе крыс (3-я гр.) были выявлены выраженные признаки акцидентальной инволюции, такие как уменьшение массы и размеров органа, истончение коркового слоя, обеднение его лимфоцитами, стирание кортико-медуллярной границы, а также интерстициальный и периваскулярные отеки, венозный застой и диапедез. Результаты морфометрического изучения показали, что после однократного 5-суточного воздействия гипергравитации в тимусе нарушалось корково-мозговое соотношение за счет достоверного уменьшения площади коры и увеличения площади мозгового вещества. Уменьшалась также и доля тимусных телец и кровеносных сосудов в общей площади среза.

В тимусе животных на 30-е сутки после 19-ти суточного гипергравитационного воздействия (1-я гр.) той же силы выявлена гипертрофия коркового слоя, что является проявлением компенсаторной реакции органа после воздействия повреждающего фактора. В то же время наблюдались скопления жировых клеток в междольковых перегородках и в корковых септах, что свидетельствует о раннем начале процессов возрастной инволюции.

Повторное 5-суточное воздействие после окончания 30-суточного реадaptационного периода (2-я гр.) также приводило к уменьшению площади коркового вещества и увеличению площади мозгового вещества по сравнению с исходным уровнем (т.е. показателями после реадaptационного периода). Однако при этом не изменялось корково-мозговое соотношение.

Изменения структуры тимуса сопровождалась изменениями цитоархитектоники структурных компонентов. Так, однократное воздействие гипергравитации приводило к достоверному увеличению числа разрушающихся лимфоцитов (рис. 1) как в корковом, так и в мозговом веществе и усилению макрофагальной реакции.



Рис. 1. Относительное содержание деструктивно измененных клеток в тимусе крыс после воздействия гипергравитации силой 2g. Здесь и на рис. 2 и 3 достоверные различия отмечены звездочкой (*)

В результате этого достоверно уменьшилось содержание лимфоцитов в корковом веществе тимуса (рис. 2). За период реадaptации произошло восстановление численности лимфоцитов практически до уровня контроля. Повторное воздействие не вызывало усиления процессов деструкции клеток и не приводило к достоверно значимым изменениям содержания малых лимфоцитов в корковом веществе тимуса. Содержание лимфоцитов в мозговом веществе при воздействии гипергравитации уменьшалось, но статистически не значимо.

Важным показателем функциональной активности тимуса является уровень лимфоцитопоза, который характеризуется содержанием митотически делящихся клеток и бластных форм лимфоцитов. После однократного воздействия наблюдалось уменьшение митотического индекса во всех структурных компонентах органа (рис. 3). За период реадaptации пролиферативная активность лимфоидной популяции в тимусе не восстановилась до контрольного уровня. Повторное воздействие, наоборот, приводило к увеличению доли клеток в стадиях митоза и относительно контроля, и относительно исходного уровня (т.е. после реадaptации) наиболее значимому в корковом веществе.

Аналогичная динамика была выявлена и в содержании малодифференцированных лимфоцитов (бластных форм и больших).



Рис. 2. Относительное содержание малых лимфоцитов в тимусе крыс после воздействия гипергравитации силой 2 g

Таким образом, длительное пребывание крыс в условиях повышенной силы тяжести сопровождалось выраженными морфологическими изменениями в тимусе, характерными для стресса: снижение доли клеток в состоянии митоза и увеличение числа деструктивно измененных лимфоцитов, что приводило к истончению коркового слоя и обеднению его лимфоцитами. Эти нарушения не нормализовались даже на 30-е сутки реадaptации животных к условиям силы тяжести Земли.

Повторное гипергравитационное воздействие вызывало в тимусе менее значительное усиление процессов деструкции клеток и практически не изменяло содержание малых лимфоцитов. Однако уровень митотической активности в подкапсулярной зоне коры и в мозговом веществе, напротив, был выше, чем у животных в контроле и после реадaptационного периода (т.е. исходного уровня). По нашему мнению, это может свидетельствовать о повышении адаптационных возможностей тимуса посредством повторного воздействия экстремального фактора (гипергравитации). Учитывая данные литературы [6, с. 192], можно предположить возможность формирования у лимфоцитов тимуса «гравитационной памяти» при повторном длительном воздействии гипергравитации, а также вовлеченность иммунной системы в общую реакцию

отсроченной потенции, возникающей в организме животных в условиях повышенной силы тяжести.



Рис. 3. Процентное содержание клеток в стадиях митоза в тимусе крыс после воздействия гипергравитации силой 2g

Список литературы

1. Виль-Вильямс И.Ф. Проблема создания искусственной гравитации с помощью центрифуги короткого радиуса как перспективного средства профилактики в длительных пилотируемых полетах / И.Ф. Виль-Вильямс, А.Р. Котовская // Организм и окружающая среда: жизнеобеспечение и защита человека в экстремальных условиях: материалы Российской конференции. – М., 2000. – Т. 1. – С. 95–97.
2. Дьячкова Л.Н. Ультраструктура соматосенсорной коры головного мозга крыс, развивающихся в условиях гипергравитации / Л.Н. Дьячкова, И.Б. Краснов // Космическая биология и авиакосмическая медицина: тез. докл. XI конференции. – Т. 1. – М., 1998. – С. 249–250.
3. Корольков В.И. Методология подготовки и результаты исследований на обезьянах в условиях антиортостатической гипокинезии и периодических вращений на центрифуге / В.И. Корольков, И.Б. Козловская, А.Р. Котовская [и др.] // Организм и окружающая среда: жизнеобеспечение и защита человека в экстремальных условиях: материалы Российской конференции. – Т. 2. – М., 2000. – С. 239–240.
4. Котовская А.Р. Современная концепция противоперегрузочной защиты космонавтов / А.Р. Котовская, И.Ф. Виль-Вильямс // Организм и окружающая среда: жизнеобеспечение и защита человека в экстремальных условиях: Материалы Российской конференции. – Т. 1. – М., 2000. – С. 227–229.
5. Краснов И.Б. Повторное воздействие гипергравитации: морфологическое исследование гипофиза, щитовидной железы, крови и костного мозга крыс / И.Б. Краснов, Е.И. Алексеева, В.И. Логинов [и др.] // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 1998. – Т. 32. №5. – С. 28–31.
6. Краснов И.Б. Отсроченная потенция как эффект повторного воздействия гипергравитации / И.Б. Краснов // Космическая биология и авиакосмическая медицина: тез. докл. XII конференции. – М., 2002. – С. 192–193.

Куницына Анастасия Владимировна
научный сотрудник, ассистент
Красникова Ксения Алексеевна
лаборант-исследователь, бакалавр
Ачилов Атабег Батырович
младший научный сотрудник, магистрант
Антонова Елена Ивановна
д-р биол. наук, профессор, директор
Балацюк Елена Валерьевна
канд. мед. наук, врач-патологоанатом
Фирсова Наталья Викторовна
канд. биол. наук, старший научный сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-107125

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПИГМЕНТНЫХ НЕВУСОВ КОЖИ С МУТАЦИЕЙ ГЕНА *BRAF*^{V600E}

Аннотация: полученные результаты иммуногистохимических исследований образований кожи (пигментный невус) с мутацией гена *BRAF* говорят в пользу концепции более пристального изучения пигментных образований кожи, как образований с неопределенным биологическим потенциалом, в аспекте прогноза трансформации в меланому.

Ключевые слова: меланома кожи, пигментный невус, иммуногистохимия, меланома.

Меланома кожи является самым агрессивным заболеванием, с высоким метастатическим потенциалом и высокой частотой рецидивов [3]. Кожные злокачественные меланомы подразделяются на три подтипа в зависимости от анатомической локализации и степени воздействия ультрафиолетового излучения: меланома, возникающая из хронически поврежденной солнцем кожи (chronic solar insolation, *HSI*), меланома, возникающая из нехронически поврежденной солнцем кожи (not chronic solar insolation – *nHSI*), и

акральная меланوما [9; 19]. Одна из попыток борьбы с ростом заболеваемости злокачественной меланомой сосредоточена на раннем выявлении меланоцитарных невусов с определением потенциальной риска трансформации в меланому [22]. Известно, что один из путей развития меланомы невус-ассоциированный путь [13], невусы являются наиболее распространенными имитациями меланомы. В связи с этим неудивительно, что между генами, ассоциированными с невусом и меланомой, а также между фенотипическими и клеточными особенностями невусов и меланомы существует сильное генетическое сходство, включая активирующие мутации в онкогенах и повышенную скорость пролиферации [15], также отмечено наличие ряда мутаций, способствующих, но недостаточных для злокачественной трансформации, что может в будущем помочь диагностировать образования требующих наблюдения. Примерно 33% меланом происходят непосредственно из доброкачественных меланоцитарных невусов. Несмотря на это, подавляющее большинство меланоцитарных невусов, которые обычно образуются в результате мутаций, активирующих $BRAF^{V600E}$, никогда не прогрессируют до меланомы. В тоже время отмечаются $BRAF^{V600E}$ негативные меланомы [4] и в 30% случаев отмечаются пан-негативные (pan-negative) типы меланом по драйверным генам $BRAF$, $NRAS$, $c-Kit$ [1; 8; 12; 14], которые проявляют различный ответ на действие таргетной терапии [9]. Пациенты с $BRAF^{V600E}$ -положительной меланомой, так и пациенты с гетерогенной $BRAF^{V600E}$ имели значительно более короткую меланому-специфическую выживаемость, чем пациенты с $BRAF^{V600E}$ -отрицательной меланомой [10]. В целом мутация гена $BRAF$ действует как драйверная мутация на ранней стадии развития меланомы, в то время как последующие генные аберрации, такие как $TERT$, $CDKN2A$ и $TP53$, способствуют прогрессированию опухоли на более поздних стадиях [19]. Следовательно, большинство меланом кожи имеют гомогенный статус мутации $BRAF$ в пределах одной опухоли, однако некоторые исследования, показали определенную внутриопухольевую гетерогенность $BRAF^{V600E}$, $NRAS$, которые проявляют более агрессивный характер в случае первичной и метастатической меланомы [11; 17].

Кроме молекулярно-генетических методов диагностики широко применяются альтернативные методы, такие как иммуногисто-

химия [21]. Хотя гистологическое исследование остается «золотым стандартом» диагностики меланомы кожи, каждый день выявляется постоянно растущее число иммуногистохимических маркеров, которые могут помочь в диагностике, прогностической характеристике и выборе подходящего терапевтического средства [3]. Сегодня иммуногистохимия является фундаментальным инструментом при диагностике кожных патологий и имеет ряд преимуществ перед другими методами (RIA, Вестерн-блоттинг, ELISA), гарантирует сохранение связей между различными анализируемыми компонентами ткани, что позволяет идентифицировать клетки [18], иммуногистохимию можно применять к тканям с низким содержанием опухоли, которые не подходят для молекулярного анализа. Еще одним достоинством иммуногистохимии является то, что она дает четкую визуализацию состояния всей опухоли. Подобно многим другим опухолям, злокачественная меланома обладает, как уже говорилось выше, молекулярной гетерогенностью. Гетерогенность опухоли относится к наличию субклонов опухолевых клеток с отчетливой молекулярной изменчивостью в отдельных опухолях (внутриопухолевая гетерогенность) или среди опухолей разных локализаций у пациента (межопухолевая гетерогенность). Однако не существует антитела или набора антител, которые позволяли бы однозначно диагностировать различия между меланомой и невусом. Поэтому необходимо тщательно проанализировать характер экспрессии антител и локализацию поражения, используя стандартные морфологические характеристики.

В связи с этим *целью* исследования является определение иммуногистохимических особенностей пигментных невусов кожи пациентов с мутацией гена $BRAF^{V600E}$.

Материалы и методы исследования. Для гистологических исследований, использовали хирургически иссеченный клинический материал образований кожи, зафиксированный в 10%-забуференном формалине, который заливали в парафиновые блоки (FFPE-блоки) с дальнейшим изготовлением срезов и окраской гематоксилин-эозин. Иммуногистохимическое исследование выполнено с использованием антител, маркеров меланоцитарного генеза и пролиферативного потенциала опухоли: S100 (клон

4C4.9, 1:100, Diagnostic BioSystems, США), Melanoma cocktail HMD45/ MART-1 (клон HMD45+A103+T311, 1:100, Diagnostic BioSystems, США), Ki67 (клон MIB-1, 1:100, Dako, США), согласно инструкции производителя. Детекцию проводили непрямым методом АВС (авидин-биотиновый комплекс) с использованием набора двухстадийной системы детекции PrimeVision (Прайм-БиоМед, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Реакцию анализировали с использованием раствора (DAB-H₂O₂) в PBS в течение 5–10 минут.

Количество клеток, экспрессирующих антиген, оценивали полуколичественно: 0 – нет окрашивания, 1+ – окрашивание <5% клеток, 2+ – окрашивание 5–25% опухолевых клеток, 3+ – окрашивание 26–50% клеток, 4+ – окрашивание >50% клеток. Уровень окрашивания оценивали по иммунореактивному показателю (IRS), который рассчитывают путем умножения показателей интенсивности окрашивания на процент положительных клеток. На основании IRS картина окрашивания была определена как: 0 – отрицательная, 1+ – слабая (IRS 1–4), 2++ – умеренная (IRS 6–9) и 3+++ – сильная (IRS 12).

Микроописание препаратов проводилось с использованием исследовательского моторизованного микроскопа Axio Imager M2 (Carl Zeiss, Германия) с системой визуализации: цветная цифровая камера – AxioCam 105 (Carl Zeiss, Германия). Оцифровка гистологических препаратов проводилась с помощью цифрового сканирующего микроскопа Panoramic Desk (3DHISTECH, Венгрия). С использованием технологии Whole slide imaging (WSI, полнослайдовые изображения) [2; 16].

Результаты и их обсуждение. В статье рассматривается два образования кожи – интрадермальный невус с пигментным компонентом (*intra dermal naevus cutis*).

Первый пациент – женского пола, в возрасте 37 лет. Локализация образования – на теле (*nHSI*). Код по МКБ D 23.5.

Макроскопически иссеченное образование: темно-серого цвета, округлой формы, неровной поверхности, размер: 0,6 * 0,4 см.

Молекулярно-генетическое исследование выявило мутацию гена *BRAF*^{V600E}.

Микроскопическое описание препарата, окрашенного гематоксилин-эозином (Г-Э) – покровный эпителий – многослойный

плоский с большим количеством кератогиалиновых кист. Образование симметрично как в области эпидермального, так и в области дермального компонента (рис. 1). Воспалительного инфильтрата не выявлено (TILs0). Невоидные клетки располагаются в виде диффузного распределения глубоко в дерме и в виде гнезд разного размера и формы в юнкциональной зоне и дерме. Отмечены сливающиеся гнезда. Локализация невоидных клеток отмечена в области расширенных и полнокровных сосудов различного калибра, а также в области придатков кожи. В глубь дермы гнезда небольшого размера и в меньшем количестве. Вокруг гнезд отмечены четко очерченные коллагеновые волокна. Меланомакрофаги отмечены только в юнкциональной зоне и распределены неравномерно. Отмечены признаки созревания уменьшение размера гнезд невоидных клеток и самих невоцитов по направлению от поверхностных отделов образования к глубоким слоям дермы. В пределах эпидермиса гнезд не выявлено. Гнезда лежат плотно друг к другу с минимальным просветом, ориентированных параллельно поверхности эпидермиса. В пределах гнезд признаков дискогезии меланоцитов, то есть дискретное расположение клеток в пределах ядра в результате потери межклеточной адгезии, не отмечено. Невоидные клетки с ярко розовой цитоплазмой. Ядра полиморфны, разного размера (анизокариоз), ядрышки плохо визуализируются. Форма клеток эпителиоидная и веретенновидная. Степень клеточной атипичии легкая.

Иммуногистохимически отмечено (рис. 2А) не более 5% Ki67-позитивных клеток (1+++), клетки распределены диффузно в юнкциональной зоне, что указывает на низкий пролиферативный потенциал опухоли. Клетки позитивные по melanoma cocktail - HMD45/ MART-1 (рис. 3 А, В) отмечены в 26–50% (3+++). Отмечено более 50% (рис. 2В) S100-позитивных клеток (4+++).

Второй пациент – женского пола, в возрасте 31 года. Локализация образования – на теле (*nHSI*). Код по МКБ D 23.5.

Макроскопически иссеченное образование: темно-серого цвета, округлой формы, неровной поверхности, размер: 0,6 * 0,4 см.

Молекулярно-генетическое исследование выявило мутацию гена *BRAF*^{V600E}.

Микроскопическое описание препарата, окрашенного Г-Э – покровный эпителий – многослойный плоский, в пределах которого отмечены единичные кератогаалиновые кисты.

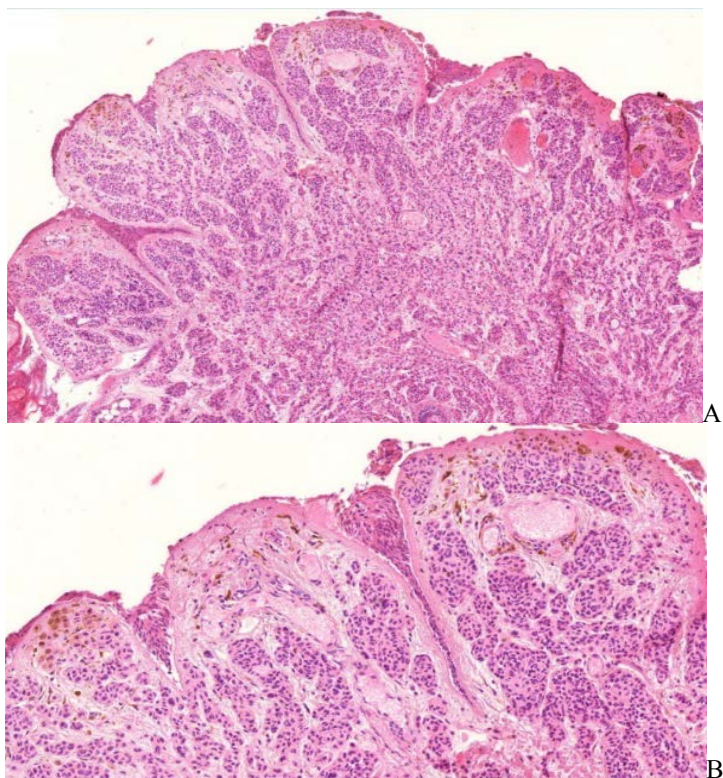


Рис. 1. Внутридермальный невус (*intradermal naevus cutis*). Первый случай. Окраска Г-Э, Ув. (А *20. В *40)

Образование симметрично как в области эпидермального, так и в области дермального компонента (рис. 4А). Меланомакрофаги дермы распределены неравномерно юнкциональной зоне, а также отмечены меланоциты в области базального слоя эпидермы. Воспалительного инфильтрата не выявлено (TILs0). Неволидные клетки располагаются в виде диффузного распределения глубоко в дерме и в виде гнезд небольшого размера в юнкциональной зоне без созревания. Локализация неволидных клеток глубоко в дерме

отмечена в области расширенных и полнокровных сосудов различного калибра, а также в области придатков кожи. Вокруг гнезд отмечены тонкие коллагеновые волокна. В пределах эпидермиса не выявлено педжетоидного распространения меланоцитов.

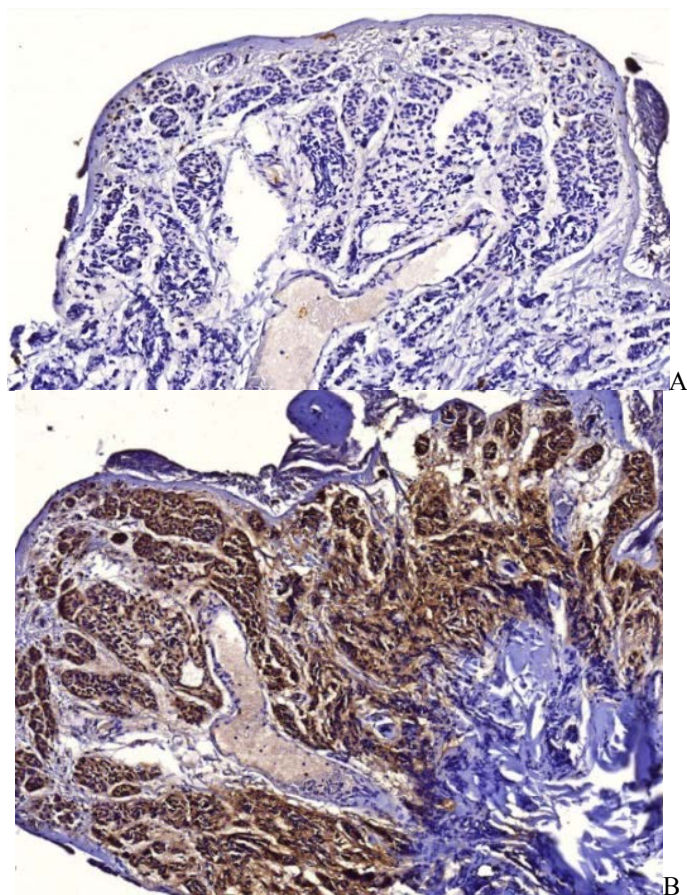


Рис. 2. Внутридермальный невус (*intradermal naevus cutis*). Первый случай. А. Окраска антителами к Ki67. *20. В. Окраска антителами к S100. *20

Гнезда лежат плотно друг к другу с минимальным просветом, ориентированных параллельно поверхности эпидермиса. В пределах гнезд признаков дискогезии меланоцитов не отмечено. Невويدные клетки с ярко розовой цитоплазмой. Ядра полиморфны,

разного размера (анизокариоз), ядрышки плохо визуализируются. Форма клеток эпителиоидная и веретеновидная. Степень клеточной атипичности легкая.

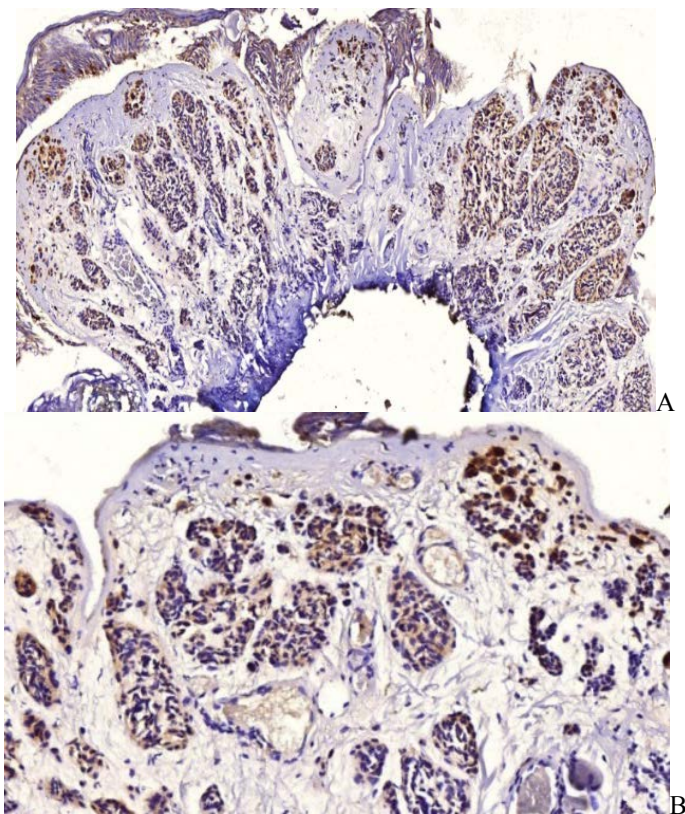


Рис. 3. Внутридермальный невус (*intradermal naevus cutis*). Первый случай. Окраска melanoma cocktail (HMB-45/ MART-1). А. ок10x20. В. Ок10x40

Иммуногистохимически отмечено (рис. 4В) более 5% Ki67-положительных клеток (+2), клетки распределены диффузно в юнкциональной зоне, так и в области базального слоя эпидермы, в одном поле зрения Ki67-положительные клетки в области эпидермиса лежат в несколько слоев. Что указывает на более высокий пролиферативный потенциал опухоли в сравнении с первым случаем. Клетки положительные по melanoma cocktail - HMD45/ MART-1 (рис. 5А) отмечены в интервале от 26–50% (3+++)

нальной зоне. Отмечено более 50% (рис. 5B) S100-позитивных клеток (4+++).

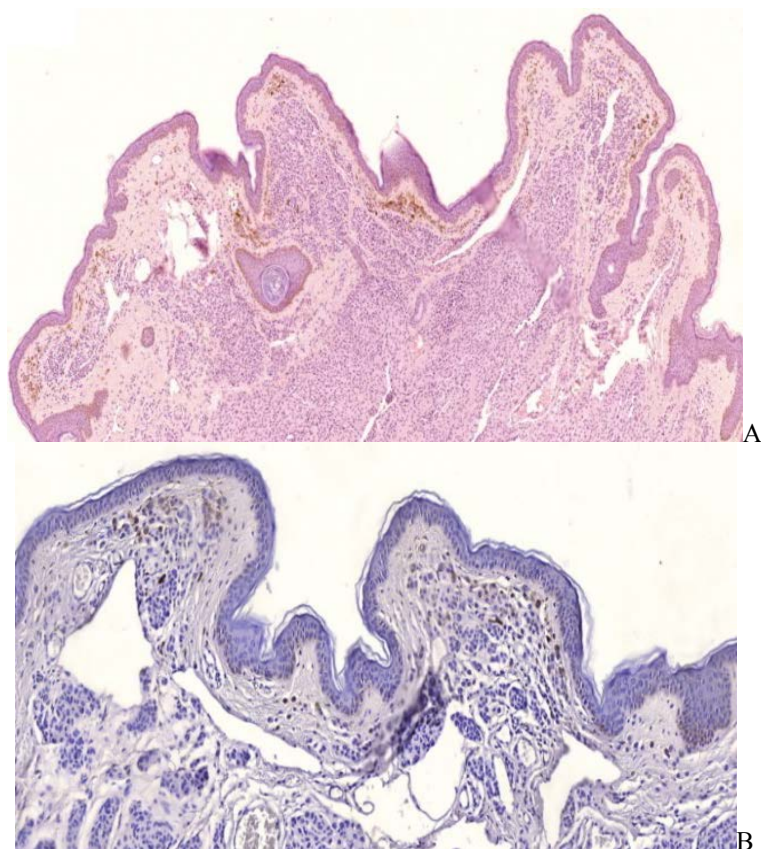


Рис. 4. Внутридермальный невус (*intradermal naevus cutis*). Второй случай. А. Окраска Г-Э, *20. В Окраска антителами к Ki67. *40

Таким образом в обоих случаях образований пигментный невус отмечена гиперэкспрессия по белку S100 который обладающий высокой чувствительностью (от 97% до 100%), но низкой специфичностью (от 75% до 87%), так как S-100 также является маркером меланоцитов, дендритных клеток, гистиоцитов, лимфоцитов, эпителиальных и миоэпителиальных клеток молочных, слюнных и потовых желез [5; 18]. Данные по экспрессии белков к

HMB-45/ MART-1 одинаков в обоих случаях: экспрессия ограничена эпидермальным и юнкциональным отделами образования.

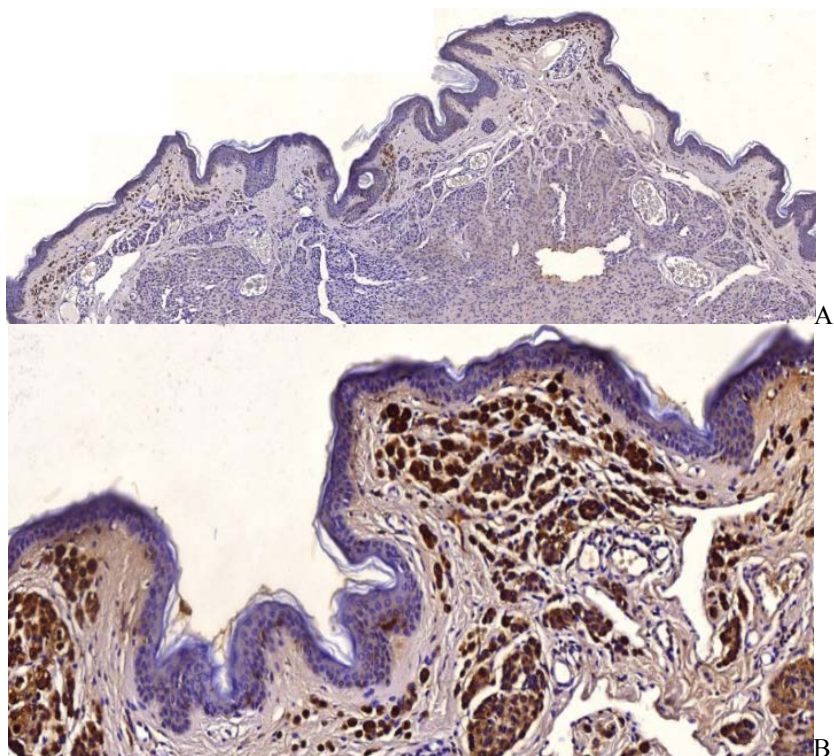


Рис. 5. Внутридермальный невус (*intradermal naevus cutis*). Второй случай. А. Окраска антителами melanoma cocktail (HMB-45/ MART-1). *20. В. Окраска антителами к S100. *40

Белок HMB-45 представляет собой цитоплазматический премеланосомный маркер, который более специфичен, чем белок S-100, он гораздо менее чувствителен. MART-1 (Melan-A) представляет собой цитоплазматический белок меланосомной дифференцировки, считается, что белок MART-1 может быть специфическим антигеном меланоцитарной дифференцировки для клеточных линий меланомы и, следовательно, более полезным в диагностике патологий этого типа.

Отмечена разная морфологическая характеристика образований в части более выражены гнезда невусных клеток на всю толщину образования с признаками созревания, в отличие от второго образования [6]. В первом случае образование с более низким пролиферативным потенциалом опухоли в сравнении со вторым, согласно данным по окраске антителами к Ki67.

Полученные результаты исследований говорят в пользу концепции более пристального изучения пигментных образований кожи, как образований с неопределенным биологическим потенциалом [21].

Список литературы

1. Аксененко М.Б. Анализ частоты мутаций генов NRAS и с-KIT у больных BRAF-негативной меланомой кожи / М.Б. Аксененко, А.В. Комина, Т.Г. Рукша // Российский журнал кожных и венерических болезней (дерматоонкология). – 2016. – 19 (6). – С. 324–327.
2. Жакота Д.А. Возможности технологии Whole slide imaging в медицинском образовании / Д.А. Жакота, Е.Л. Туманова, Н.С. Корчагина // Медицинское образование и профессиональное развитие. – 2019. – Т. 10. №1. – С. 55–64. – DOI 10.24411/2220-8453-2019-11006. – EDN НКМТQO
3. Cutaneous Melanomas: A Single Center Experience on the Usage of Immunohistochemistry Applied for the Diagnosis (2022) Int. J. Mol. Sci. 2022, 23(11), 5911.
4. Damsky W., Bosenberg M. Melanocytic nevi and melanoma: unraveling a complex relationship // *Oncogene*, 36, 5771–5792 (2017). DOI 10.1038/onc.2017.189. EDN YKCYLL
5. Deng Y., Li Z., Zhang L. Clinical and immunohistochemical analysis of the verrucous and non-verrucous divided nevus of the eyelids // *BMC Ophthalmology*, 2022, v. 22, 358. DOI 10.1186/s12886-022-02582-w. EDN STYPQO
6. Frischhut N, Zelger B, Andre F, Zelger BG. The spectrum of melanocytic nevi and their clinical implications. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2022; 20 (4):483–504.
7. Hannan Enda J., O’Leary Donal P., MacNally Stephen P., et.al. The significance of BRAF V600E mutation status discordance between primary cutaneous melanoma and brain metastases The implications for BRAF inhibitor therapy// *Medicine*, 2017, 96 (48): p e8404.
8. Hutchinson K.E., Johnson D.B., Johnson A.S. [et al.] ERBB activation modulates sensitivity to MEK1/2 inhibition in a subset of driver-negative melanoma // *Oncotarget*, 2015.
9. Ito T., Kaku-Ito Y., Murata M. [et al.] Immunohistochemical BRAF V600E expression and Intratumor BRAF V600E heterogeneity in acral melanoma: implication in melanoma-specific survival // *Clin. Med.*, 2020, 9(3), 690.
10. Ito T., Kaku-Ito Y., Murata M. [et al.] Intra- and Inter-Tumor BRAF heterogeneity in acral melanoma: an immunohistochemical analysis // *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20, 6191.
11. Jiang W., Jia P., Hutchinson K.E. [et al.] Clinically relevant genes and regulatory pathways associated with NRASQ61 mutations in melanoma through an integrative genomics approach // *Oncotarget*. 2015; 6 (4): 2496–508. DOI 10.18632/oncotarget.2954. EDN UUIRAT
12. Lee K.J., Janda M., Stark M.S. [et al.] On Naevi and Melanomas: Two Sides of the Same Coin? // *Frontiers in Medicine*. – 2021. – 8:635316.
13. Mazurenko N.N. Genetic heterogeneity of melanoma: a new target for the selective exposure // *Malignant tumors (Zlokachestvennyye opukholi)*. 2015, 4 (2): 3–8.
14. McMeniman E.K., Duffy D.L., Jagirdar K. [et al.] The interplay of sun damage and genetic risk in Australian multiple and single primary melanoma cases and controls // *The British journal of dermatology*. – 2019. – 183:357–66.

15. Parwani A.V. Whole Slide Imaging Current Applications and Future Directions. 2022. Springer Nature Switzerland AG. 242 p.
16. Pellegrini C., Cardelli L., De Padova M. [et al.] Intra-patient heterogeneity of BRAF and NRAS molecular alterations in primary melanoma and metastases // Acta Derm Venereol 2020; 100: adv00040.0/
17. Quilaqueo N., Navarrete F., Sandoval C., Roa I. Immunohistochemical Markers in the Differential Diagnosis of Melanoma and Nevus in Humans //International Journal of Morphology, 2021, 39 (5): 1509–1515.
18. Quilaqueo N., Navarrete F., Sandoval C. [et al.] Immunohistochemical markers in the differential diagnosis of melanoma and nevus in humans // Int. J. Morphol., 39 (5): 1509–1515, 2021.
19. Rabbie R., Ferguson P., Molina-Aguilar C. [et al.] Melanoma Subtypes: Genomic Profiles, Prognostic Molecular Markers and Therapeutic Possibilities // Pathol, 2019, 247, 539–551.
20. Ricci C., Dika E., Ambrosi F. [et al.] Cutaneous melanomas: a single center experience on the usage of immunohistochemistry applied for the diagnosis// Int J Mol Sci. 2022, 25; 23 (11): 5911.
21. Rusu S., Verocq C., Trepant A.L. [et al.] Immunohistochemistry as an accurate tool for the assessment of BRAF V600E and TP53 mutations in primary and metastatic melanoma // Molecular and clinical oncology 15: 270, 2021.
22. Shreberk-Hassidim R., Ostrowski S.M., Fisher D.E. The Complex interplay between nevi and melanoma: risk factors and precursors // Int. J. Mol. Sci. 2023. 10; 24 (4): 3541.

Мусалимова Рида Сагитовна
канд. биол. наук, доцент
Сюндюкова Алсу Рифзатовна
магистрант

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный
педагогический университет им. М. Акмуллы»
г. Уфа, Республика Башкортостан

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬЮ COVID-19 И ГРУППОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

***Аннотация:** в статье приводятся результаты изучения зависимости заболеваемости коронавирусной инфекцией от группы крови человека; в исследовании приняли участие 981 человек (женского пола) в возрасте от 18 до 29 лет; обнаружено, что чаще всего подвержены инфицированию COVID-19 носители второй и четвертой группы крови, и наименее подвержены носители третьей группы крови.*

***Ключевые слова:** заболеваемость, коронавирусная инфекция, группы крови, АВ0, COVID-19.*

Взаимосвязь между различного рода заболеваниями и групповыми антигенами эритроцитов интересовали учёных на протяжении многих лет. В литературе накоплен достаточно большой фактический материал, свидетельствующий о неодинаковом распре-

делении групповых антигенов крови у людей с различными заболеваниями. Данному направлению в последнее время уделяется большое внимание, в связи с распространением и необходимостью профилактики новой коронавирусной инфекции.

Зависимость заболеваемости новой коронавирусной инфекцией, вызываемой патогеном SARS-CoV-2 от группы крови человека, вызвал большой интерес в научных кругах. Ещё в начале 2000-х годов, во время вспышки атипичной пневмонии в Гонконге, индуцированной близкородственным вирусом SARS-CoV, изучали взаимосвязь между группой крови AB0 и развитием данной инфекции. В результате исследований было обнаружено, что среди медицинских работников с первой группой крови инфицированных оказалось меньше, чем среди работников с другими группами [4; 5].

На сегодняшний день исходя из накопленных сведений о взаимосвязи заболеваемости COVID-19 и группой крови инфицированных можно отметить, что лица с первой группой крови наименее подвержены вирусу COVID-19, чем носители второй группы крови. Это впервые была доказана исследователями из Китая, которые установили повышенный риск инфицирования для лиц со второй группой крови и пониженный риск инфицирования для первой группы крови [6].

Аналогичные исследования проводились во многих странах мира: Франции, Великобритании, Дании, Турции, США, Канаде, Пакистане и др. [4]

Донсков с соавторами изучали распределение ABO- и резус-принадлежности среди доноров антиковидной плазмы и больных отделений интенсивной терапии инфекционных госпиталей в сравнении с группой интактных доноров. Полученные результаты позволили утверждать, что лица с второй и четвертой группами крови находятся в группе риска инфицирования вирусом SARS-CoV-2 по сравнению с лицами с первой и третьей [2; 3].

В связи с большим интересом вокруг заболевания COVID-19 и его взаимосвязи с группами крови, нами проведено исследование данной зависимости среди молодых людей (большой частью это студенты и работающие лица, недавно окончившее обучение). В исследовании приняли участие 981 человек (женского пола) в

возрасте от 18 до 29 лет. В исследуемой выборке носителей первой группы крови составило 30%, носителей второй группы крови – 37%, носителей третьей группы крови – 28%, носителей четвертой группы крови – 5%.

Из 981 опрошенного COVID-19 перенесли 565 человек (57,6% от общего количества опрошенных). Среди носителей первой группы крови переболели COVID-19 – 55,5% опрошенных, среди носителей второй группы крови – 68,1%, среди носителей третьей группы крови – 45,7%, среди носителей четвертой группы – 57,7%.

Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают тот факт, что чаще всего подвержены инфицированию COVID-19 носители второй и четвертой группы крови. И наименее подверженными инфицированию оказались носители третьей группы.

Нужно отметить, что имеющиеся исследования не носят масштабный характер, а проводились на уровне отдельных стран и небольших выборок, однако определённая тенденция взаимосвязи групп крови и заболеваемости COVID-19 наблюдается. На наш взгляд, исследования подобного рода имеют большое значение для общества, т.к. позволяют в зависимости от групповой принадлежности крови проводить профилактические мероприятия, попытаться предсказать характер течения заболевания и попытаться избежать последующие осложнения.

Список литературы

1. Ахкубекова З.А. Региональные особенности течения новой коронавирусной инфекции в зависимости от группы крови и сопутствующих состояний / З.А. Ахкубекова, Р.М. Арамисова [и др.] // Трудный пациент. – 2021. – №5 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/regionalnye-osobenno> (дата обращения: 25.03.2023).
2. Донсков С.И. Распределение групп крови ABO у больных ОРВИ COVID-19 / С.И. Донсков, А.Ю. Буланов, И.Б. Симарова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – 66 (S4): 25–6.
3. Донсков С.И. Группа крови A(II) как фактор риска инфицирования вирусом SARS-CoV-2 / С.И. Донсков, Л.М. Зубарева, Н.М. Михайлова // Проблемы медицинской микологии. – 2021. – 23 (2): 76.
4. Зубарева Л.М. Группы крови и острая респираторная вирусная инфекция COVID-19 / Л.М. Зубарева, С.И. Донсков // Гематология и трансфузиология. – 2022. – 67 (1):122–130.
5. Cheng Y., Cheng G., Chui C., Lau F. ABO blood group and susceptibility to severe acute respiratory syndrome. JAMA. 2005; 293 (12): 1450–1. DOI: 10.1001/jama.293.12.1450c.
6. Zhao J., Yang Y., Huang H., et al. Relationship between the ABO blood group and the COVID-19 susceptibility. Clin Infect Dis. 2020; 73(2): 328–331.

Торутанов Павел Сергеевич

лаборант-исследователь

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор, директор

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПОСТОЯННЫХ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ РАСТЕНИЙ В КАЧЕСТВЕ ДЕМОНСТРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ

***Аннотация:** в статье отражены этапы оптимизации гистологической техники по приготовлению постоянных гистологических препаратов растений, в зависимости от экологической группы, как наглядно-демонстрационного материала, входящих в состав Учебных наборов «Ткани растений» (сертификат №0166385) НИЦ ФППББ ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова» для образовательных учреждений.*

***Ключевые слова:** гистологические препараты, школьные наборы, растения, гистологическая техника, образовательный процесс, ботаника.*

Согласно приказу Министерства просвещения РФ от 06.09.2022 г. №804 «Об утверждении перечня средств обучения и воспитания, соответствующих современным условиям обучения, необходимых при оснащении общеобразовательных организаций в целях реализации мероприятий государственной программы Российской Федерации «Развитие образования», направленных на содействие созданию (создание) в субъектах Российской Федерации новых (дополнительных) мест в общеобразовательных организациях, модернизацию инфраструктуры общего образования, школьных систем образования, критериев его формирования и требований к функциональному оснащению...» с целью оказания помощи образовательным организациям в приобретении демонстрационных материалов оптимизирован протокол изготовления гистологических препаратов растений, в качестве демонстрацион-

ного наглядного учебного материала. Учебный материал в виде гистологических препаратов обеспечит более глубокое фундаментальное изучение школьного материала по строению тканей и органов растений согласно обновленному ФГОС ООО, который устанавливает требования к оснащению кабинетов по отдельным предметным областям, в частности, кабинетов естественно-научного цикла по комплектации специальным лабораторным оборудованием (п. 36.3 ФГОС ООО; п. 36.1 ФГОС НОО, п. 37.3 ФГОС ООО). В рамках ФГОС наглядный демонстрационный учебный материал – гистологические препараты обеспечат удовлетворение индивидуальных образовательных интересов каждого школьника как способ сформировать у обучающихся навыки организации учебной деятельности; сориентирует обучающихся в выборе будущей профессии; позволят углубить и расширить знания в предметной области; обеспечат возможность обучающегося организовывать свою учебно-познавательную деятельность [4; 5].

В связи с этим на базе НИЦ ФППББ ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова» разработаны Учебные наборы гистологических препаратов «Ткани растений» (сертификат №0166385).

Изготовление гистологических препаратов включает несколько обязательных этапов: вырезка материала, фиксация, дегидратация, проводка по парафинам, изготовление срезов и их окраска [3], которые зависят от принадлежности растения к определенной экологической группе.

При вырезке материал располагают горизонтально или вертикально, в зависимости от задач исследователя. Вырезку осуществляют скальпелем с одноразовыми сменными лезвиями от руки.

С целью остановить процессы гибели тканей, фрагменты фиксируют для сохранности структурной и биохимической организации. Соотношение объема фиксатора к объему ткани должна составлять 1:10. Длительность фиксации зависит от выбранного материала: от нескольких часов до одних суток. В качестве фиксаторов можно использовать: спирт 70%; формалин (10%); Фиксатор Кларка (состав: этиловый спирт 96° – 3 части, ледяная уксусная кислота – 1 часть); смесь Темпера (состав: хлорная медь – 0,2 г, азотнокислая медь – 0,2 г, фенол – 1 г, вода – 99 мл) и другие [1; 7].

Следующим этапом проводят дегидратацию фиксированного материала по батарее спиртов возрастающей концентрации (70%, 80%, 96%), для удаления избытков воды и уплотнения материала. Длительность дегидратации также подбирается экспериментально, и может составлять от нескольких часов до нескольких суток.

Далее следует проводка по парафинам, необходимая для замещения жидкостной составляющей ткани на парафин. Она обеспечивает уплотнение ткани, которое необходимо для получения срезов. После этого материал заливается в парафиновые блоки, с которых на микротоме делают срезы. Толщин срезов зависит от целей исследователя, так для подсчета хромосом она составляет от 10 до 15 мкм, а при эмбриологических исследованиях – 15–25 мкм [1]. Изготовленные срезы помещают на предметное стекло и окрашивают красителем, при этом выбор красителя зависит от задач, которые стоят перед исследователем: клеточную стенку окрашивает краситель нейтральный красный (основные красители), в материале, который содержит дубильные вещества концентрируется метиленовый синий (с которыми вступает в реакцию). Отдельные клеточные структуры, на пример митохондрии окрашивает Янус зеленый. Для окраски цитоплазмы клеток используют акридиновый оранжевый, также применяют и другие красители [1]. Время окрашивания каждым конкретным красителем стоит подбирать экспериментально.

После окраски для получения постоянного гистологического препарата окрашенные срезы на предметном стекле заключают под покровное стекло в монтирующую среду. В качестве монтирующей среды используются канадский бальзам, пихтовый бальзам или витрогель [3].

Материалы и методы исследования. В работе использовали растения следующих групп:

- сциогелиофиты (теневыносливые растения) – липа европейская (*Tilia europaea*);
- склерофитов (засухоустойчивые растения) – иглица колючая (понтийская) (*Ruscus aculeatus*);
- гелиофиты (светолюбивые растения) – герань зональная (*Pelargonium zonale*) и фикус эластика (*Ficus elastica*).

Гистологические срезы изготавливались на полуавтоматическом ротационном микротоме (Thermo Fisher Scientific, США). Микроскопия приготовленных препаратов производилась на микроскопе Axio Lab A1 (Carl Zeiss, Германия).

Полученные результаты.

Для отработки протокола изготовления постоянных гистологических препаратов проводился забор стеблевых частей растения вида липа европейская (*Tilia europaea*), листовой пластинки (рис. 2) фикус эластика (*Ficus elastica*) и листового филлокладия иглицы колючей (понтийская) (*Ruscus aculeatus*) [2].

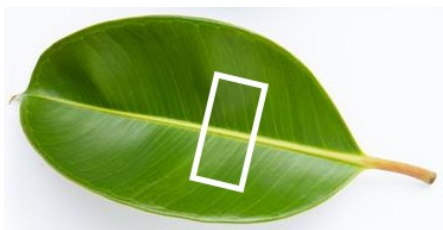


Рис. 1. Схема забора фрагментов листовой пластинки фикус эластика (*Ficus elastica*) – выделено цветом

Методика приготовления препарата (рис. 2) листа фикус эластика (Ficus elastica). При вырезке материала, лист располагали горизонтально, скальпелем изготавливались фрагменты, которые помещали в фиксатор (70% спирт, в соотношении 1:10). Материал фиксировался при комнатной температуре в темном месте в течении 24 часов.

По истечении времени фиксации проводили дегидратацию в спиртовой батарее, возрастающей концентрации (70%, 80%, 96%). В каждом спирте фрагменты находились в течении 24 часов. После дегидратации фрагменты пропитывались в трёх ёмкостях с парафином (чистый парафин с синтетическими добавками «Эрго-Продакшн», Россия). В каждом парафине материал выдерживался 1 час, затем следовала заливка материала и изготовление парафиновых блоков. С парафиновых блоков изготавливали серийные срезы толщиной 15 мкм.

Аналогично был приготовлен препарат стебля липы европейской (*Tilia europaea*) и листового филлокладия иглицы колючей (понтийская) (*Ruscus aculeatus*). Для окраски использовали краси-

тели гематоксилин («ЭргоПродакшн», Россия) и метиленовый синий. («Невареактив», Россия), покрывали под покровное стекло витрогелем – синтетической монтирующей средой («ЭргоПродакшн», Россия).

Для изучения строения и формы клеток, типов устьичных комплексов, особенностей опушения листьев необходимо сделать препарат эпидермиса. Для этих целей лучше всего подходит эпидермис герани зональной (*Pelargonium zonale*) [2]. Для приготовления препарата снимают эпидермис с нижней стороны листа между жилками. Это делается при помощи препаровальной иглы и пинцета: между боковых жилок аккуратно делают небольшой разрез, подхватывают край эпидермиса пинцетом и тянут слой клеток, прижимая его к листу под острым углом. Для препарата был использован кусочек размеров 2–3 мм.

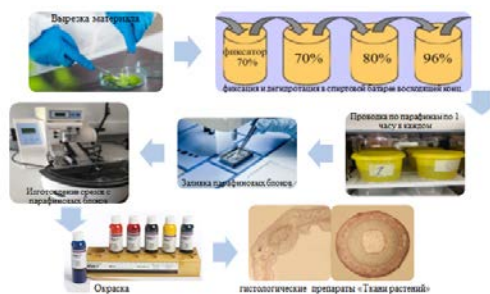


Рис. 2. Схема приготовления препарата листа фикус эластича (*Ficus elastica*) и препарат стебля липы европейской (*Tilia europaea*)

На рисунках 3, 4, 5, 6 представлены некоторые гистологические препараты растений, входящие в состав учебных наборов «Ткани растений» НИЦ ФППББ ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова».

Таким образом, в зависимости от органа и экологической группы растения проведена оптимизация этапов гистологической техники по приготовлению гистологических препаратов растений. Качественные гистологические препараты растений, входящие в состав Учебных наборов «Ткани растений» (сертификат №0166385) НИЦ ФППББ ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова» являются демонстрационным наглядным учебным материалом для образовательных учреждений по разделу ботаника.



Рис. 3. Стебель (3х летний) липы европейской (*Tilia europaea*)

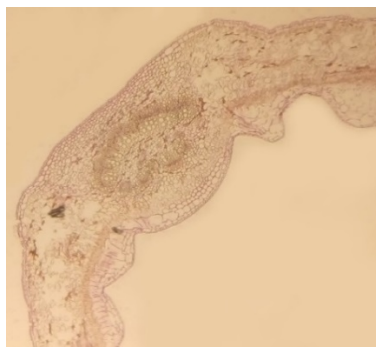


Рис. 4. Срединная жилка листа фикуса эластика (*Ficus elastica*)

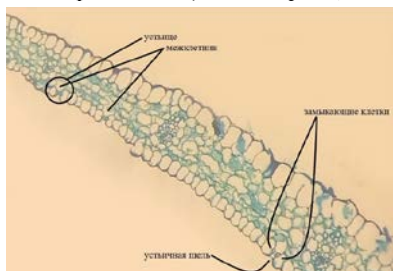


Рис. 5. Срез листа иголки колючей (понтийская) (*Ruscus aculeatus*)

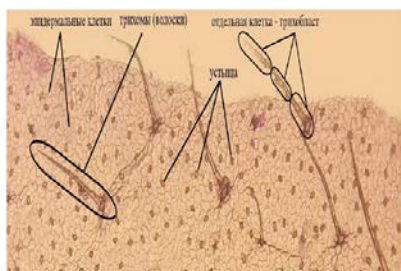


Рис. 6. Герань зональная (*Pelargonium zonale*). Эпидермис

Список литературы

1. Барыкина Р.П. Справочник по ботанической микротехнике / Р.П. Барыкина, Ю.Т. Дьяков, С.Н. Лекомцева [и др.]. – М.: МГУ, 2004. – 312 с.
2. Губанов И.А. Определитель сосудистых растений / И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков [и др.]. – М.: Аргус, 1995.
3. Мавликеев М.О. Краткий курс гистологической техники: учебно-методическое пособие / М.О. Мавликеев, С.С. Архипова, О.Н. Чернова [и др.]; под науч. ред. канд. мед. наук, доцента Р.В. Деева. – Казань, 2020.
4. Приказ Министерства просвещения РФ от 31 мая 2021 г. №286 «Об утверждении Федерального государственного образовательного стандарта начального общего образования».
5. Приказ Министерства просвещения Российской Федерации от 31.05.2021 №287 «Об утверждении Федерального государственного образовательного стандарта основного образования».
6. Яковлев Г.П. Ботаника: учебник для вузов / Г.П. Яковлев, В.А. Челомбитко, В.И. Дорофеев. – СПб.: СпецЛист, 2008.
7. Zelko I., Lux A., Sterckeman T., Martinka M., Kollárová K., Lišková D. An easy method for cutting and fluorescent staining of thin roots // Annals of Botany, Volume 110, Issue 2, 1 July 2012. P. 475–478.

Федоров Даниил Александрович

аспирант
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет»

Фролова Милена Юрьевна

канд. биол. наук, доцент
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет»
ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России

Красовская Ирина Евгеньевна

канд. биол. наук, доцент, доцент
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет»

Кулева Надежда Владимировна

д-р биол. наук, доцент, профессор
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет»
г. Санкт-Петербург

DOI 10.31483/r-105499

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ HIF1 ТОПОТЕКАНОМ И ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ НА БИОМАРКЕРЫ СЕРДЕЧНОЙ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ТЯЖЁЛОЙ ГИПОКСИИ

Аннотация: гомеостаз кислорода в организме млекопитающих является необходимым условием их существования. В работе использована модель тяжёлой гипобарической гипоксии (ТГ) – трёхчасовой сеанс пребывания крыс при 180 мм. рт. ст. (5% O₂) и предпринята попытка оценить возможность ее применения для мышечной ткани посредством определения в плазме крови биомаркеров повреждения сердечной (тропонин I и креатинкиназа MB) и скелетных (миоглобин и суммарная креатинкиназа). Для оценки влияния HIF1 использовали ингибитор трансляции HIF1 – топотекан, который в смеси ДМСО – 0,09% NaCl вводили внутривентриально (5 мг/кг веса) за 10 мин до гипоксии. Для посткондиционирования (ПостК) применяли умеренную гипобарическую гипоксию (Ветровой, 2018). Показано достоверное превышение уровня сердечного биомаркера тропонина I в плазме крови крыс, подвергнутых ТГ, что свидетельствовало о повреждении миокарда после ТГ. Содержание в крови неспецифического мышечного биомаркера миоглобина достоверно не изменялось после ТГ. Однако при использовании ингибитора HIF1 топотекана перед ТГ количество миоглобина в плазме крови крыс через сутки после сеанса ТГ было достоверно меньше, чем в отсутствие ингибитора. Таким образом, можно полагать, что ингибирование тран-

скрипционного фактора HIF1 во время ТГ уменьшает повреждение скелетных мышц. Между значениями исследуемых биомаркеров были выявлены следующие корреляции: КФК МВ – КФК + 0,85 (***) , КФК МВ – миоглобин +0,52 (*), миоглобин – КФК +0,59 (**). Так как увеличение миоглобина в крови имеет важное прогностическое значение для предсказания повреждения почек и результата лечения при тяжелой травме, то можно предложить топотекан в качестве средства для уменьшения повреждения травмированных мышц.

Ключевые слова: травма, повреждение сердечной мышцы, повреждение скелетных мышц, биомаркеры, тяжелая гипоксия, миоглобин, тропонин I, топотекан, гипоксия-индуцируемый фактор-1 HIF1, миокард, посткондиционирование.

Материалы и методы. Гомеостаз кислорода в организме млекопитающих является необходимым условием их существования. Гипобарическая гипоксия (уменьшение содержания кислорода во вдыхаемом воздухе) – это очень тяжелое испытание, особенно для нервной системы.

Для исследования биохимических механизмов адаптации мозга к гипоксии О.В. Ветровой [1] использовал модель тяжелой гипобарической гипоксии (ТГ) – трёхчасовой сеанс пребывания крыс-самцов при 180 мм. рт. ст. (5% O₂).

В настоящей работе была предпринята попытка оценить возможность применения этой модели для мышечной ткани крыс с помощью биомаркеров повреждения сердечной (тропонин I и креатинкиназа МВ) и скелетных (миоглобин и суммарная креатинкиназа) плазмы крови.

Эксперименты с животными проводились в Лаборатории регуляции функций нейронов мозга Института физиологии им. И.П. Павлова РАН О. В. Ветровым, любезно предоставившим нам плазму крови крыс для определения содержания биомаркеров.

Плазму крови замораживали при -80⁰С до момента определения значений биомаркеров с помощью приборов: анализатора иммунохемилюминисценции DXI фирмы «Beckman Coulter» (миоглобин, тропонин I) и биохимического анализатора DXC Unicell фирмы «Beckman Coulter» (общий белок, а также ферментативная активность креатинкиназы).

Для оценки влияния HIF-1 использовали ингибитор трансляции HIF-1 – топотекан, который в смеси ДМСО – 0,09% NaCl вво-

дили внутрибрюшинно (5 мг/кг веса) за 10 мин до гипоксии. Для посткондиционирования (ПостК) применяли умеренную гипобарическую гипоксию [1].

Результаты и обсуждение. В [2] и [3] было показано достоверное превышение уровня сердечного биомаркера тропонина I в плазме крови крыс, подвергнутых ТГ, что свидетельствовало о повреждении миокарда после ТГ. Результаты выхода в кровь неспецифического мышечного биомаркера миоглобина не обнаружили достоверно значимых изменений после ТГ. Однако при использовании ингибитора HIF-1 α топотекана перед ТГ оказалось, что количество миоглобина в плазме крови крыс через сутки после сеанса ТГ было достоверно меньше, чем в отсутствие ингибитора [2, 3].

Таким образом, можно полагать, что блокирование транскрипционного фактора HIF-1 во время ТГ уменьшает повреждение скелетных мышц.

При трехкратном ПостК животных после ТГ в сравнениях с контрольными животными, которым не вводили топотекан, не были выявлены достоверные изменения исследуемых биомаркеров. Однако при введении топотекана снижался разброс значений биомаркеров, в том числе и у животных, не подвергавшихся гипоксическому воздействию.

Так, у животных подвергавшихся трехкратному ПостК после ТГ миоглобин повышался со среднего значения 690 нг/мл до среднего значения 972 нг/мл, что было не достоверно из-за большого разброса у контрольных животных не подвергавшимся гипоксическим воздействиям и малого количества крыс в группах (лишь 4 крысы в опытной группе и 6 в контрольной, в которой в качестве инъекционного контроля использовали смесь ДМСО: 0,09% NaCl).

Следует сказать также, что крысы линии Wistar обладают достаточно большим генетическим разнообразием. Однако, если сравнить опытную с группой крыс, которые также не подвергались гипоксическим воздействиям, но которым вводили топотекан в смеси ДМСО – 0,09% NaCl, разность средних концентраций общего миоглобина в пересчёте на грамм общего белка (мкг/г) была уже достоверна с надёжностью $p > 0,99$, несмотря на то, что в

этой группе, содержащей тоже всего 6 животных, среднее значение концентрации миоглобина было практически таким же (677 нг/мл), но был меньше меньше разброс.

Аналогичную картину снижения разброса значений наблюдали и при анализе ферментативной активности общей фракции креатинфосфокиназы (КФК) и сердечной креатинфосфокиназы (КФК мв), но не было замечено у тропонина I. Между значениями исследуемых биомаркеров были выявлены следующие корреляции:

- КФК мв – КФК + 0,85 (***);
- КФК мв – Миоглобин +0,52 (*);
- миоглобин – КФК +0,59 (**);
- КФК мв – общий белок – 0,53 (*);

- Остальные попарные корреляции не достоверно отличались от нуля.

Так как количества миоглобина в крови больных с тяжелой травмой имеет важное прогностическое значение для предсказания повреждения почек [4], то можно предположить, что введение топотекана может являться средством для уменьшения этого повреждения.

Список литературы

1. Ветровой О.В. Роль HIF1-зависимой регуляции пентозофосфатного пути в обеспечении реакций мозга на гипоксию: дис. ... канд. биол. наук / О.В. Ветровой. –СПбГУ, 2018.
2. Федоров Д.А. Эффекты тяжелой гипобарической гипоксии и ингибирования индуцируемого гипоксией фактора HIF-1 на маркеры повреждения сердечной и скелетных мышц крыс / Д.А. Федоров, М.Ю. Фролова, И.Е. Красовская, Н.В. Кулева // Биофизика. – 2019. –Т. 64. №5. – С. 999–1002. – DOI: 10.1134/S0006302919050235. – EDN: WIYTQO
3. Fedorov D.A. The Effects of Severe Hypobaric Hypoxia and Inhibition of Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1) on Biomarkers of Cardiac and Skeletal Muscle Injury in Rats / D.A. Fedorov, M.Y. Frolova, I.E. Krasovskaya, N.V. Kuleva // Biophysic. – 2019. – Vol. 64. №5. – P. 808–811. – DOI: 10.1134/S000635091905004X. – EDN: ISWSCY
4. Tarazona V., Figueiredo S., Hamada S. et al. 2021. Admission serum myoglobin and the development of acute kidney injury after major trauma. Ann. Intensive Care 11, 140. – <https://doi.org/10.1186/s13613-021-00924-3>

Фирсова Наталья Викторовна¹

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

Ачилов Атабег Батырович¹

магистрант, младший научный сотрудник

Антонова Елена Ивановна¹

д-р биол. наук, профессор, директор

Ленгесова Наталья Анатольевна¹

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник

Сихарулидзе Сергей Владимирович²

пластический хирург

¹Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический
университет им. И.Н. Ульянова»

²Многопрофильная больница «ВМ-клиник»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-107064

ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЕ КЛЕТОК КОЖИ ЧЕЛОВЕКА В СИСТЕМЕ IN VITRO В КАЧЕСТВЕ ПОДГОТОВИТЕЛЬНОГО ЭТАПА ДЛЯ СЕПАРАЦИИ КЛЕТОК (ПИЛОТНЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТ)

***Аннотация:** авторами проведен пилотный эксперимент по иммунофенотипированию культивируемых клеток кожи человека с определением доли малодифференцированных клеток по отношению к зрелым. Полученные результаты определили целевую популяцию молодых малодифференцированных клеток кожи в составе сокультуры, которые далее с помощью магнитной сепарации могут быть выделены в чистую популяцию клеток и использованы в процессе создания тканевого эквивалента кожи благодаря своему высокому уровню пролиферативной активности, потенциалу для формирования адгезий с поверхностью скаффолдов и синтетической активности продуцировать факторы роста и другие компоненты межклеточного матрикса, которые будут больше способствовать заживлению раны.*

***Ключевые слова:** культура клеток кожи, иммунофенотип, поверхностные маркеры, скаффолды, эквивалент кожи.*

Создание тканевых эквивалентов кожи является актуальным направлением в области регенеративной медицины с целью использования в качестве клеточной трансплантологии лечения повреждения кожного покрова различной этиологии и в области фундаментальных исследований в аспекте изучения генетических

и эпигенетических механизмов регуляции гомеостаза клеток кожи.

Одним из важных этапов создания тканевого эквивалента кожи является иммунофенотипирование клеток кожи человека в системе *in vitro* с определением уровня дифференцировки с позиции пролиферативного потенциала и уровня секреторной активности [6]. Иммунофенотипирование клеток кожи проводится методом проточной цитометрии, который основан на исследовании маркеров клеточной поверхности, с дальнейшим определением цитотипа клеточных дифферонов для последующего заселения на скаффолды при создании тканевого эквивалента. Таким образом формируются клеточные линии клеток кожи человека (фибробласты, кератиноциты, меланоциты) для дальнейшей их паспортизации и ведения в культуре, как компонентов эквивалента кожи, что в значительной степени ускорит процесс создания функциональных тканевых эквивалентов, используемые в регенеративной медицине и фундаментальных научных исследованиях. Так, в частности с позиции функциональной характеристики клеток для определения малодифференцированных популяций клеток используется CD90, а для определения зрелых меланоцитов с-Kit [3; 6].

В связи с этим *целью* данной работы является анализ иммунофенотипа клеток кожи человека 5-го пассажа с использованием поверхностных маркеров дифференцировки клеток.

Материалы и методы. Для получения первичной культуры клеток использованы экспланты кожного биоптата, иссеченные из области груди (область ареола) после проведения пластической хирургии в Многопрофильной больнице «ВМ-клиник» города Ульяновска. Все манипуляции с фрагментами кожи и клеточным материалом проводились в асептических условиях ламинарного бокса MSC Advantage (Thermo Scientific, США) и боксированном помещении класса чистоты В. В качестве полных питательных сред использована RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с содержанием 15% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (ПанЭко, Россия). Формирование монослоя контролировали визуально на инвертированном микроскопе «Axio Vert. A1» (Zeiss, Германия).

Иммунофенотип клеток кожи человека определяли по экспрессии меток cKit⁺CD90⁺, cKit⁺CD90⁻ и cKit⁺CD90⁺ с определением доли малодифференцированных клеток по отношению к зрелой популяции. Данный анализ проводили на мультилазерной диагностической системе проточной цитофлуориметрии CyFlowSpace (Partec, Германия), сопряженной с программным обеспечением FlowMax того же

производителя. Используются моноклональные антитела к проточной цитометрии CD90 и cKit (Beckman Coulter, США).

Результаты и их обсуждение. Клеточная линия клеток кожи человека 5-го пассажа представляет собой сокультуру фибробластов и меланоцитов, которые характеризуются различными фенотипическими особенностями присущими для каждого цитотипа. Так, фибробласты представляют собой вытянутые веретеновидные клетки. Меланоциты имели больший размер и несколько отростков (рис. 1).

Для более подробной характеристики исследуемой популяции проведена оценка иммунофенотипа фибробластов и меланоцитов по исследуемым маркерам с целью выявления уровня дифференцировки. В данной работе использована суспензия клеток кожи человека 5го пассажа, содержащая 100 000 – 150 000 клеток. В результате проведенного исследования выявлено наличие четырех фракций клеток, идентифицированных по наличию анализированных поверхностных маркеров или их комбинаций (рис. 2).

Клетки с иммунофенотипом cKit⁻CD90⁺ составляли 39,4% (Q1) от общей популяции, клетки с двойным мечением cKit⁺CD90⁺ – 34,1% (Q2) и клетки с иммунофенотипом cKit⁺CD90⁻ – 17,1% (Q4). Клетки с отсутствием экспрессии CD90 и cKit (9,4% от общего количества) локализованы в «серой зоне» (Q3) и не участвуют в обсуждении.

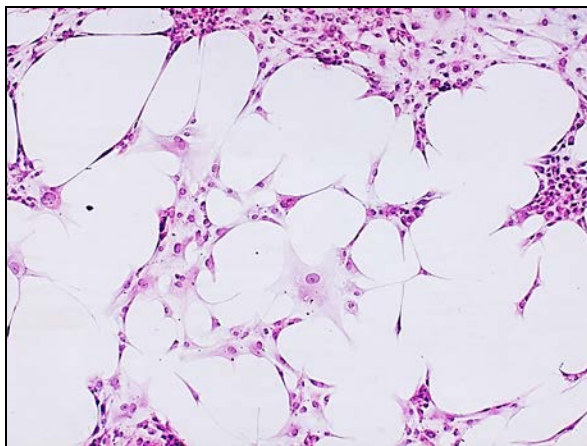


Рис. 1. Культура клеток кожи. 5 пассаж. Витальный препарат, окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: ок 10 x об 20.

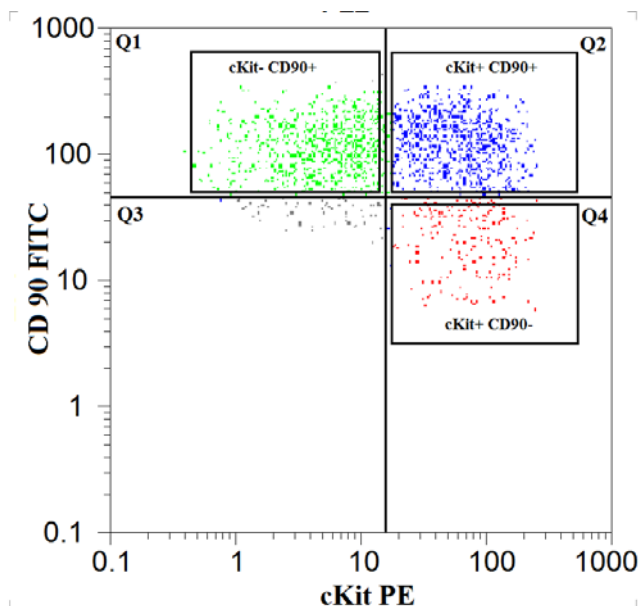


Рис. 2. Иммунофенотипирование клеток кожи человека.

Таким образом, сокультура 5-го пассажа в большей части представлена молодыми малодифференцированными клетками ($cKit^-CD90^+$), которые более предпочтительны для заселения на скаффолды в процессе создания тканевого эквивалента кожи благодаря своему высокому уровню пролиферативной активности, потенциалу для формирования адгезий с поверхностью скаффолдов и синтетической активности продуцировать факторы роста и другие компоненты межклеточного матрикса, которые будут больше способствовать заживлению раны [2; 4; 5].

Ранее нами проведен анализ содержания клеток с иммунофенотипом $CD90^+$ в суспензии культивируемых клеток кожи 3-го пассажа при исследовании их биосовместимости со скаффолдами [1], однако использование двойного окрашивания с маркером ранней дифференцировки клеток кожи $cKit$ позволяет исключить отнесение клеток с фенотипом $CD90^+$ к популяции клеток $cKit^+CD90^+$, которые характеризуются более высоким уровнем дифференцировки.

Полученные в нашей работе результаты иммунофенотипирования популяций меланоцитов разной стадии дифференцировки

(cKit⁺CD90⁺ и cKit⁺CD90⁻) демонстрируют высокий процент содержания данной популяции клеток в культуре клеток 5го пассажа (около 50%) и могут быть использованы для получения чистой культуры меланоцитов после проведения сепарации. Однако при создании тканевого эквивалента кожи данная популяция зрелых клеток не рассматривается в связи с близостью конечной их точки развития в системе меланоцитарного дифферона.

Технология иммунофенотипирования, сепарации и повторного иммунофенотипирования для контролирования процесса получения целевой популяции клеток показала высокую эффективность с использованием первичной культуры клеток кожи человека (возраст до 16 лет) [6].

Таким образом, полученные в данном пилотном эксперименте предварительные результаты подтверждают возможность использования метода иммунофенотипирования клеток кожи человека поверхностными маркерами для выявления малодифференцированных клеток. Кроме этого, обнаруженное высокое содержание популяции малодифференцированных клеток (39,4%) на 5-ом пассаже характеризуют высокий биологический потенциал данной клеточной линии и дают основание рассматривать 5-й пассаж в качестве оптимального для дальнейшей работы срока культивирования.

Список литературы

1. Антонова Е.И. Клеточный цикл как критерий оценки биосовместимости фибробластов и скаффолдов в системе in vitro после воздействия УФ-облучения в аспекте создания эквивалента кожи / Е.И. Антонова, Н.В. Фирсова, М.Р. Киямова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – №9 (123). – DOI 10.23670/IRJ.2022.123.10.
2. Барановский Ю.Г. Применение дермальных фибробластов для ускорения регенерации хронических раневых дефектов кожи / Ю.Г. Барановский, Ф.Н. Ильченко, Е.Ю. Шаповалова // Вестник медицинского института. – 2019. – №5. – С. 110–116.
3. Duan Y. c-KIT and CD90 are useful markers for predicting prognosis in patients with melanoma / Y. Duan, X. Luo, S. Zhao [et al.] // Oncology Letters. – 2019. – №17 (3). – P. 2598–2606.
4. Glud A.N. The use of neural crest-derived stem cells for tissue engineering of skin and skeletal muscle / A.N. Glud, M.A. Hedegaard, R.K. Berge [et al.] // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2019. – №146. – P. 77–91.
5. Kock L. Tissue engineering of functional skin substitutes / L. Kock, T.H. van Kuppevelt // Matrix Biology. – 2019. – №75–76. – P. 314–325.
6. Michalak-Micka K. Characterization of a melanocyte progenitor population in human interfollicular epidermis / K. Michalak-Micka., V.L. Buchler, N. Zaporkowska-Blumer [et al.] // Cell reports. – 2022. – 38 (9). 110419. – DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110419.

Фирсова Наталья Викторовна¹

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

Савельева Виктория Алексеевна¹

лаборант-исследователь, бакалавр

Ленгесова Наталья Анатольевна¹

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник

Сихарулидзе Сергей Владимирович²

пластический хирург

Антонова Елена Ивановна¹

д-р биол. наук, профессор, директор

¹Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический
университет им. И.Н. Ульянова»

²Многопрофильная больница «ВМ-клиник»
г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-106721

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ХРАНЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК КОЖИ ЧЕЛОВЕКА НА ИХ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ

***Аннотация:** в данном исследовании проведен анализ влияния различных периодов хранения суспензии клеток в низкотемпературных условиях при -80°C на жизнеспособность клеток после размораживания. Оценка размораживаемого материала оценивалась по динамике показателей общего количества клеток, количества живых клеток и процентного содержания жизнеспособных клеток в общей суспензии в трех исследуемых группах (2, 4 и 6 недель хранения).*

***Ключевые слова:** культура клеток кожи, низкотемпературная консервация, фибробласты.*

Простые, экономичные и надежные протоколы криоконсервации клеток имеют решающее значение для их эффективного применения в клеточной и тканевой инженерии. Основные направления фундаментальных исследований в этой области заключаются в подборе криопротекторов, техник криоконсервации и размораживания клеток. На сегодняшний день в зависимости от задач исследования и практического применения размораживаемых клеток для краткосрочного хранения биоматериала используются низкотемпературные холодильные камеры на -80°C , а для длительного хранения – сосуды Дьюара с поддержанием температуры на уровне -196°C . Однако если сохранность жизнеспособности

клеток при -196°C доказана многочисленными исследованиями, то работы по изучению влияния длительности хранения при других низкотемпературных режимах является актуальным направлением в поиске оптимальных условий хранения биоматериала.

Существует большое количество работ по оптимизации протоколов криоконсервации и размораживания клеток, по подборе криопротекторов в различных соотношениях с основной питательной средой или сывороткой, виду замораживаемого материала (суспензия или монослой) и т.д. [4]. Кроме этого известно, что клетки различных дифферонов, а также клетки разного уровня дифференцировки одного дифферона проявляют различную реакцию на этапы криоконсервации. В связи с этим с целью повышения эффективности криоконсервации для различных клеточных линий крайне важно учитывать специфические морфофункциональные реактивные изменения клеток на воздействие низких температур.

Для сохранности клеток при криоконсервации используются различные криопротекторы. Одним из наиболее часто используемых является диметилсульфоксид (ДМСО), который применяется в протоколах криоконсервации как для краткосрочного, так и долгосрочного хранения биоматериала. ДМСО быстро проникает в клетки, минимизируя осмотический стресс, а концентрация в диапазоне 5–10% не является токсичной [2; 3; 6]. Длительность хранения клеточных линий определяется целями и задачами дальнейшего их применения. В связи с этим целью настоящей работы является оценка влияния длительности хранения на жизнеспособность криоконсервированных клеток кожи человека при -80°C с использованием 10% раствора ДМСО после выведения клеточных линий кожи человека из заморозки.

Материалы и методы. Культивирование клеток кожи: экспланты кожного лоскута размером не более 1,0 x 5,0 см, иссеченные из области груди (область ареола) после проведения пластической хирургии в Многопрофильной больнице «ВМ-клиник» города Ульяновска, погружались в транспортную среду (ТС), состоящую из RPMI-16840 (ПанЭко, Россия) и 0,01% гентамицин (ПанЭко, Россия) и доставлялись в лабораторию клеточных технологий Научно-исследовательского центра фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии ФГБОУ ВО

«УлГПУ им. И.Н. Ульянова». Через 2 часа ткань извлекали из ТС и проводили стандартные этапы механической и ферментативной дезагрегации. Все манипуляции с фрагментами кожи и клеточным материалом проводились в асептических условиях ламинарного бокса MSC Advantage (Thermo Scientific, США) и боксированном помещении класса чистоты В. Полученный материал помещали в раствор коллагеназы (ПанЭКО, Россия) при температуре 37°C в инкубатор СВ-53 (Binder, Германия) с содержанием CO₂ 5%. В качестве полных питательных сред была использована RPMI-1640 (ПанЭко, Россия), содержащей 15% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (ПанЭко, Россия). Культивирование осуществляли во флаконах объемом 25 см² (ТТР, Швейцария), подсчет количества клеток проводили с использованием счетчика клеток Bio-Rad TC20 (Bio-Rad, Сингапур) и красителя трипановый синий. Замена среды проводилась через каждые 2–5 сут. Формирование монослоя контролировали визуально на инвертированном микроскопе «Axio Vert. A1» (Zeiss, Германия).

Криоконсервацию клеточных линий кожи человека проводили с использованием раствора RPMI 1640 – ЭТС с содержанием 10% ДМСО (Sigma, США). Ресуспензированные клетки переносили в криовials (Nunc, США) и замораживали постепенным охлаждением с последующим хранением в низкотемпературном холодильнике при -80°C (Haier, Китай). В зависимости от срока хранения были выделены 3 группы клеточных линий: 1 группа – хранение в течение 2-х недель, 2 группа – 4-х недель, 3 группа – 6-ть недель.

На этапе выведения из криоконсервации криовиалу с клетками нагревали в инкубаторе до полного оттаивания, далее переносили в центрифужную пробирку, добавляли теплую ростовую среду и центрифугировали на центрифуге EBA 200 (Hettich, Германия) при 1300 об./мин. Отмытые от ДМСО клетки помещали в культуральные флаконы, по 5–12 культуральных чашек в каждой группе.

Статистическая обработка проводилась с использованием программного обеспечения Prism9 (GraphPad, США). Для проверки характера распределения данных использован критерий Колмогорова-Смирнова. Дальнейший анализ проводили с использованием непараметрических критериев: критерия Вилкоксона, критерия Манна-Уитни. Для анализа корреляционных связей использована ранговая корреляция Спирмена. Для сравнения медиан нескольких выборок использован критерий Краскела-Уоллиса. Данные

считали значимыми при $p < 0,05$: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ и **** $p < 0,0001$.

Результаты и их обсуждение. Данные по общему количеству клеток (ОКК) и по количеству живых клеток (КЖК) в исследуемых группах представлены в таблице 1.

Таблица 1
Показатели ОКК и КЖК в исследуемых группах (Медиана – Q25;75)

Группа		ДО заморозки / ПОСЛЕ размораживания	Количество клеток	p
1	ОКК	До	975000 (652000;1330000)	0,008**
		После	790000 (525000;1250000)	
	КЖК	До	876000 (564000; 1130000)	0,008**
		После	756000 (400000; 1000000)	
2	ОКК	До	1360000 (1250000; 1410000)	0,04*
		После	876000 (849000; 1000000)	
	КЖК	До	1310000 (1230000; 1380000)	0,04*
		После	717000 (560000; 980000)	
3	ОКК	До	1230000 (782500; 2255000)	0,002**
		После	506500 (386000; 974500)	
	КЖК	До	1023000 (662500; 2018000)	0,002**
		После	354500 (2465000; 728500)	

По результатам сравнения равенства медиан выборок с разным сроком хранения при -80°C отмечено статистически значимое различие количества жизнеспособных клеток во всех трех исследуемых группах после выведения из криоконсервации ($p < 0,0001$ ****).

По мере увеличения срока криоконсервации процентное содержание жизнеспособных клеток достоверно снижается с 95% в свежей суспензии клеток до 87% при хранении в течение 2-х недель ($p = 0,02^*$), до 84% при хранении в течение 4-х недель ($p = 0,009^{**}$), до 69% при хранении в течение 6-ти недель ($p < 0,0001$ ****) (рис. 1).

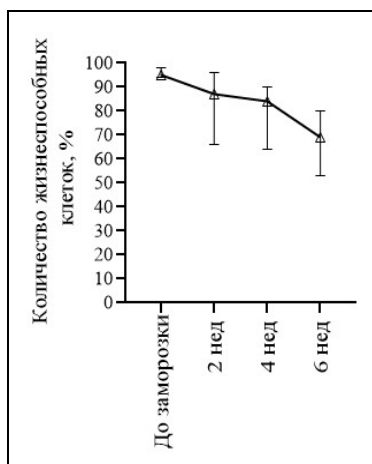


Рис. 1. Динамика содержания жизнеспособных клеток в суспензии клеток в зависимости от срока хранения криоконсервированного биоматериала

По литературным данным известно, что криоконсервация до -80°C с использованием ДМСО в качестве криопротектора позволяет сохранить жизнеспособность клеток выше 70%, однако нет исследований о влиянии длительности криоконсервации на показатели жизнеспособности клеточных линий [6]. В свою очередь полученные нами данные указывают на то, что оптимальный период хранения в ДМСО при температуре до -80°C без риска значительной потери жизнеспособности клеток клеточные линии — до 6-ти недель.

Отличительной особенностью выведенных из заморозки клеточных линий, в сравнении с контрольной группой не вводимых в заморозку, является более поздний срок формирования монослоя. Более детальный морфофункциональный анализ поведения клеточных линий кожи человека после размораживания, а также анализ показателей клеточного гомеостаза, является задачей дальнейшего исследования.

Одним из важных параметров в оценке сохранности клеток после «криоконсервации-хранения-оттаивания» является анализ динамики общего количества клеток (ОКК).

Так, по результатам полученных нами данных, в сравнении с контрольной группой, выявлено, что при хранении клеточных линий кожи человека в течение 2-х недель показатель ОКК снижается

на 19% ($p = 0,008$), показатель КЖК снижается на 14% ($p = 0,008$) (рис. 2). Снижение данных показателей может быть связано с самим фактом введения клеточной линии в режим криоконсервации, отмывкой от ДМСО, формированием внеклеточных и внутриклеточных кристаллов льда, которые механически разрушают мембрану снижая показатели КЖК [1].

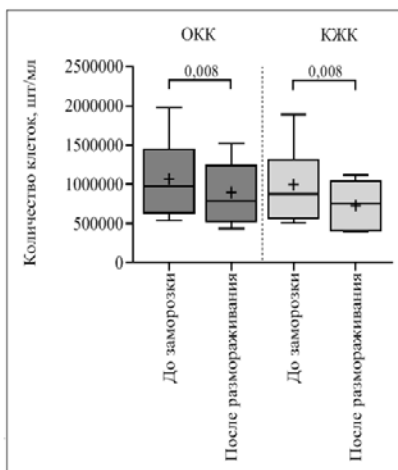


Рис. 2. Изменение общего количества клеток (ОКК) и количества живых клеток (КЖК) в группе нативных клеток до заморозки и после размораживания с хранением в течение 2 недель

При условии длительности хранения суспензии клеточный линий кожи человека в течение 4-х недель показатель ОКК снижается на 36% ($p = 0,04$), КЖК на 45% ($p = 0,04$) (рис. 3).

При условии длительности хранения суспензии клеточный линий кожи человека в течение 6-ти недель показатель ОКК снижается на 59% ($p = 0,002$), КЖК на 66% ($p = 0,002$) (рис. 4).

Таким образом, отмечается четкая корреляция снижения показателей ОКК (на 59%) и КЖК (на 66%) в зависимости от длительности криоконсервации при температуре до -80°C , в большей мере снижается показатель КЖК.

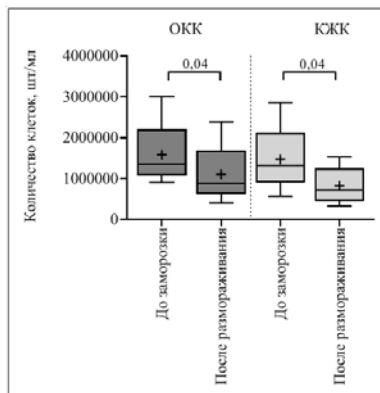


Рис. 3. Изменение общего количества клеток (ОКК) и количества живых клеток (КЖК) в группе нативных клеток до заморозки и после размораживания с хранением в течение 4 недель

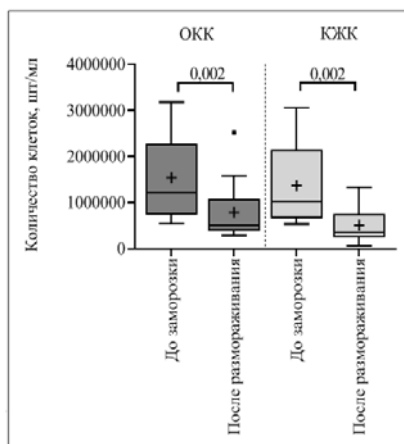


Рис. 4. Изменение общего количества клеток (ОКК) и количества живых клеток (КЖК) в группе нативных клеток до заморозки и после размораживания с хранением в течение 6-ти недель

В наших исследованиях выявлена прямая/положительная сильная корреляционная связь ОКК до криоконсервации клеточных линий кожи человека и после размораживания в группе 1 ($r = 0,98$, $p = 0,00$), средняя прямая/положительная связь в группе 3 ($r = 0,66$, $p = 0,012$) и в группе 2 ($r = 0,60$, $p = 0,18$).

Корреляционная сопряженность показателя КЖК до криоконсервации клеточных линий кожи человека и после размораживания прямая/положительная сильная в группе 1 ($r = 0,83$, $p = 0,00$), средняя прямая/положительная в группе 3 ($r = 0,62$, $p = 0,02$). В группе 2 (хранение в течение 4 недель) показатели статистически не значимы ($r = 0,70$, $p = 0,12$).

Полученные нами данные в целом согласуются с данными литературы о взаимосвязи количества замораживаемых клеток в криовиале с качеством суспензии клеточных линий после размораживания. Известно, что качество размороженного материала зависит от количества клеток в криовиале [5].

Таким образом, оптимальный период криоконсервации в ДМСО при температуре до -80°C клеточных линий кожи человека – до 6-ти недель. Длительность хранения более 6-ти недель значительно сказывается на исследуемых показателях и не рекомендуется для использования в практической деятельности.

Список литературы

1. Белоус А.М. Биохимия мембран. Замораживание и криопротекция / А.М. Белоус, Е.А. Гордиенко, Л.Ф. Розанов // Высшая школа. – М., 1987. – 80 с.
2. Gee A.P. Bone marrow processing and purging: a practical guide. – 1991. – P. 332–337.
3. Gurtovenko A.A. Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimethyl sulfoxide / A.A. Gurtovenko, J. Anwar // J. Phys. Chem. B. – 2007. – 111 (35). – P. 10453–10460. DOI 10.1021/jp073113e. EDN MHDXXV
4. Ike S. Cryopreserved allogenic fibroblast sheets: development of a promising treatment for refractory skin ulcers / S. Ike, K. Ueno, M. Yanagihara [et al.] // I. Am. J. Transl. Res. – 2022. – 14 (6). P. 3879–3892.
5. Liseth K. The viability of cryopreserved PBPC depends on the DMSO concentration and the concentration of nucleated cells in the graft / K. Liseth, J.F. Abrahamsen, S. Bjorsvik [et al.] // Cytotherapy. – 2005. – 7. – P. 328–333.
6. Naaldijk Y. Cryopreservation of dermal fibroblasts and keratinocytes in hydroxyethyl starch-based cryoprotectants / Y. Naaldijk, A.A. Johnson, A. Friedrich-Stöckigt [et al.] // BMC Biotechnol. – 2016. – 16 (85). [et al.] <https://doi.org/10.1186/s12896-016-0315-4>. EDN CGXCWJ
7. Ueno K. Freezing of cell sheets using a 3D freezer produces high cell viability after thawing // K. Ueno, S. Ike, N. Yamamoto [et al.] // Biochem. Biophys. Rep. – 2021. – 28: 101169. doi: 10.1016/j.bbrep.2021.101169. eCollection 2021 Dec.

Hussein Abobakr Mohamed Abbakar
graduate student, senior lecturer
Bauman Moscow State Technical University
Moscow

MECHANOTRANSDAUTION: HOW CELLS SENSE AND REACT TO MECHANICAL STIMULATION

Abstract: *the ability of cells to sense and respond to mechanical signals is vital in development functioning of healthy tissue. Many diseases are correlated to either changing mechanical properties of the tissue, or changes in the ability of cells to sense mechanical signals. This sensing happens in part, at integrin-associated complexes (IACs) that form sites of attachment between the cell and the extracellular matrix (ECM). In this review, we will discuss the complex mechanical signals of the ECM and it's components: how cells sense mechanical stimuli, how mechanical signals are transmitted intracellularly, and what effects those signals have on cell function.*

Since this is such a voluminous and complex topic, we have focused here on the generalities, rather than details of how a specific cell type responds to mechanical stimulation.

Keywords: *mechanotrasduction, Extracellular Matrix, ECM, Mechanical Stimuli.*

Хуссейн Абобакр Мохамед Аббакар
аспирант, старший преподаватель
ФГБОУ ВО «Московский государственный
технический университет им. Н.Э. Баумана»
г. Москва
д-р техн. наук, научный сотрудник
Научно-исследовательский институт машиностроения
Российской академии наук (математика)

DOI 10.31483/r-106759

МЕХАНОТРАНСДУКЦИЯ: КАК КЛЕТКИ ВОСПРИНИМАЮТ МЕХАНИЧЕСКУЮ СТИМУЛЯЦИЮ И РЕАГИРУЮТ НА НЕЕ

Аннотация: *способность клеток воспринимать механические сигналы и реагировать на них жизненно важна для развития и функционирования здоровой ткани. Многие заболевания связаны либо с изменением механических свойств ткани, либо с изменениями в способности клеток воспринимать механические сигналы. Частично это происходит в интегрин-ассоциированных комплексах (IAC), которые образуют участки прикрепления между клеткой и внеклеточным матриксом (ECM). В этом обзоре обсуждаются сложные механические сигналы ECM и его компонентов: как клетки воспринимают механические стимулы, как*

механические сигналы передаются внутриклеточно и какое влияние эти сигналы оказывают на функции клеток.

Поскольку это такая объемная и сложная тема, автор сосредоточился на общих чертах, а не на деталях того, как конкретный тип клеток реагирует на механическую стимуляцию.

Ключевые слова: *механотрансдукция, внеклеточный матрикс, ECM, механические стимулы.*

1. Introduction.

In human tissues, cells undergo numerous mechanical stimuli, for instance shear stresses from the blood flow or stretching and compression forces from diverse tissues associated with muscle activity [1]. Cells are encircled by an extracellular matrix (ECM) that is composed of different proteins including laminins, collagens and fibronectin to mention a few. Cells sense the intrinsic mechanical properties of the ECM by applying traction forces. The ability of cells to respond to external forces, to probe and interpret the mechanical characteristics of the ECM, and to synthesise and remodel it, play crucial roles in many facets of cell behaviour [2]. ECM stiffening in disease states (e.g. cancer and fibrosis) [1; 3] or during aging [4] can adversely affect cell migration, differentiation and proliferation. Alternatively, aberration in intracellular signals that influence the cells ability to sense and react to extracellular mechanical stimuli can also contribute to disease states including cancer [1].

The ability of cells to sense and respond to mechanical stimuli is termed mechanotransduction (*see Box 1*). Mechanotransduction requires the sensing of external forces or biomechanical properties and the transduction of this information which triggers a specific intracellular signalling response [1]. The cytoskeleton plays a critical role in mechanotransduction by linking cellular compartments (e.g. other cytoskeletal systems and the nucleus) [5] to the force-sensing apparatus.

In this paper we will discuss how cells sense mechanical stimuli, how mechanical signals are transmitted intracellularly, and what effects those signals have on cell function. We will focus our discussion on the benefits of 3D modelling in understanding cellular sensing mechanisms as well as highlighting the applications of mechanotransduction in Mechanomedicine.

<p><u>Mechanotrasduction</u> – the overall process of how cells sense a mechanical stimulus and converts it into a biochemical, intracellular response</p>
<p><u>Mechanireponse</u> – the specific response of cells to a mechanical stimuli (for example, increased protein phosphorylation; changes in gene transcription; changes in gene transcription, changes in cell behavior)</p>
<p><u>Mechanosensing</u> – the act of sensing a mechanical stimulus by a cell</p>
<p><u>Mechanosignalling</u> – an intracellular signaling event occurring in response to a mechanical stimulus</p>
<p>Mechanosensitive – a protein, or specific protein domain, that is sensitive to force by undergoing force-dependent conformational changes</p>
<p><u>Mechanotransmission</u> – the act of transmitting a force, such as transmitting intracellular forces from inside the cell to the outside to probe the ECM, or vice-versa</p>

Box 1. Terms defined. Key terminologies in

2. Components a cell needs to respond to a mechanical stimulus.

Mechanoreception.

A cell must detect the stimulus and relay the message from outside the cell (where the stimulus acts) to inside the cell [6] (where a response will ultimately be generated). To do this, cells use mechanoreceptors.

Signal transmission.

Once sensed, the mechanical signal needs to be relayed in the cell to various targets throughout the cell; cells appear to use both biochemical pathways and the cytoskeleton to transmit this signal.

Target activation.

When the signal reaches its target (usually a protein), the target is activated. This causes alterations in cell behavior through a variety of molecular mechanisms as shown in *Figure 1*.

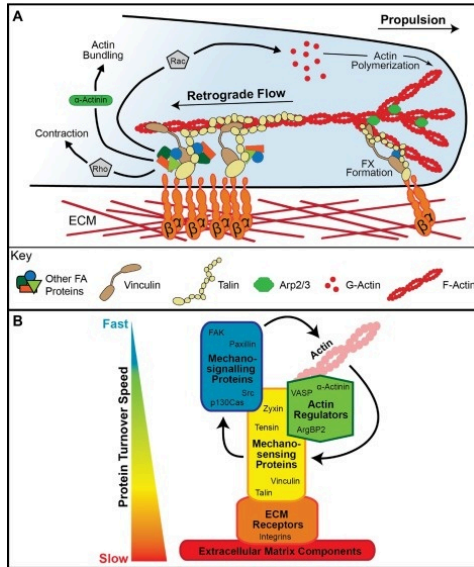


Fig. 1. The molecular clutch, protein turnover, and mechanotransduction [22]

2.1. Mechanoreceptors.

Several mechanoreceptors have been identified in this location, including integrins, stretch activated ion channels, and other cell-surface receptor proteins (*Fig.1*). are physically located in the plasma membrane, at the junction of extracellular and intracellular spaces [6].

2.1.1 Integrins.

Integrins are transmembrane proteins which link the ECM to the cytoskeleton via focal adhesion proteins in the cytoplasm. Because of the physical connection between the ECM and cytosolic components, a mechanical stimulus applied to integrins can change the structure of the cytoskeleton directly. Deformation of the cytoskeleton can have numerous consequences since the physical properties of the cell will change [6].

2.1.2 Stretch-activated ion channels.

Ion channels are proteins that span the plasma membrane, connecting the cytosol to the cell exterior. Unlike other membrane pores, which are relatively large and permissive, ion channels are really selective, allowing diffusion of specific inorganic ions across the lipid bi-

layer [7]. These ions, which include Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , and Cl^- , are involved in a multitude of cellular activities, including intracellular signaling, gene expression, transcription, translation, and protein synthesis. Ion channels are further specialized in that they are not always open – instead they are gated, meaning a specific stimulus can cause them to open briefly, thereby allowing the flow of ions either into or out of the cell depending on the electrochemical gradients. Opening of ion channels typically involves an alteration in the channel's physical configuration. In the case of mechanically gated channels, it is not entirely clear how this occurs. One possibility is that physical deformation of the plasma membrane causes conformational changes in the embedded channel protein, leading to its activation. Interestingly, while certain channels are activated by stretch, others are actually inactivated by stretch [6].

2.1.3. Cell-surface receptor proteins.

In order to respond to cues from their environment, cells rely on cell-surface receptors that connect signaling molecules to initiate an intracellular response. These cell-surface receptors are broadly classified as either G protein-linked or enzyme linked (Alberts et al [8]). Typically, receptors respond to soluble extracellular signal molecules, such as proteins, small peptides, steroids, or dissolved gases. However, there is evidence that certain cell-surface receptors are responsive to, or are at least involved in, the sensing of mechanical signals. Again, the mechanisms are not fully clear, but like stretch-activated ion channels, the conformation of cell-surface receptors may be altered by membrane deformation, switching them from an inactive to an active state. Additionally, the cytoskeleton and focal adhesions may play roles in activation of these receptors. For example, subunits of G proteins have been shown to be localized to sites of focal adhesions, in close proximity to integrins and the cytoskeleton [9].

2.2. Intracellular signal transduction.

Once a mechanical stimulus is sensed and transferred from outside the cell, the signal require transmitting to other points within the cell where a molecular response can be generated. It appears that cells rely on both physical and biochemical mechanisms to transmit mechanical signals.

2.2.1. Cytoskeleton-mediated signal transduction.

Transmission of mechanical signals via integrins can lead to deformation of the cytoskeleton, which, in turn, can impact the biochemical state of the cell. For instance, because the cytoskeleton is a continuous, dynamic network that provides mechanical connections between intracellular structures, deformation of the cytoskeleton at one location may lead to deformations of connected structures at remote locations. This «hard-wiring» within the cell means a perturbation applied locally to an integrin can cause movement of organelles [10] and distortion of the nucleus [11], possibly influencing gene expression. As mentioned above, cytoskeletal deformation can also activate other receptors, such as ion channels and G protein-linked receptors.

This «decentralization» mechanism, by which a locally applied stimulus results in mechanotransduction at multiple, mechanically coupled sites, allows for greater diversity in the cellular response than is possible with a single uncoupled receptor, since different receptors will have different sensitivities and response times and will thus respond to different local environmental cues [12].

Another possible role for the cytoskeleton in mechanotransduction is based on the observation that many proteins and enzymes involved in protein synthesis and biochemical signal transduction seem to be immobilized on the cytoskeleton [13]. It has been suggested that these regulatory molecules will experience the mechanical load imposed on the cytoskeleton as a consequence of their binding to it. The imposed load could modify the conformation of the regulatory molecules, which, in turn, would change their kinetic behavior and biochemical activity. Thus, the cytoskeleton and its associated regulatory molecules may serve as a scaffold for the transduction of mechanical signals to biochemical signals within the cell.

2.2.2. *Biochemically mediated signal transduction:*

By initiating biochemical signal transduction the biochemical signaling pathways interact with target proteins, which are responsible for altering the behavior of the cell [6].

2.3 *Cellular response to mechanical signals.*

Mechanical signals, like other extracellular signals, are able to influence cellular function at multiple levels, depending on the targets of the signaling pathways initiated by the stimulus. For example, a signaling pathway activated by a mechanical stimulus might target proteins

that regulate gene expression and the transcription of mRNA from DNA (e.g., transcription factors). Additionally, the signaling targets might be molecules involved in protein production, so that alteration of those molecules will affect translation of mRNA to proteins or post-transcriptional assembly or secretion of proteins. Since cell shape and motility are dependent on the cytoskeleton, its deformation by a mechanical stimulus can alter these cytoskeleton-dependent processes. Lastly, the production of proteins and their secretion from a cell can affect the function of neighboring cells (or even the secreting cell itself), thereby propagating the effect of the mechanical signal from one cell to several.

It is important to realize that the cellular response to a single type of stimulus can be rather complex, since activation of a single type of receptor usually activates multiple parallel signaling pathways and therefore can influence multiple aspects of cell behavior. Furthermore, at any one time, cells are receiving hundreds of different signals from their environment and their response is determined by integration of all the information they receive. Clearly, this makes things rather sophisticated, particularly if one wants to understand the response of a cell to a particular mechanical stimulus. As a result, efforts to understand the response of cells to mechanical stimuli often rely on experiments performed under controlled conditions in the laboratory [6].

3. The Extracellular Matrix ECM.

The ECM is more than just a passive network of ligands to support cell attachment: it contains different types of mechanical signals and it provides dimensionality. Our focus will be on the contribution of the physical properties of the ECM environment on cellular mechanosensing.

3.1. Mechanical properties of ECM networks.

3.1.1. Elasticity.

Elasticity (see Fig. 1A) can control many cellular processes, including the motility of a variety of cells, cell proliferation and differentiation [14], and even axon guidance of neuronal cells [15]. However, it is not only the elastic properties that play a role in modulating cell behaviour and unlike purely elastic polyacrylamide gels, tissues show stress relaxation behaviour [16].

3.1.2. Viscosity.

Indeed, fibroblast spreading on soft surfaces is enhanced if the ability to remodel the ECM is increased by introducing stress relaxation in the underlying surface (or increasing its *viscous* properties, see Fig. 1B) [17].

Also, hydrogels with more or less stress relaxation can guide stem cell fate independently of other known parameters, such as elasticity or ligand density [16]. The combination of elasticity and viscous properties, i.e. viscoelasticity (Fig. 1C), could be particularly relevant for the «more in-vivo like»

3.1.3 Viscoelasticity.

The cell generally behaves as a viscoelastic system [18]. However differently from inorganic materials, biological soft matter is inhomogeneous and generally hierarchically well organized [19] and thus reacts to mechanical stimuli by simultaneously involving several cell districts and processes, as well as protein filaments and supra-molecular and molecular structures present at different scale levels. The hierarchical organization of the cell works as a complex transducer device that converts macro-mechanical signals (pressure gradients, oscillation of organelles, etc.) to activate a biomechanical orchestra that steers a cascade of biochemical and physical coordinated events which regulate the mechanobiology and the mechanosensing of the whole cell, regulating differentiation, growth, morphogenesis and through polymerization/depolymerization based cytoskeleton structural rearrangements-migration and adhesion phenomena affecting both single-cell dynamics and macroscopic behaviours of tissue and tumour masses [20].

Microscopically, such a network recovers completely when forces are released. (B) For a viscous system, such as a dashpot or a French press, the strain increases linearly and irreversibly in time under influence of force. In other words, the system flows, where any potential bonds between fibre segments are broken and reformed continuously. Note that there is not a connected «network» in this case, but a solution of monomers or small fibre segments. The original picture is not recovered when the forces are released. (C) Biopolymer networks could roughly be considered as a combination of springs and dashpots. This can give rise to a strain dependence that shows both elastic (i.e. strain responses that are recoverable) and viscous properties (time dependent changes and non-recoverable strain). Microscopically, the original

network structure can be partly recovered (compare grey with black in the microscopic representation), but bonds between fibres could be broken and reformed, or individual fibres could show flow behaviour (resulting in lengthening of the lengthened [21], see arrow).

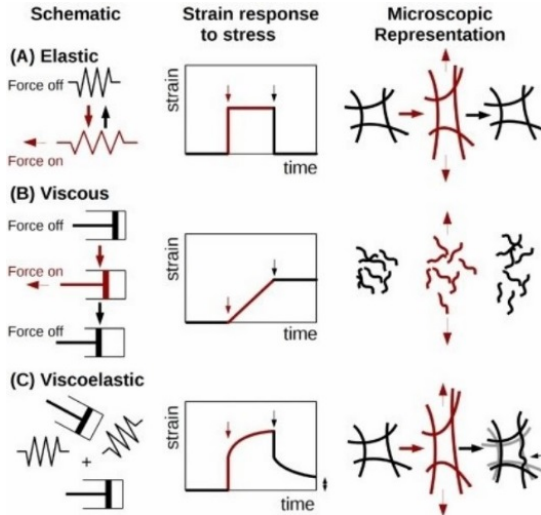


Fig. 2. [22] Biopolymer networks typically show signatures of both elastic (A) and viscous (B) properties (C). (A) For a completely elastic system, such as a mechanical spring, applied force or stress increases the strain or extension sharply in time and does not change thereafter. When the force is released, the spring returns to its original position.

4. Discussion:

In living cells, application of a mechanical stimulus causes not only a mechanical response but also a biological response. Using complex networks of sensors, transducers and actuating mechanisms, cells are capable of responding and adapting to their mechanical environment [6].

The precise mechanisms by which cells interpret mechanical information is a complex process and involves many different proteins at various compartments of the cell. In cell-ECM attachment sites mechanotransduction appears to be subdivided into modules. The mechanosensing module contains talin, vinculin and maybe other proteins that directly link integrins with actin. Other modules comprise mechanosignalling proteins (FAK and paxillin), actin polymerising factors

(e.g. Arp2/3, VASP etc.) or actin-crosslinking proteins, all of which bind actin to mediate the mechanotransduction events so as to control different aspects of cellular roles in physiology [22].

An elegant intracellular machinery beneath transduction of the complex environmental signals to biochemical cascades inside the cell. Cellular mechanotransduction is a multiscale/ multiphysics process critical for many biological functions including cell migration and differentiation. Cytoskeletal structures transmit intracellular forces to both the cell membrane and the nuclear envelope through macromolecular bridges [23].

Mechanomedicine

There are a number of medical therapies based on mechanotransduction, including manipulation of ion channels sensitive to mechanical stimuli, manipulation of tissue constructs for the treatment of heart failure, and various uses in regenerative medicine [24].

«Mechanomedicine» is a new field of therapy that uses mechanotransduction to improve health [24] Various studies have described the benefits of mechanomedicine to health, such as promoting bone formation in an osteoporotic mouse model [25] stimulating wound healing in mice with diabetes [26], controlling pressure in vivo to inhibit cancer metastasis [27] and enhancing gene expression[28] In each of these studies, mechanical vibration was used as the stimulus in vivo.

Metabolism:

Regulation of cell metabolism has been of great interest in many therapeutic applications such as cancer,[29] injury healing,[30] and drug metabolism[31] Mechanotherapy, in particular, has been applied as a noninvasive approach in tissue engineering to alter, or improve, the metabolic function of a target cell[32] In mechanotherapy, an applied physical stimulus is employed to promote tissue regeneration by exploiting a series of biochemical reactions within the cell[33] Mechanotherapy methods such as microdeformational wound therapy,[33] shock wave therapy[34] and nanovibration enhanced osteogenesis[35] have been successfully applied to relieve symptoms and promote rehabilitations toward predamaged or presurgical levels. However, despite its potential to alter the metabolic function of a target cell at the single cell level, [36] mechanotherapy is yet to be applied as a direct treatment method for a specific disease.

Acoustic-based Mechanotherapy:

A common approach that has gained popularity recently is acoustic-based mechanotherapy, in which bulk acoustic waves (BAW) with the frequency ranging from 0.1–5 MHz cause an intentional pressure disturbance within a tissue[37] to improve blood circulation,[38] and reduce cell death by either necrosis[39] or apoptosis[40] In contrast to BAW, surface acoustic waves (SAW) are typically used for operation at a higher frequency (typically 20–350 MHz) to achieve a higher precision in single cell level manipulation [41] for sorting [42; 43], patterning [44], capturing [45], and sonoporation [46] of live cells, since SAW wavelength is in the same range as typical cells' sizes. This capability points to a potential for higher accuracy and efficiency in mechanotherapy-based applications. Indeed, Devendran et al [47] recently reported a consistent increase of metabolic activity for adherent, nonmotile cells post-SAW exposure, suggesting the potential utilization of this method for single cell level mechanotherapy.

3D Modelling

Signal modulation has been developed in living cells throughout to promote utilizing the same machinery for multiple cellular functions. Chemical and mechanical modules of signal transmission and transduction are interconnected and necessary for organ development and growth. However, due to the high complexity of the intercommunication of physical intracellular connections with biochemical pathways, there are many missing details in our overall understanding of mechanotransduction processes, i.e., the process by which mechanical signals are converted to biochemical cascades. Cell-matrix adhesions are mechanically coupled to the nucleus through the cytoskeleton [48]. This modulated and tightly integrated network mediates the transmission of mechanochemical signals from the extracellular matrix to the nucleus. Various experimental and computational techniques have been utilized to understand the basic mechanisms of mechanotransduction (*figure 3*), yet many facets have remained elusive. Recently, in silico experiments have made important contributions to the field of mechanobiology. Herein, computational modeling efforts devoted to understanding integrin-mediated.

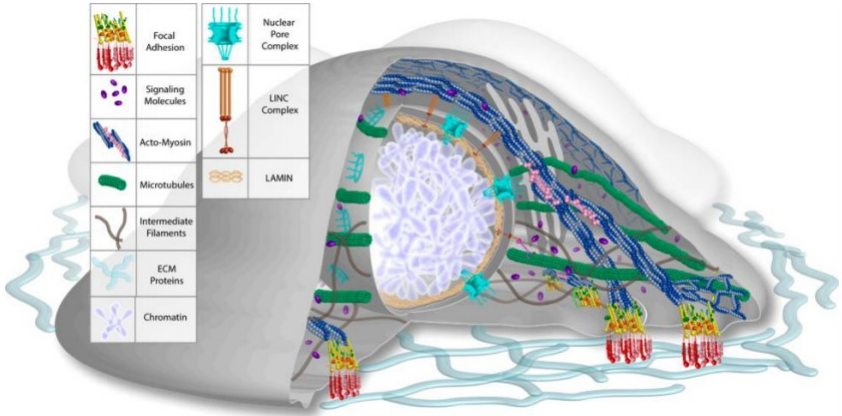


Fig. 3. Important modules involved in cellular mechanotransduction [23]

Cells sense and respond to mechanical forces through triggering intracellular biochemical cascades. Mechanical signals are transmitted through FAs from the ECM to the cytoplasm. Cytoskeletal networks consisting of actin, microtubules, and intermediate filaments are involved in generating and transmitting forces throughout the cell. These forces are ultimately transmitted to the nucleus, most likely via LINC complexes that directly couple the cytoskeletal components to the nucleoskeletal elements such as lamins. Nuclear pore complexes mediate biochemical signaling between the nucleoplasm and cytoplasm and might as well play a role in physically linking the nucleus to the cytoskeleton [23].

5. Conclusion.

Although the force-bearing properties of individual mechanotransduction modules have been widely studied and investigated there are still many unknowns regarding the structure and function of each module and the cross-talk between different modules is poorly understood [22].

One of the important gaps in the field of mechanotransduction is the full protein-protein interaction patterns and conformational states of individual proteins. For instance, each integrin receptor within the FA complex associates with a certain composition of proteins, which may result in a specific functionality of that integrin-complex for signaling with the ECM. Such an approach will provide great insights into specific roles of individual proteins in integrin-mediated signaling and

potential redundancies in their function, which is not well understood [22].

Furthermore, the amino acid composition and interactions between different domains of FA proteins can serve as means of modularity that controls how stress is compiled within the protein structure. For instance, actin binding proteins may experience tension, bending, or other types of motion depending on the local stress environment [22].

Computational modeling *figure 3 above* is a powerful tool for understanding mechanobiology of mechanotransduction modules. Specifically, molecular dynamics simulations provide detailed structural insights into the molecular mechanisms of signal transmission.

References

1. D.E. Jaalouk, J. Lammerding Mechanotransduction gone awry Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 10 (1) (2009), pp. 63–73.
2. K.A. Jansen, et al. A guide to mechanobiology: where biology and physics meet Biochim. Biophys. Acta, 1853 (11 Pt B) (2015), pp. 3043–3052.
3. P. Lu, V.M. Weaver, Z. Werb The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression J. Cell Biol., 196 (4) (2012), pp. 395–406.
4. Jess G. Snedeker, A. Gautieri The role of collagen crosslinks in ageing and diabetes – the good, the bad, and the ugly Muscles Ligaments Tendons J., 4 (3) (2014), pp. 303–308.
5. S. Cho, J. Irianto, D.E. Discher Mechanosensing by the nucleus: from pathways to scaling relationships J. Cell Biol., 216 (2) (2017), pp. 305–315.
6. C. R. Ethier and C. A. Simmons 2007, Introductory Biomechanics From Cell to Organism. Cambridge University Press.
7. H. Lodish, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, D. Baltimore et al. Molecular Cell Biology, 4th edn. New York: W. H. Freeman, 2000.
8. B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts et al. Molecular Biology of the Cell, 4th edn. New York: Garland Science, 2002.
9. C. A. Hansen, A. G. Schroering, D. J. Carey and J. D. Robishaw. Localization of a heterotrimeric G protein gamma subunit to focal adhesions and associated stress fibers. Journal of Cell Biology, 126 (1994), 811–819.
10. N. Wang, K. Naruse, D. Stamenovic, J. J. Fredberg, S. M. Mijailovich et al. Mechanical behavior in living cells consistent with the tensegrity model. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 98 (2001), 7765–7770.
11. A.J. Maniotis, C.S. Chen and D.E. Ingber. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 94 (1997), 849–854.
12. P.F. Davies. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. Physiological Reviews, 75 (1995), 519–560.
13. D.E. Ingber. Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks. Journal of Cell Science, 116 (2003), 1397–1408.
14. A.J. Engler, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification Cell, 126 (4) (2006), pp. 677–689.
15. D.E. Koser, et al. Mechanosensing is critical for axon growth in the developing brain Nat. Neurosci., 19 (12) (2016), pp. 1592–1598.
16. Ovijit Chaudhuri, L.G. Darinka Klumpers, Max Darnell, Sidi A. Bencherif, James C. Weaver, Nathaniel Huebsch, Hong-pyo Lee, Evi Lippens, Georg N. Duda, David J. Mooney

Hydrogels with tunable stress relaxation regulate stem cell fate and activity *Nat. Mater.*, 15 (2016), pp. 326–334.

17. O. Chaudhuri, et al. Substrate stress relaxation regulates cell spreading *Nat. Commun.*, 6 (2015), p. 6364.

18. S. Huvenceers, J. de Rooij Mechanosensitive systems at the cadherin-F-actin interface *J. Cell Sci.*, 126 (Pt 2) (2013), pp. 403–413.

19. A.D. Doyle, K.M. Yamada Mechanosensing via cell-matrix adhesions in 3D microenvironments *Exp. Cell Res.*, 343 (1) (2016), pp. 60–66.

20. O. Chaudhuri, et al. Substrate stress relaxation regulates cell spreading *Nat. Commun.*, 6 (2015), p. 6364.

21. S. Munster, et al. Strain history dependence of the nonlinear stress response of fibrin and collagen networks *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 110 (30) (2013), pp. 12197–12202.

22. K.A. Jansen 1, P. Atherton 1, C. Ballestrin, (2017) Mechanotransduction at the cell-matrix interface, *Seminars on cell and developmental Biology*.

23. Shams, H Soheilypour, M Peyro, et al. Looking «under the Hood» of Cellular Mechanotransduction with Computational Tools: A Systems Biomechanics Approach across Multiple Scales <https://escholarship.org/uc/item/2xc1d946>. DOI10.1021/acsbiomaterials.7b001177

24. Naruse, K., MECHANOMEDICINE: applications of mechanobiology to medical sciences and next-generation medical technologies. *J. Smooth Muscle Res.* 2018, 2018, 83–90 [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar].

25. Wang, H., Brennan, T. A., Russell, E., Kim, J. H. et al. R-Spondin 1 promotes vibration-induced bone formation in mouse models of osteoporosis. *J. Mol. Med.* 2013, 91, 1421–1429 [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar].

26. Weinheimer-Haus, E. M., Judex, S., Ennis, W. J., Koh, T. J., Low-intensity vibration improves angiogenesis and wound healing in diabetic mice. *PLoS One.* 2014, 9, e91355 [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar].

27. Morikura, T., Miyata, S. Effect of mechanical compression on invasion process of malignant melanoma using in vitro three-dimensional cell culture device. *Micromachines.* 2019, 10 10.3390/mi10100666 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].

28. Shikata, T., Shiraishi, T., Tanaka, K., Morishita, S. Effects of amplitude and frequency of vibration stimulation on cultured osteoblasts. *Proceedings of the ASME International Design Engineering Technical Conference and Information in Engineering Conference, Vol 1, Pts a-C.* 2008, 339–346.

29. Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11 (2): 85–95. doi: 10.1038/nrc2981. PMID: 21258394.

30. Woo SL, Abramowitch SD, Kilger R, Liang R. Biomechanics of knee ligaments: injury, healing, and repair. *J Biomech.* 2006;39(1):1–20. doi: 10.1016/j.jbiomech.2004.10.025. Epub 2005 Jan 7. PMID: 16271583.

31. Nielsen J, Keasling JD. Engineering Cellular Metabolism. *Cell.* 2016 Mar 10;164(6):1185–1197. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.004. PMID: 26967285.

32. Khan KM, Scott A. Mechanotherapy: how physical therapists' prescription of exercise promotes tissue repair. *Br J Sports Med.* 2009 Apr;43(4):247–52. doi: 10.1136/bjism.2008.054239. Epub 2009 Feb 24. PMID: 19244270; PMCID: PMC2662433.

33. Huntington JA, Read RJ, Carrell RW. Structure of a serpin-protease complex shows inhibition by deformation. *Nature.* 2000 Oct 19; 407 (6806): 923–6. doi: 10.1038/35038119. PMID: 11057674.

34. Rakita A, Nikolić N, Mildner M, Matiassek J, Elbe-Bürger A. Re-epithelialization and immune cell behaviour in an ex vivo human skin model. *Sci Rep.* 2020 Jan 8;10(1):1. doi: 10.1038/s41598-019-56847-4. PMID: 31913322; PMCID: PMC6959339.

35. Orapiriyakul W, Tsimbouri MP, Childs P, Campsie P, Wells J, Fernandez-Yague MA, Burgess K, Tanner KE, Tassieri M, Meek D, Vassalli M, Biggs MJP, Salmerson-Sanchez M, Orefo ROC, Reid S, Dalby MJ. Nanovibrational Stimulation of Mesenchymal Stem Cells Induces

Therapeutic Reactive Oxygen Species and Inflammation for Three-Dimensional Bone Tissue Engineering. *ACS Nano*. 2020 Aug 25;14(8):10027–10044. doi: 10.1021/acsnano.0c03130.

36. Rakita A, Nikolić N, Mildner M, Matiasiek J, Elbe-Bürger A. Re-epithelialization and immune cell behaviour in an ex vivo human skin model. *Sci Rep*. 2020 Jan 8;10(1):1. doi: 10.1038/s41598-019-56847-4. PMID: 31913322; PMCID: PMC6959339.

37. Leibacher I, Reichert P, Dual J. Microfluidic droplet handling by bulk acoustic wave (BAW) acoustophoresis. *Lab Chip*. 2015 Jul 7; 15 (13):2896–905. doi: 10.1039/c5lc00083a. Epub 2015 Jun 3. PMID: 26037897.

38. Kuo YR, Wang CT, Wang FS, Chiang YC, Wang CJ. Extracorporeal shock-wave therapy enhanced wound healing via increasing topical blood perfusion and tissue regeneration in a rat model of STZ-induced diabetes. *Wound Repair Regen*. 2009 Jul-Aug; 17 (4): 522–30. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00504.x. PMID: 19614917.

39. Ludwig J, Lauber S, Lauber HJ, Dreisilker U, Raedel R, Hotzinger H. High-energy shock wave treatment of femoral head necrosis in adults. *Clin Orthop Relat Res*. 2001 Jun; (387): 119–26. doi: 10.1097/00003086-200106000-00016. PMID: 11400872.

40. Huang C, Holfeld J, Schaden W, Orgill D, Ogawa R. Mechanotherapy: revisiting physical therapy and recruiting mechanobiology for a new era in medicine. *Trends Mol Med*. 2013 Sep;19(9):555–64. doi: 10.1016/j.molmed.2013.05.005. Epub 2013 Jun 18. PMID: 23790684.

41. Devendran C, Albrecht T, Brenker J, Alan T, Neild A. The importance of travelling wave components in standing surface acoustic wave (SSAW) systems. *Lab Chip*. 2016 Sep 21; 16 (19): 3756–3766. doi: 10.1039/c6lc00798h. PMID: 27722363.

42. Shi J, Huang H, Stratton Z, Huang Y, Huang TJ. Continuous particle separation in a microfluidic channel via standing surface acoustic waves (SSAW). *Lab Chip*. 2009 Dec 7;9(23):3354–9. doi: 10.1039/b915113c. Epub 2009 Oct 12. PMID: 19904400.

43. Gai J, Nosrati R, Neild A. High DNA integrity sperm selection using surface acoustic waves. *Lab Chip*. 2020 Nov 10;20(22):4262–4272. doi: 10.1039/d0lc00457j. PMID: 33073274.

44. 37D. J. Collins, B. Morahan, J. Garcia-Bustos, C. Doerig, M. Plebanski, Two dimensional single cell patterning with one cell driven by surface Acoustic waves. A. Neild, *Nat. Commun*. 2015, 6, 1.

45. W. Drinkwater, A Perspective on acoustical tweezers-devices, forces, and biomedical applications *Appl. Phys. Lett*. 2020, 117, 180501. DOI 10.1063/5.0028443

46. L. Meng, X. Liu, Y. Wang, W. Zhang, W. Zhou, F. Cai, F. Li, J. Wu, L. Xu, L. Niu, H. Zheng, Sonoporation of Cells by a Parallel Stable Cavitation Microbubble Array *Adv. Sci*. 2019, 6, 1900557.

47. C. Devendran, J. Carthew, J. E. Cell Adhesion, Morphology, and Metabolism Variation via Acoustic Exposure within Microfluidic Cell Handling Systems, Frith, A. Neild, *Adv. Sci*. 2019, 6, 1902326.

БИОХИМИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

Зимнуров Айдар Раилевич
лаборант-исследователь, бакалавр

Рашитова Софья Денисовна
бакалавр, лаборант-исследователь

Цвилик Лев Николаевич
лаборант-исследователь, бакалавр

Иванушкин Анатолий Сергеевич
лаборант-исследователь, магистрант

Фирсова Наталья Викторовна
канд. биол. наук, старший научный сотрудник

Ачилов Атабег Батырович
магистрант, младший научный сотрудник

Антонова Елена Ивановна
д-р биол. наук, профессор, директор
Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-107056

УРОВЕНЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЫ С КЛИНИЧЕСКИМ ДИАГНОЗОМ АТОПИЧЕСКИЙ ДЕРМАТИТ

Аннотация: в статье приведены исследования уровня содержания иммуноглобулинов E, G, A, M в периферической крови детей различной возрастной группы с клиническим диагнозом атопический дерматит (данные за 2019 год).

Ключевые слова: атопический дерматит, иммуноглобулины, дети, периферическая кровь.

Атопический дерматит – хроническое аллергическое иммунозависимое воспаление, развивающееся у лиц с генетической предрасположенностью к атопии и признаками развития вторичного иммунодефицитного состояния, с возрастными особенностями клинических проявлений и характеризующееся, повышением уровня сывороточного IgE и гиперчувствительностью к специфич-

ческим (аллергенным) и неспецифическим раздражителям, нередко приводящую к инвалидности детей [1, 2, 3]. Данное заболевание представляет собой серьёзную проблему общественного здравоохранения в связи со значительно выраженными социоэкономическими последствиями и влиянием на качество жизни. Чаще атопический дерматит встречается у детей младше пяти лет: у 48–75% из них симптомы заболевания появляются в возрасте до шести месяцев.

Развитию атопического дерматита способствует ослабление барьерной функции кожи и слизистых, в связи, с чем имеется тенденция к вторичному инфицированию и усугублению воспалительного процесса в очагах.

Дебют атопического дерматита у детей связан чаще всего с пищевыми аллергенами, но в последующем факторами, провоцирующими обострения заболевания, могут стать пыльцевые, бытовые, грибковые, эпидермальные, бактериальные и вирусные аллергены [7]. У большинства больных атопическим дерматитом выявляется обсемененность кожных покровов *Staphylococcus aureus*, который может вызвать обострение заболевания и способствовать поддержанию аллергического воспаления кожных покровов посредством секреции токсинов-суперантигенов, вызывающих стимуляцию Т-лимфоцитов и макрофагов, что приводит к повышенной продукции провоспалительных цитокинов. В возрасте 4–7 лет пищевая аллергия теряет доминирующее значение в манифестации атопического дерматита, в то же время возрастает роль таких этиологически значимых факторов, как бытовые (библиотечная пыль, синтетические моющие средства), клещевые (*Dermatophagoides Farinae*, *Dermatophagoides Pteronissinus*), грибковые (*Candida albicans*, *Saccaromyces cerevisiae* and *minor* и *Pityosporum*) при атопическом дерматите [5], эпидермальные (шерсть собаки, кошки, кролика, овцы) и пыльцевые (злаковые и сорные травы, деревья) аллергены.

По результатам международных исследований, его распространённость среди детей в США составляет 17%, в Европе – 15,6%, в РФ – от 6,2% до 15,5%. В структуре аллергических болезней у детей на долю атопического дерматита приходится 50–75%.

Ключевую роль в развитии atopического дерматита играет IgE-опосредованный механизм [4]. В большинстве случаев у детей с atopическим дерматитом отмечается повышенный уровень общего IgE в сыворотке крови, преобладают активированные CD4-лимфоциты с фенотипом Th2, способствующие повышенному синтезу IgE. Отмечается дисбаланс со стороны иммунологических показателей: снижается относительное количество CD3-, CD8-субпопуляции лимфоцитов, повышается абсолютное количество В-лимфоцитов в сыворотке крови, снижается уровень иммуноглобулинов основных классов (IgA, IgM, IgG,) при резко повышенном уровне общего IgE, значительно снижаются показатели фагоцитоза (ФАН, ФИ и НСТ-тест) и повышается уровень провоспалительного цитокина (ИЛ-1 β) [8, 6]. С позиций современных достижений клинической иммунологии и генетики, атопия определяется как генетически детерминированная способность организма к повышенной продукции IgE [9], связанной с Th2-клеточным иммунным ответом на экзогенные или эндогенные аллергены. В настоящее время известно около 30 генов, ответственных за развитие аллергии, установлена их локализация на 1, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 21 хромосомах. На хромосоме 5q31–33 локализованы гены, кодирующие продукцию ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-13, КСФ-ГМ, поэтому она является одной из главных хромосом, связанных с развитием атопии. Однако основной ген, ответственный за развитие atopического процесса в целом до сих пор не идентифицирован.

В связи с этим *цель* исследования – провести анализ уровня содержания иммуноглобулинов E, G, A, M в периферической крови детей различной возрастной группы с клиническим диагнозом atopический дерматит.

Материалы и методы исследования. В 2019 г. проведены 22 исследования по анализу уровня в периферической крови иммуноглобулинов у детей (13 мальчиков и 9 девочек) в возрастной категории от 1 года до 17 лет с atopическим дерматитом (АД). Первую возрастную группу (рис. 1) составили дети от 1 до 2 лет ($n = 2$), вторую – от 3 до 5 лет ($n = 13$), третью – от 6 до 8 лет ($n = 3$), четвертую от 12 до 17 лет ($n = 4$).

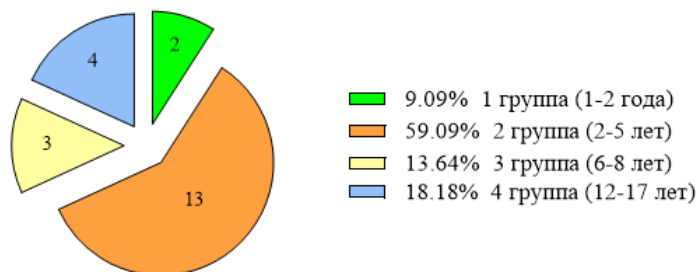


Рис. 1. Количество детей в исследуемых возрастных группах

Определение уровня иммуноглобулинов проводили методом количественного иммуноферментного анализа на анализаторе ImmunoChem-2100 (High Technology, США) с использованием наборов Вектор Бест IgA, IgM, IgG общий-ИФА-БЕСТ и Вектор Бест количественный IgE-общий (производитель Россия, г. Новосибирск), по инструкции производителя.

Результаты и обсуждение. По результатам полученных данных уровень IgE в периферической крови детей относительно контроля в 1-й возрастной группе превышен в 11 раз, во 2-й, 3-й и 4-й группах – находится в пределах референсных значений (табл. 1).

Таблица 1
Показатели уровня IgE в периферической крови детей различных возрастных групп

Референсные значения, МЕ/мл	Уровень IgE, МЕ/мл			
	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
0 – 70	392,6	39,2	41,7	24,4

Уровень IgA в 1-й возрастной группе в сравнении с референсными показателями увеличен в 4 раза, во 2-й группе – в 3,5 раза, в 3-й – в 2,5 раза, в 4-й – в 2 раза (рис. 2). Таким образом, превышение уровня иммуноглобулина относительно контроля с увеличением возраста снижается (с 4 до 2 раз), что согласуется с литературными данными [10].

Уровень содержания IgG в периферической крови в сравнении с референсными показателями в 1-й и 4-й возрастных группах практически не проявляет выраженный отличий от референсных

показателе. Только во 2-й и 3-й группе отмечено увеличение в 1,2 и 1,3 раза соответственно (рис. 3).

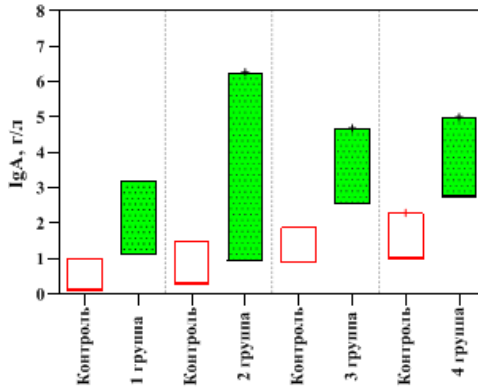


Рис. 2. Иммуноглобулин А (IgA) в разных возрастных группах

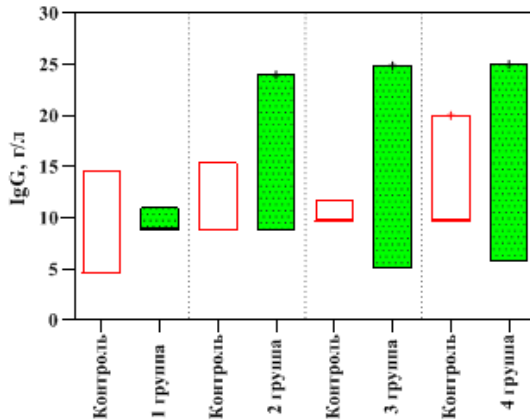


Рис. 3. Иммуноглобулин G в разных возрастных группах.

Уровень IgM в периферической крови пациентов первой возрастной группы находится в пределах референсных значений, во второй возрастной группе отмечено увеличение в 2,4 раза, в третьей – в 2 раза, в четвертой – в 5 раз (рис. 4).

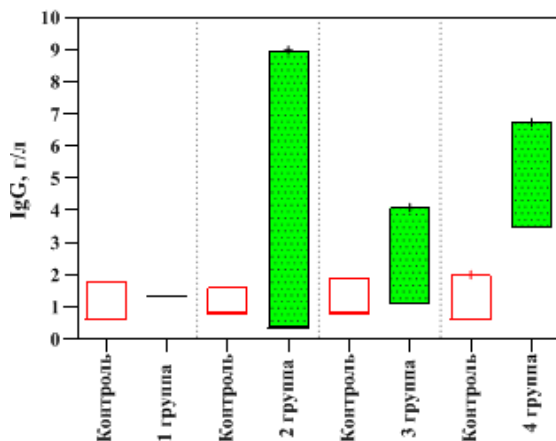


Рис. 4. Иммуноглобулин М в разных возрастных группах

Исходя из вышесказанного, отмечена возрастная динамика основных классов иммуноглобулинов в различных возрастных группах. Так, в частности выявлено, что у детей в возрасте от года до двух лет отмечен самый высокий уровень IgE, в остальных группах в пределах референсных значений. Известно, что при atopическом дерматите имеется дисбаланс Т-клеток с преобладанием Т-хелперов 2-го типа, в связи с чем выделяют пациентов с IgE- и не IgE-опосредованными реакциями, лежащими в основе развития данного заболевания. Первичная функция IgE определена как триггерная для немедленной гиперчувствительности (реакции I типа). IgE синтезируется в лимфоузлах, селезенке, костном мозге, миндалинах и экзокринных железах, локально на поверхности слизистых, преимущественно в верхней части респираторного тракта, играет роль в защите слизистых оболочек дыхательных путей от респираторных инфекций. Клинически аллерген-индуцированные реакции ассоциированы с IgE-сопровождаются высвобождением тучными клетками различных медиаторов, цитокинов, факторов хемотаксиса лейкоцитов в местные ткани в течение 15–60 минут после экспозиции аллергена, отражая тяжесть клинического течения заболевания.

Уровень IgA, также самый высокий в возрасте от года до двух лет, далее отмечается тенденция снижения уровня иммуноглобули-

на, тем не менее оставаясь выше показателей нормы, что соответствует данным литературных источников [10].

Уровень IgG не проявляет выраженных изменений, за исключением незначительного повышения в группах детей от 2–5 лет и от 6–8 лет. Учитывая, что у детей уже в возрасте 3 месяцев наблюдается синтез IgG-антител как к аэроаллергенам, так и к пищевым антигенам, наблюдаемые результаты течения атопического дерматита во всех возрастных группах детей скорее всего не вызван действием пищевых аллергенов. Выработка иммуноглобулинов IgG к пищевым аллергенам, начинающаяся в неонатальном периоде, постепенно убывает к 1-му году жизни, сменяясь ростом продукции IgE-антител, что отмечается у детей как с нормальным, так и атопическим типом иммунного ответа [1].

Уровень IgM – отмечено увеличение уровня во всех возрастных группах с стойким увеличением с возрастом, максимальное превышение показателя отмечено у детей в возрасте от 12 до 17 лет. Иммуноглобулин M относится к «ранним», представляет собой основную массу антител, продуцируемых организмом новорожденных при инфицировании и вакцинации, обладает высокой овидностью, активирует комплемент по классическому пути, защищает организм от вирусов и бактерий, не проходит через плаценту. На каждый «новый» для организма антиген образуется антитела класса IgM. Антитела класса IgM, которые в норме первыми секретируются при гуморальном ответе иммунной системы на первичный контакт организма с антигеном и являются показателями острого инфекционного процесса. По всей видимости атопический дерматит пациентов второй возрастной группы сопряжен с течением инфекционного процесса в большей мере в сравнении с третьей и четвертой группой. Очень важными свойствами IgM являются привлечение ими фагоцитирующих клеток в места расположения антигена или в очаг инфекции и активация фагоцитоза.

Список литературы

1. Касохов Т.Б. Атопический дерматит у детей / Т.Б. Касохов, З.А. Цораева, В.В. Касохова [и др.] // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2016. – №1. – С. 8–26. EDN WLXHOR
2. Моргуль Е.В. Содержание иммуноглобулина е, гормонов и перекисей у детей с атопическим дерматитом / Е.В. Моргуль, Т.С. Колмакова, О.С. Оксенюк // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2016. – №1. – С. 37–40. EDN TWREVM

3. Самойликов П.В. IgE- и IgG-аутореактивность у детей с atopическим дерматитом / П.В. Самойликов, В.Б. Гервазиева, С.А. Кожевников // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2012. – №1. – С. 97–103. EDN PBBPOD
4. Crespo J.F. Recent advances in cellular and molecular mechanisms of IgE-mediated food allergy / J.F. Crespo, B. Cabanillas // Food Chem. 2023. 15; 411: 135500.
5. Elluru S.R. The protective role of immunoglobulins in fungal infections and inflammation / S.V. Kaveri, J. Bayry // Semin. Immunopathol. 2015. 37 (2). P. 187–197.
6. Odales J. Immunogenic properties of immunoglobulin superfamily members within complex biological networks / J. Odales, J.G. Valle, F. Martínez-Cortés, K. Manoutcharian // Cell Immunol. – 2020. – 358:104235.
7. Rio-Aige K. The Breast Milk Immunoglobulinome / K. Rio-Aige, I. Azagra Boronat, M. Castell, et al. // Nutrients. – 2021. – 13. – 1810. DOI 10.3390/nu13061810. EDN NTWWXO
8. Shamji M.H. The role of allergen-specific IgE, IgG and IgA in allergic disease / M.H. Shamji, R. Valenta, T. Jardeztzy [et al.] // Allergy. – 2021. – 76 (12). – P. 3627–3641.
9. Vitte J. Ulrich blank allergy, anaphylaxis, and nonallergic hypersensitivity: IgE, mast cells, and beyond / J. Vitte, S. Vibhushan, M. Bratti, et al. // Med. Princ. Pract. 2022. №31 (6). P. 501–515.
10. Yang Y. Immunoglobulin A and the microbiome / Y. Yang, N.W. Palm // Curr. Opin. Microbiol. – 2020. – №56. – P. 89–96.

Локтева Анна Сергеевна
аспирант

ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный
университет им. П.А. Столыпина»
г. Омск, Омская область

ВЛИЯНИЕ ПРЕ- И ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТЕЛЯТ С ДИАРЕЙНЫМ СИМПТОМОКОМПЛЕКСОМ

***Аннотация:** в статье описано влияние сочетанного применения пребиотика Декстраналь-40 с пробиотиком Ветом 1 и бактериальной суспензией, содержащей *Vacillus spp. F*, на иммунологические и биохимические показатели крови телят с диарейным симптомокомплексом. Отмечено повышение концентрации лимфоидных клеток и функциональной активности лейкоцитов. На фоне применения препаратов у телят наблюдали высокий уровень каротина, необходимый для нормального роста и развития телят.*

***Ключевые слова:** телята, диарея, пребиотики, пробиотики, биохимические, иммунологические показатели.*

Несмотря на стремительное развитие животноводства и внедрение новых технологий содержания крупного рогатого скота, диарея новорожденных телят остается одним из наиболее распространенных заболеваний. При этом не прекращается поиск

средств, регулирующих кишечный микробиом и естественную резистентность животных [1, с. 100]. Пробиотики позволяют создать в кишечнике новорожденного животного естественный биоценоз, участвуют в регуляции метаболических процессов и одним из положительных факторов является безвредность, так как в кишечник поступают уже готовые полезные бактерии, которые могут продуцировать антибиотики, органические кислоты, менять окислительно-восстановительную способность, что позволяет конкурировать с условно-патогенной микрофлорой [2, с. 23; 3, с. 47].

Для профилактики и лечения желудочно-кишечных болезней молодняка животных также применяют пребиотики. Особый интерес для ветеринарной фармакологии представляют препараты на основе окисленных декстранов, так как они обладают высокой биосовместимостью с организмом, иммуномодулирующей активностью, не проявляют аллергенных свойств, способствуют выведению из организма токсических веществ, продуктов обмена веществ, тяжелых металлов и радионуклидов [4, с. 50; 5, с. 34].

В связи с этим была поставлена цель – оценить влияние сочетанного применения пребиотика Декстраналь-40 и пробиотиков Ветом 1 и *Bacillus spp. F* на иммунобиохимические показатели телят с диарейным симптомокомплексом.

Материалы и методы исследования. В условиях животноводческого хозяйства молочного направления были сформированы 3 группы телят с клиническими признаками диареи по 5 голов: две опытные и одна контрольная. Телятам первой опытной группы выпаивали Декстраналь-40 в сочетании с Ветомом 1; второй выпаивали Декстраналь-40 с бактериальной суспензией *Bacillus spp. F*. Животных контрольной группы лечили по схеме, утвержденной в хозяйстве (таблица 1). Наблюдение за телятами осуществляли в течение 15 суток.

Оценку неспецифической резистентности телят проводили с помощью методов оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов. С этой целью определяли лизосомально-катионные белки (ЛКБ) по методу М.Г. Шубича с бромфеноловым синим и активность миелопероксидазы по методу Грэхем-Кнолля с использованием бензидаина. Также оценивали кислород-

продуцирующую активность нейтрофилов в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в спонтанном и стимулированном вариантах с фотометрической оценкой результата.

Таблица 1
Схема перорального применения пре- и пробиотиков телятам с диарейным симптомокомплексом

Группа	Препарат	Дозировка и способ введения	Кратность введения препарата
I опытная	Декстраналь-40	20 мг/кг внутрь с водой	Раз в три дня, в течение 15 суток
	Ветом 1	50 мг/кг внутрь с молоком	Двукратно, ежедневно, до исчезновения клинических признаков болезни
II опытная	Декстраналь-40	20 мг/кг внутрь с водой	Раз в три дня, в течение 15 суток
	Бактериальная суспензия <i>Bacillus spp. F</i> ($0,5 \times 10^9$ м.т./мл)	1 мл/кг внутрь с молоком	Двукратно, ежедневно, в течение 10 суток
Контрольная	Амоксициллин-150	1 мл на 10 кг массы тела, внутримышечно	Однократно

Результаты исследований. По окончании срока наблюдения было проведено исследование показателей естественной резистентности у телят (табл. 2).

На основании проведенных исследований установили, что в крови телят первой группы после выпаивания препаратов число лейкоцитов было выше в 1,44 раза ($p < 0,001$), лимфоцитов в 1,3 раза ($p < 0,01$) относительно показателей телят контрольной группы. В крови телят второй опытной группы число лейкоцитов было выше в 1,53 раза ($p < 0,001$), лимфоцитов в 1,73 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Наблюдали высокую концентрацию всех лимфоидных клеток у телят первой опытной группы, однако достоверного увеличения ($p < 0,01$) достигала только популяция В-лимфоцитов. У телят второй группы также регистрировали высокую концентрацию лимфоидных клеток, при этом достоверного увеличения достигали как популяция В-лимфоцитов ($p < 0,01$), так и Т-лимфоцитов ($p < 0,05$).

Наряду с этим у телят первой группы уровень ЛКБ был в 1,23 раза ($p < 0,05$) выше, чем у телят в контроле, а ферментативная

активность МПО выше в 1,43 раза ($p < 0,001$), что указывает на повышенную функциональную активность лейкоцитов животных.

Таблица 2

Показатели естественной резистентности у телят с диарейным симптомокомплексом на фоне применения препаратов, $M \pm m$

Показатель, ед. измерения	I опытная группа	II опытная группа	Контрольная группа
Лейкоциты, тыс/мкл	9,68±0,49***	10,28±0,12***	6,72±0,21
Лимфоциты, тыс/мкл	5,48±0,21**	7,27±0,23***	4,19±0,34
T-лимфоциты, тыс/мкл	0,91±0,07	0,99±0,05*	0,72±0,07
B-лимфоциты, тыс/мкл	1,61±0,19**	1,47±0,15**	0,81±0,05
Цитотоксические T-лимфоциты, тыс/мкл	1,17±0,12	1,16±0,05	0,96±0,07
ЛКБ, у.е.	1,42±0,09*	1,04±0,09	1,15±0,06
МПО, у.е.	1,56±0,10**	1,23±0,10	1,09±0,08
спонтанный НСТ-тест, у.е.оп.пл	0,56±0,02	0,51±0,03	0,58±0,04
стимулированный НСТ-тест, у.е.оп.пл	0,44±0,02	0,54±0,06	0,46±0,03
Функциональный резерв нейтрофилов (КС)	0,79±0,03	1,10±0,13	0,84±0,13

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Полученные результаты позволили оценить степень положительного влияния препаратов на метаболический статус телят. Результаты биохимических исследований сыворотки крови телят после выпойки препаратов представлены в таблице 3.

Таблица 3

Биохимические показатели сыворотки крови телят с диарейным симптомокомплексом на фоне применения препаратов, $M \pm m$

Показатель	I опытная группа	II опытная группа	Контрольная группа
Каротин, мг%	0,075±0,003*	0,050±0,003*	0,026±0,002
Общий белок, г/л	65,72±1,071	58,22±2,2	67,12±2,615
Креатинин, мкмоль/л	88,22±1,415	92,7±9,25	89,54±10,678
Кальций, ммоль/л	2,22±0,086	2,7±0,07	2,94±0,307
Глюкоза, ммоль/л	6,84±0,110	7,22±0,39	7,34±0,350
Мочевина, ммоль/л	4,46±0,488	4,27±0,97	3,12±0,330

Примечание: * $p < 0,001$.

Система биотрансформации β -каротина отсутствует в первые дни после рождения теленка, и появляется у большинства животных в месячном возрасте.

Установлено, что у животных контрольной группы уровень каротина снижен даже по сравнению с нормой для новорожденных телят. У животных первой и второй опытных групп после применения препаратов наблюдали уровень каротина в 2,88 раза ($p < 0,001$) и в 1,92 раза ($p < 0,001$) выше, чем в контрольной.

У животных обеих опытных групп не отмечено статистически значимых изменений других представленных показателей. Различия в содержании общего белка, креатинина, мочевины по сравнению с группой контроля минимальны, что свидетельствует о хорошей переносимости используемых препаратов.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о том, что выпаивание Декстранала-40 в сочетании с Ветомом 1 и *Bacillus spp. F* вызывает тенденцию к увеличению лимфоидных клеток, повышая их функциональную активность.

Также отмечается высокий уровень каротина, который необходим для нормального роста и развития молодняка.

Список литературы

1. Иванюк В.П. Этиопатогенез и эффективность лечебных приемов при диспепсии телят / В.П. Иванюк, Г.Н. Бобкова // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сборник научных трудов Национальной научно-практической конференции. – Брянск, 2020. – С. 100–108.
2. Башаров А.А. Использование пробиотиков серии «Витафорт» при выращивании телят молочного периода / А.А. Башаров, Ф.С. Хазиахметов // Вестник Башкирского ГАУ. – 2010. – №1. – С. 23–25.
3. Андреева А.В. Профилактика желудочно-кишечных расстройств у новорожденных телят и поросят отъемного периода фитопробiotиками / А.В. Андреева, О.Н. Николаева // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2010. – №2. – С. 47–52.
4. Балыбина Н.Ю. Влияние способов введения биотинилированного производного окисленного декстрана на показатели клеточного иммунитета лабораторных животных / Н.Ю. Балыбина, В.Ю. Коптев, И.С. Онищенко [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – №2. – С. 50–54.
5. Пенькова И.Н. Применение препарата «Декстранал» для профилактики желудочно-кишечных болезней молодняка сельскохозяйственных животных / И.Н. Пенькова, Н.Ю. Балыбина, В.Ю. Коптев [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2021. – №2. – С. 34–37.

Лугаськова Наталья Васильевна

канд. биол. наук, доцент

Сафронова Елена Борисовна

старший преподаватель

ФГБОУ ВО «Уральский государственный
университет путей сообщения»

г. Екатеринбург, Свердловская область

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НЕГАТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕДПРИЯТИЙ ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНОГО ТРАНСПОРТА

Аннотация: проанализированы основные источники и факторы воздействия железнодорожного транспорта на окружающую среду. Рассмотрены возможности использования живых организмов в качестве тест-объектов при оценке качества сточных вод, образующихся в результате деятельности железнодорожных предприятий и корректировке степени их очистки перед выпуском в природную среду. Методика применялась для предварительной оценки качества сточных вод предприятий железнодорожного транспорта. Выделены приоритетные направления профилактической токсикологии в оценке опасности химических веществ от предприятий железнодорожного транспорта.

Ключевые слова: железнодорожный транспорт, сточные воды, токсикологическая оценка, биоиндикация, тест-объект, скрининг-анализ.

Одной из самых серьёзных проблем влияния техносферы на природную среду является химическое загрязнение потенциально опасными токсическими веществами. Концентрации загрязняющих веществ в атмосфере, почве, водоёмах, находящихся в черте города, превышает допустимые значения и это негативно сказывается на здоровье человека. Влияние опасных токсических веществ на организм человека зависит от огромного количества факторов: химического состава, концентрации, продолжительности воздействия, способности включаться в пищевые цепи, длительности воздействия. Необходимо также учитывать, что многие химические вещества, являющиеся нейтральными для здоровья человека, при определенных условиях (нагревание, деструкция материала) могут стать опасными и оказывать токсическое действие на организм.

Среди антропогенных источников воздействия на окружающую среду, приводящих к появлению и накоплению опасных токсических веществ, значительный вклад вносит транспортная отрасль, в частности предприятия железнодорожного транспорта. На долю железных дорог в России приходится около половины пассажирских и более 90% грузовых перевозок [1]. Воздействие железнодорожного транспорта на окружающую среду обусловлено строительством железных дорог, производственно-хозяйственной деятельностью предприятий, эксплуатацией подвижного состава и сжиганием топлива. При этом необходимо иметь в виду, что, с одной стороны, предприятия железнодорожного транспорта являются активными природопользователями, а с другой стороны, вклад железнодорожного транспорта в загрязнение окружающей среды менее значим по сравнению с другими видами транспорта. Это связано с относительно низким удельным расходом топлива на единицу транспортной работы, меньшим отчуждением земель под строительство железных дорог, по сравнению, например, с автодорогами, а также широким применением электрической тяги. Кроме того, важнейшим фактором является приоритетность природоохранных и экологических проблем в политике ОАО РЖД. Распоряжением от 13 февраля 2009 г. №2933 была принята Экологическая стратегия ОАО «РЖД» на период до 2017 г. и на перспективу до 2030 г. [2]. В этом документе корпорация берет на себя ответственность не только за выполнение своих прямых функций как основного перевозчика грузов и пассажиров, но и за экологическую безопасность, благополучие природной среды и здоровье человека в пределах территорий железных дорог и предприятий железнодорожного транспорта. В рамках программы реализации Экологической стратегии ОАО РЖД в 2020 г (по сравнению с базовым, 2007 г) произошло снижение выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух от передвижных источников на 25%, от стационарных источников на 68%. Передвижные источники (маневровые и магистральные локомотивы, путеремонтные машины) и стационарные источники (котельные, пункты реостатных испытаний локомотивов и пункты сушки песка) вносят основной вклад в загрязнение атмосферного воздуха такими веществами, как оксид углерода, оксид и диоксид азота, пыль, сажа. Это именно те вещества, которые по данным

государственного доклада о состоянии окружающей среды Свердловской области являются приоритетными ингредиентными загрязнителями атмосферного воздуха [3]. Кроме того, в 2020 г ОАО «РЖД» достигнута национальная цель сокращения объема выбросов парниковых газов до уровня не более 75% объема указанных выбросов в 1990 году. Принятый курс на декарбонизацию предполагает, в том числе, переход котельных железнодорожных предприятий на экологически чистое топливо и автоматизацию процессов сжигания топлива [4].

Мероприятия по сокращению водопотребления и сохранению природных водных ресурсов, осуществляемые в рамках Экологической стратегии, позволили снизить общий объем водопотребления к 2020 г на 48%, реконструкция действующих и строительство новых очистных сооружений привело к стабильному снижению валового объема сточных вод, доля эффективности очистных сооружений увеличилась в 1,3 раза (по сравнению с 2012 г). Но при этом до сих пор более 20% сточных вод сбрасывается в поверхностные водоемы и на рельеф местности, 60% этих вод относится к недостаточно очищенным. Сточные воды железнодорожных предприятий содержат взвешенные частицы, нефтепродукты, поверхностно-активные вещества, кислоты и щелочи [5].

Учитывая многообразие факторов влияния железнодорожного транспорта на окружающую среду, защита природных систем должна проводиться комплексно, при участии представителей самых разных специальностей, прежде всего химиков, токсикологов и экологов. Оценка токсичности химических веществ, опасных для здоровья человека и окружающей среды – это одна из приоритетных задач современной токсикологии.

Токсикологическая оценка потенциальной опасности химических веществ от предприятий железнодорожной отрасли и подвижного состава является важнейшей задачей профилактической токсикологии. Традиционные методы гигиенического нормирования загрязняющих веществ в компонентах природной среды, широко используемые, в том числе, и на железной дороге, дают мало информации о процессах, происходящих в природных экосистемах, особенно в их биотической составляющей.

Экологическую опасность загрязнения окружающей среды следует оценивать с учетом биологических свойств реагирующей системы. В связи с этим токсичность компонентов среды может быть обнаружена не только с помощью химического анализа, но и с использованием биологических методов. Это, прежде всего, методы биотестирования и биоиндикации. Практическое использование биологической оценки качества среды выявило ее приоритетность, так как, только такая оценка предоставляет возможность интегральной характеристики среды при всем многообразии воздействий. Кроме того, такая оценка дает характеристику здоровья среды, ее пригодности для живой природы и человека. В настоящее время сложно определить истинную причину деградации экосистем, связанную либо с естественными, либо с антропогенными факторами. Для решения этой проблемы необходима универсальная система интеграции биологической оценки состояния компонентов экосистем, пригодная и удобная для широкого использования с целью ранней диагностики любых негативных или позитивных изменений среды. Такая система оценки была разработана и предложена для использования в результате совместной работы отечественных и зарубежных экологов и названа условно «Биотест» [6].

Суть методологии «Биотеста» состоит в том, что для оценки качества среды используются не экосистемные и популяционные параметры как таковые, а показатели состояния организмов разных видов. Этот метод позволяет уловить присутствие стрессующего воздействия раньше, чем многие обычно используемые методы. Для экологов, изучающих антропогенное воздействие на окружающую среду, наиболее интересны возможности применения методов «Биотеста», позволяющих выявлять последствия различных воздействий в любой среде обитания живых организмов. Одной из наиболее важных задач является оценка ответа организмов на присутствие специфических химических загрязнителей и физического воздействия. Как свидетельствует опыт лабораторных и полевых исследований все предлагаемые методы биотеста выявляют изменение состояния организма при стрессовом воздействии вне зависимости от его природы.

Применение биотестирования имеет ряд преимуществ перед физико-химическим анализом, средствами которого часто не удается обнаружить неустойчивые соединения или количественно определить ультрамалые концентрации биотоксикантов. Нередки случаи, когда выполненный современными средствами химический анализ не показывает наличия токсикантов, тогда как использование биологических тест-объектов свидетельствует об их присутствии в исследуемой среде. Биотестирование дает возможность быстро получить интегральную оценку токсичности, что делает его весьма привлекательным при скрининговых исследованиях.

Основа биотестирования – это исследование тест-объекта как «датчика» сигнальной информации о токсичности среды и заместителя сложных химических анализов. Тест-объекты позволяют оперативно констатировать факт токсичности (вредности) водной среды, независимо от того, обусловлена ли она наличием одного аналитически определяемого вещества или целого комплекса аналитически неопределяемых веществ, какой обычно и представляют собой сточные воды.

Для биотестирования используют различные гидробионты – водоросли, микроорганизмы, беспозвоночные, рыбы. Однако существует определенная специфичность реакций тест-объекта на наличие в среде определенных загрязнителей. Так с помощью инфузорий возможно определение ионов тяжелых металлов, но они совершенно не пригодны для обнаружения и определения анионов.

Важное условие правильного проведения биотестирования – использование генетически однородных лабораторных культур, так как они проходят проверки чувствительности, содержатся в специальных, оговоренных стандартами лабораторных условиях, обеспечивающих необходимую сходность и воспроизводимость результатов исследований, а также максимальную чувствительность к токсичным веществам.

Биотестирование используют, как правило, до химического анализа, т.к. этот метод позволяет провести экспресс-оценку природной или производственно загрязненной среды и выявить «го-

рячие точки», указывающие на наиболее загрязненные участки акватории, территории или полигона.

Практически все предприятия железнодорожного транспорта в результате своей деятельности образуют качественно разнообразные сточные воды, требующие очистки перед выпуском их в природные водоемы. Однако, необходимо учитывать и оценивать эффективность используемых методов и целесообразность их применения с учетом специфики производственных процессов. В этом случае именно методы биотестирования могут быть использованы для контроля качества сточных вод еще до их очистки, предваряя традиционные методы диагностики.

Методы биотестирования могут применяться для комплексной оценки степени очистки сточных вод и перед сбросом в природные объекты. Но наиболее привлекательным с экологической и экономической точки зрения являются скрининговых исследования степени очистки сточных вод на разных ее этапах. Использование тест-объектов на каждом этапе очистки сточных вод позволит оценить качественный и количественный состав загрязнений, эффективность применяемых на предприятии технологий и методов очистки, а также необходимость в использовании дополнительных реагентов и технологий для обеспечения нормативного качества сточных вод перед их сбросом в природную среду.

Эффективность использования данного метода апробирована нами при оценке степени токсичности сточных вод до их очистки на некоторых предприятиях железнодорожного транспорта при изменении технологических процессов, позволяющих снизить уровень загрязнения стоков. Результаты находятся в стадии обработки, но предварительные данные позволяют оценить используемый метод как весьма перспективный. В результате эксперимента процент выживаемости тест-объектов существенно повысился по сравнению с контрольными образцами. Это позволяет рекомендовать использование данной методики для предварительной оценки токсичности производственных сточных вод, в том числе и от предприятий железнодорожного транспорта.

Список литературы

1. ОАО РЖД: официальный сайт [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://rzd.ru> (дата обращения: 05.05.2023).
2. Экологическая стратегия ОАО «РЖД» на перспективу до 2030 года [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.oao.rzd.ru> (дата обращения: 15.04.2023).

3. Атмосферное загрязнение // ФГБУ «Уральское управление по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://svgimet.ru/?page_id=573 (дата обращения: 10.04.2023).

4. Рычков О.К. Комплексная оценка экологического состояния атмосферы в районе расположения типового предприятия железнодорожного транспорта как основа формирования системы мониторинга загрязнения воздушной среды / О.К.Рычков, М.В. Мешков // Вестник Саратовского государственного технического университета. – 2004 [Электронный ресурс] Режим доступа <https://www.cyberleninka.ru> (дата обращения: 17.04.2023).

5. Духно Н.А. Экологическая стратегия охраны окружающей среды на российских железных дорогах / Н.А.Духно, В.И. Ивакин // Экологическое право [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.cyberleninka.ru> (дата обращения: 17.04.2023).

6. Лугаськова Н.В. Использование метода «Биотест» для интегральной оценки здоровья экосистем // Экология и безопасность жизнедеятельности: сб. науч. тр. УрГУПС. – Екатеринбург, 2003. – Вып. 28 (111). – С. 94–98.

ПЕДАГОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИН ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО ЦИКЛА

Ачилов Атабег Батырович

магистрант, младший научный сотрудник

Ленгесова Наталья Анатольевна

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор, директор

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРАКТИЧЕСКОГО КУРСА ПО ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ В РАМКАХ ВНЕУРОЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СТАРШЕКЛАССНИКОВ

Аннотация: статья описывает разработку и апробацию практического курса по общей биологии в рамках внеурочной деятельности старшеклассников. Применение данного практического курса может помочь педагогам сделать занятие по биологии более интересным и эффективным, что в свою очередь поможет ученикам лучше усвоить материал и повысить свою успеваемость.

Ключевые слова: внеурочная работа, биология, практический курс.

Внеурочная работа является неотъемлемой частью учебно-воспитательного процесса в школах и представляет собой разнообразные формы и методы организации свободного времени учащихся, направленные на их развитие в различных сферах [1].

Практические занятия в внеурочной деятельности позволяют учащимся применять теоретические знания на практике, развиваться и совершенствоваться в изучаемом предмете, а также приобретать опыт работы в коллективе. Занятия могут проводиться как учителями, так и приглашенными специалистами. Задача практических занятий – помочь детям найти свое призвание, развить творческий и профессиональный потенциал, а также оценить свои возможности в выбранной профессии [2].

Практические внеурочные курсы являются важным и актуальным аспектом в образовательном процессе. Они предоставляют учащимся уникальную возможность расширить свой кругозор и приобрести новые знания, навыки и опыт. Такие курсы позволяют ученикам изучать дополнительные предметы и области знаний, которые могут быть недостаточно раскрыты рамках урочной системы. Кроме того, на практических внеурочных занятиях ученики могут выбрать темы, которые наиболее интересны им самим и изучать их более углубленно. Курсы способствуют подготовке учащихся к жизни и работе в будущем. Учащиеся могут получить опыт работы в специализированных областях, которые могут быть полезными при выборе профессии. Главным фактором является то, что ребенок имеет возможность самостоятельно выбирать направления, проявляя свою индивидуальность.

Организация дополнительной образовательной программы по общей биологии для старшеклассников очень актуальна, так как биология – это область знаний, которая имеет особое значение в современном мире, помогая решать экологические, пищевые и медицинские проблемы. Именно по этой причине качество обучения биологии и его эффективность имеют большое значение для будущего страны. Сегодня существует множество различных форм, методов и технологий обучения, которые могут быть использованы для достижения оптимальных результатов.

В последнее время в связи с появлением современного оборудования методы биологии стали более разнообразными, а оборудование и материалы Научно-исследовательского центра фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии дает возможность учащимся на практике познакомиться с инновационными направлениями и методами биологии.

В целях определения более актуальных тем для практического курса по общей биологии был создан и использован опросник для школьников о значимости практических занятий, в котором приняли участие 53 обучающихся 7–10 классов. Результаты анкетирования показали, что в 76% случаях учащимся недостаточно практических занятий в школьном курсе биологии. Наибольшую заинтересованность среди учащихся вызывают такие направления

биологии как молекулярная биология, генетика, биоинформатика, геномная инженерия и т. д.

В рамках апробации программы было разработано и проведено 13 практических занятий для учащихся Малой академии естественнонаучного образования и школьников лицейских классов. Практический курс был проведен в период 2021–2023 гг. К каждой теме была разработана технологическая карта занятия, тест опросник, список материалов и оборудования. Темы занятий актуальны и дополняют школьную программу раздела «Общая биология». Составлены методические рекомендации по использованию данного практического курса для учителей и педагогов дополнительного образования, которые помогут организовать урочную и внеурочную деятельность учащихся.

Так, например, на занятии по теме «Статистический анализ аминокислотных последовательностей и множественное выравнивание в программах Fasta и ClustalW2» учащиеся определяли родственную связь между разными животными по аминокислотным остаткам панкреатической липазы. Для этого они заходили на сайт Uniprot.org в разделе BLAST они находили нужную последовательность в формате Fasta и сохраняли. В программе ClustalW2 Omega производили множественное выравнивание и сравнивали аминокислотную последовательность выбранных животных. Затем в программе определяли процент идентичности гомологичных остатков аминокислот у данных животных. Данное занятие направлено на понимание родственных связей в животном мире, а также знакомит учащихся с принципами биоинформатики.

Еще один пример практического занятия «Выделение геномной ДНК из клеток про- или эукариот и её анализ методом электрофореза». В данной работе выделение ДНК происходит из буккального эпителия самих обучающихся, что вызывает особый интерес у ребят. Для проведения данного практического занятия был использован набор «Выделение ДНК», который прошёл первоначальную апробацию на базе лаборатории молекулярной биологии НИЦ. Набор по выделению ДНК безопасен при соблюдении всех требований техники безопасности, прост в использовании и позволяет наглядно продемонстрировать методики выделения, выявления и анализ свойств ДНК. Работа по выделению ДНК позволяет визуализировать информацию, получаемую учениками при

рассмотрении весьма сложной для восприятия темы о строении нуклеиновых кислот, прививает навыки практической работы с биологическим материалом.

Применение данного практического курса в учебном процессе поможет учителям создать более интересный и эффективный урок, который позволит ученикам лучше усвоить материал. Аprobация программы показала возможность формирования практических навыков и повышение интереса учащихся к изучению биологии.

Список литературы

1. Баранова А.В. Моделируем внеурочную деятельность обучающихся / А.В. Баранова, А.В. Кисляков. – М.: Просвещение, 2013. – 96 с.

2. Складчикова Г.В. Педагогические условия совершенствования организации системы внеурочной учебной деятельности учащихся в открытом образовательном пространстве: дис ... канд. пед. наук 13.00.01 / Г.В. Складчикова. – Воронеж, 2004. – 253 с.

Биличенко Денис Андреевич

студент

Научный руководитель

Орехова Маргарита Сергеевна

канд. экон. наук, доцент

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
аграрный университет им. И.Т. Трубилина»
г. Краснодар, Краснодарский край

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ КУЛЬТУРА И ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ВОСПИТАНИЕ ОБЩЕСТВА

Аннотация: в статье рассмотрены и охарактеризованы такие понятия, как экологическая культура и экологическое образование.

Ключевые слова: культура, образование, общество, экология, природа.

Экологическая культура является частью набора теорий экологических социальных наук, которые предоставляют антропологам, археологам, географам, историкам и другим ученым возможность задуматься о том, почему люди делают то, что они делают, структурировать исследования и задавать правильные вопросы о данных.

Кроме того, экология культуры является частью теоретического раздела всего исследования экологии человека, разделенного на две части: биологическая экология человека (как люди адапти-

ругаются с помощью биологических средств) и экология культуры человека (как люди адаптируются с помощью культурных средств). Рассматриваемая как изучение взаимодействия между живыми существами и окружающей их средой, культурная экология включает в себя человеческое восприятие окружающей среды, а также иногда неосознаваемое воздействие нас на окружающую среду и окружающей среды на нас. Культурная экология – это все о людях: кто мы такие и что мы делаем, в контексте того, что мы еще одно животное на планете.

Современные формы культурной экологии включают элементы проверенных и принятых теорий (и некоторые отвергнутые) в течение десятилетий между 1950-ми и сегодняшним днем, в том числе:

- историческая экология (в которой обсуждается влияние индивидуальных взаимодействий в маломасштабных обществах);
- политическая экология (которая включает в себя влияние властных отношений и конфликтов в домашнем хозяйстве на глобальный масштаб);
- теория рационального выбора (которая гласит, что люди принимают решения о том, как достичь своих целей);
- постмодернизм (все теории одинаково обоснованы, и «истина» нелегко распознать субъективным западным ученым); и
- культурный материализм (люди реагируют на практические проблемы, разрабатывая адаптивные технологии).

Все эти вещи нашли свое отражение в современной экологической культуре. В конце концов, культурная экология – это способ взглянуть на вещи; способ сформировать гипотезы о понимании широкого спектра человеческого поведения; стратегия исследования; и даже способ придать смысл нашей жизни.

Экологическое образование – это процесс формирования экологического понимания или грамотности, размеры и параметры которого со временем менялись как в отношении, так и в связи с развитием экологии как науки.

Экологическое образование традиционно фокусировалось на изменении индивидуальных знаний, установок и поведения. Обеспокоенность по поводу недостаточной эффективности экологического образования в привитии понимания роли человека в экосистемах привела нас к исследованию взаимосвязи обучения и

воспитательной работы с более крупными социально-экологическими системами, в которые они встроены. Мы опираемся на социокультурную теорию обучения и основы, разработанные в результате долгосрочных экологических исследований, теории иерархии и устойчивости социально-экологических систем, чтобы предложить «экологию обучения» и «экологию экологического воспитания». При этом мы надеемся открыть новые исследования и практики, которые рассматривают возможности для экологического образования действовать совместно с другими инициативами, такими как усилия по управлению на местном уровне, для развития социального капитала, экосистемных услуг и других атрибутов устойчивых социально-экологических систем.

Не существует общепринятых моделей экологического образования; однако структурный взгляд на тему предполагает три элемента. Первый, свобода действий, относится к способности людей активно получать доступ к изучению экологии, извлекать из него пользу. Таким образом, возраст, интересы, пол, образование, предыдущий опыт и т. д. все они играют определенную роль в формировании и ограничении доступа человека к экологическим знаниям. Во-вторых, этим людям затем необходимо получить доступ к образовательным возможностям, то есть к контексту. Масштабы от локального до глобального и от формального до неформального охватывают широкий спектр вариантов, при этом школы, высшее образование, бизнес, группы давления, СМИ и неправительственные организации (НПО) берут на себя основную часть учебной работы. В-третьих, есть содержание, а именно, актуальные экологические концепции, рассматриваемые как необходимое изучение в любой данной ситуации. Это может варьироваться от очень общего обзора, который можно увидеть в курсе средней школы, до очень конкретной и подробной информации, необходимой исследователю. Кроме того, содержание может варьироваться от большинства теоретических моделей до прикладной экологии. Все три элемента опираются на философию, чьи собственные корни далеко не ясны. На одном уровне стандартные позитивистские взгляды уступают место гораздо более феноменологическим и структурным идеям, таким как квир-теория, экофеминизм и экология глубокого зеленого цвета, которые дают при-

вилегии и диктуют диапазон «разрешенных» знаний. Наконец, стоит отметить, что экология как термин восходит к концу XIX века. Однако, как идея, это можно проследить со времен Греции, если не раньше. Тем не менее, как современное направление, это лучше всего видно с 1950-х годов и далее.

Список литературы

1. Обербиллиг Д. Обучение на свежем воздухе в рамках формального экологического образования: взгляд в будущее / Д. Обербиллиг, Д.К. Рэнделл, Г. Миддендорф [и др.] // Границы в экологии и окружающей среде. – 2014. – 12.7: 419–420.
2. Зандвлит Д. Экологическое образование через «острова дискурса»: педагогическое образование на пересечении культуры и окружающей среды / Д. Зандвлит // Журнал наружного и экологического образования. – 2019. – 22: 145–157.
3. Саттон М.К. Введение в экологию культуры / М.К. Саттон, Э.Н. Андерсон. – 2-е изд. – Ланхам, Мэриленд: Альтамира Пресс, 2013.

Додонова Юлия Викторовна
студентка

Пырова Светлана Александровна
канд. с./х. наук, доцент

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОБЛЕМНОГО ОБУЧЕНИЯ НА УРОКАХ БИОЛОГИИ

Аннотация: *в связи с постоянными изменениями образовательных стандартов всё сложнее найти путь для их достижения. В развивающемся мире, используя именно инновационные технологии, по мнению авторов, можно достичь сути предъявляемых требований ФГОС.*

Ключевые слова: *проблемное обучение, проблемные ситуации, ФГОС, универсальные учебные действия, познавательные УУД.*

Основная идея изменений образования в России выдвигает приоритетные цели и задачи: сохранность здоровья школьников, развитие индивидуальных способностей, что напрямую обеспечивает адаптацию в новых условиях [9]. На данный момент обществом уже поменяны приоритеты. В его интересы входят самостоятельность школьников, их активные действия, принятие решений в экстренно – меняющихся условиях [8]. В наше время инноваци-

онной целью образовательных организаций является не подача готовых знаний учащимся, а именно научить их находить и оперировать данными знаниями [3, с. 80].

В связи с реформами задач образовательного процесса, происходят изменения и в самом преподавании. Учитель сразу задается множеством вопросов: «Как учить современных учащихся?», «Чему учить школьников?» [2, с. 115]. Предпочтительнее всего на первый план выходят современные образовательные технологии, из всего списка инновационных направлений.

Как и ранее основа обучения зарождается на уроке. С педагогической точки зрения требования к эффективности урока, как и к педагогическому процессу в целом, постоянно находятся в изменении и возрастают. Наряду с новой концепцией уроков в образовательном процессе используются современные технологии преподавания [5, с. 196]. Изменения преподавания уроков происходят в связи с тем, что школа реализует требования ФГОС второго поколения [10]. Так же изменились требования к результатам обучения. Основой является формирование универсальных учебных действий: познавательных, регулятивных и коммуникативных. Познавательные УУД включают в себя общеучебные, логические, знаково-символические, а также постановку и решение проблемы [1, с. 48].

Актуальность данной темы предполагает формирование познавательных УУД невозможным без познания технологии ПО и её рационального использования.

ПО входит в состав технологий на основе личностной ориентации учебного процесса. Проблемно-поисковое обучение отличается от традиционного. Всё внимание акцентируется на творческой деятельности учащихся. Школьники не просто зазубривают учебный материал, а ведут поиск новых способов решения проблем и задач. Это ребятам помогает в наилучшем виде понимать материал на более глубоком уровне и развивать свои всесторонние способности [7, с. 36].

В целом, технология ПО подразумевает столкновение с проблемой и поиск вариантов и способов ее решения. Выполняется данное действие при непосредственном участии преподавателя, либо самостоятельно, т.е.: выполняется представление проблем-

ной ситуации; затем следует постановка проблемных вопросов; далее школьники выдвигают гипотезы; делают выводы, проводится эксперимент, производят анализ; выполняют проверку истинности или ложности гипотезы [3, с. 68].

Преимущества ПО очевидны. Ученики не только получают знания и навыки, но и формируют умение самостоятельно приобретать знания через собственную творческую деятельность. Это помогает им стать более решительными и уверенными в своих знаниях [6, с. 473].

Для проверки эффективности ПО в процессе обучения была проведена опытно-экспериментальная работа на базе МОУ СШ г. Сенгилея имени героя советского союза Н.Н. Вербина в 7 «А» классе на уроках биологии.

Цель констатирующего этапа: выявление уровня сформированности умения ставить и решать проблемы.

Для педагогического эксперимента было выбрано три формы диагностики.

1. Цель *диагностики поведения ученика в проблемной ситуации* – проследить за действиями ученика в условиях данной ситуации. В это же время отслеживается самостоятельность этих действий и помощь преподавателя.

В течение определенного времени за детьми на уроках осуществлялось наблюдение. По прошествии времени была подсчитана активность детей и их отвлекаемость: выс. ур., а также ср. ур. по второму и третьему критерию составили 26%, низк. ур. 9%.

2. *Анкетирование учащихся проводится два раза* – до применения ПО и после него.

При помощи анкеты можно выяснить эмоциональное отношение детей к учебе. Определить характер появляющихся трудностей, а также отношение школьников к ним до внедрения ПО.

Характеристика ответов, в которых отражается наибольшая сложность в решении заданий представлены на рисунке 2.

3. А также проведена *диагностика на основе наблюдения*, позволяющая выявить уровень осознанного отношения ребенка к проблемной ситуации: выс. ур. составил 26%; ср. ур. по 1 и 2 критерию 26 и 22%; низк. ур. 9%.

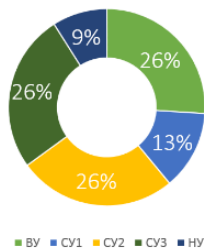
Таким образом, целенаправленная работа в данном классе была определена для того, чтобы научить юных биологов ставить и

решать задачи, чтобы они не боялись трудностей и находили способы их выполнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ



Уровень познавательной активности учащихся, соотношение отвлекаемости и познавательной активности



- Высокий уровень
- СУ1: высокая активность, но низкая самостоятельность и высокая отвлекаемость
- СУ2: высокая самостоятельность, но низкая активность и высокая отвлекаемость
- СУ3: не отвлекаются, но низкая активность и самостоятельность
- Низкий уровень

Рис. 1. Уровень познавательной активности учеников 7 «А» класса.

АНКЕТИРОВАНИЕ УЧАЩИХСЯ



4 вопрос	6 вопрос
<p><i>Если трудности возникают, то какие они?</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - трудно самостоятельно выполнять задания по новой теме – 13 чел. - в новых темах всегда сложные задания – 5 чел. - я боюсь трудностей на уроках – 5 чел. 	<p><i>Как ты относишься к новым сложным заданиями?</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - мне интересно – 13 чел. - я их боюсь – 1 чел. - с неохотой выполняю их – 1 чел. - очень нравится выполнять сложные задания – 3 чел. - мне требуется помощь в их выполнении – 5 чел.

Рис. 2. Характеристика ответов на вопросы анкеты

Цель формирующего этапа: разработка и апробация уроков с использованием технологии ПО.

Творческая деятельность является характерной отличительной чертой проблемного урока. ПО обеспечивает более глубокое усвоение знаний, не вызывая при этом перегрузок, что по истине является «учением с увлечением», снижающее нервные нагрузки [4, с. 152].

В ходе опытно-экспериментальной работы использовала следующие виды проблемных ситуаций на уроках, представленные на рисунке 4.



Рис. 3. Уровень сформированности познавательных УУД

ПРОБЛЕМНЫЕ СИТУАЦИИ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ВО ВРЕМЯ ОПЫТНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ РАБОТЫ

Тип	Способ	Пример
1. Классический	создание проблемной ситуации с удивлением	предъявляются противоречивые факты
	создание проблемной ситуации с затруднением	дать практическое задание не выполнимое вообще
2. Сокращенный	подводящий проблемный диалог	логически выстроенная цепочка вопросов и заданий
3. Мотивирующее	сообщение темы урока с использованием приема «яркое пятно»	сказки, легенды, отрывки из художественной литературы
	демонстрация непонятных явлений	демонстрация эксперимента, или наглядности, необъяснимого для первого понимания учащимся
	сообщение темы урока с использованием приема «актуализация».	обнаружение смысла значимости проблемы для обучающихся

Рис. 4. Примеры проблемных ситуаций

Цель контрольно-итогового этапа: выявление эффективности проведенной работы.

Здесь же проводятся те же самые диагностики, что и на констатирующем.

На данном этапе: выс. ур. увеличился на 8%; повысилась самостоятельность на 4%; низк. ур. понизился на 4%.

После применения ПО в данном классе проводилось повторное анкетирование, в результате которого: уменьшилось количество детей, которые боятся трудностей на уроках и им стало легче выполнять самостоятельно такие задания; увеличилось количество (на 10 чел.), которым нравится выполнять сложные задания.




Рис. 5. Уровень познавательной активности учеников 7 «А» класса

Анализ результатов анкетирования

4 вопрос (Если трудности возникают, то какие они?)

ответы	Кол-во человек	
	На констатирующем этапе	На контрольно-итоговом этапе
трудно самостоятельно выполнять задания по новой теме	13 чел.	11 чел.
в новых темах всегда сложные задания	5 чел.	8 чел.
я боюсь трудностей на уроках	5 чел.	4 чел.

Рис. 6. Результаты анкетирования – 4 вопрос

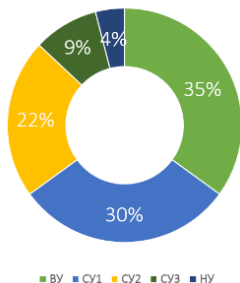
6 вопрос (Как ты относишься к новым сложным заданиям?) 

ответы	Кол-во человек	
	На констатирующем этапе	На контрольно-итоговом этапе
мне интересно	13 чел.	10 чел.
я их боюсь	1 чел.	-
очень нравится выполнять сложные задания	1 чел.	11 чел.
мне требуется помощь в их выполнении	3 чел.	2 чел.
я с неохотой выполняю их	5 чел.	-

Рис. 7. Результаты анкетирования – 6 вопрос

Проведена повторная диагностика на основе наблюдения: выс. ур. возрос на 9%; ср. ур. по критерию 1 и 3 снизился на 8% и 4% соответственно: низк. ур. уменьшился на 5%.

ПОВТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НА ОСНОВЕ НАБЛЮДЕНИЯ 



Уровень осознанного отношения учащихся к проблемной ситуации после внедрения ПО

- Высокий уровень
- СУ1: высокая активность, но низкая самостоятельность и высокая отвлекаемость
- СУ2: высокая самостоятельность, но низкая активность и высокая отвлекаемость
- СУ3: не отвлекаются, но низкая активность и самостоятельность
- Низкий уровень

Рис. 8. Уровень сформированности познавательных УУД учеников 7 «А» класса

На основании полученных данных проведено сопоставление уровня сформированности познавательных УУД на разных этапах (рис. 9).

**Сравнительная характеристика результатов
уровня сформированности познавательных
УУД у учеников 7 «А» класса**



Рис. 9. Сравнительная характеристика результатов уровня сформированности познавательных УУД у учеников 7 «А» класса

Из трех исследований стало ясно, что дети могут определять проблемные ситуации, но им нужна помощь, чтобы научиться их решать. Важно научить детей находить проблемы, формулировать их, искать пути их решения и выбирать наиболее подходящий вариант. Ученики имеют сильное желание учиться, но трудности, которые стоят на их пути, мешают им реализовать эти желания. Деятельность учащихся становится более целенаправленной, внимание учащихся на уроке может поддерживаться дольше, увеличивается процент самостоятельной деятельности учащихся.

После проведенного исследования сформулированы методические рекомендации по использованию проблемного обучения на уроках биологии.

1. ПО целесообразно применять:

- когда содержание учебного материала содержит причинно-следственные связи и зависимости и целенаправлено на формирование понятий, законов и теорий;
- когда школьники подготовлены к ПО т.к. для слабых этот метод затруднителен (это преодолевается дифференциацией уровней проблемности);
- когда есть время для внедрения ПО, т.к. оно требует больших затрат времени.

2. Цель применения технологии ПО: научить идти путем самостоятельных открытий.

Достижение цели реализуется решением задач: создание условия для усвоения средств познания и исследования; повышение познавательной активности в процессе обучения; применении дифференцированного и интегрированного подхода.

3. Задача педагога – использовать и осуществлять подбор для познавательного процесса противоречия; не используя тренировочные упражнения приучать находить выходы из трудных заданий.

4. Развитие способностей может происходить только в творческой самостоятельной деятельности, преднамеренно организуемой педагогом. Учитель должен знать, как помочь ученикам развивать свое творческое мышление. Для этого он может создавать проблемные ситуации, которые помогут ученикам учиться логически мыслить.

Итак, решение сложных задач является не только частью учебного процесса, но и важным элементом развития личности учеников. Оно помогает им развивать свой мозг, формировать привычку к умственному труду, увеличивать самостоятельность и уверенность в своих силах, что необходимо для успешной подготовки к будущей жизни и карьере.

Список литературы

1. Воровщиков С.Г. Развитие универсальных учебных действий / С.Г. Воровщиков, Н.П. Аверина. – М.: Перспектива, 2013. – 280 с.
2. Еркина С.Л. Современные образовательные технологии / С.Л. Еркина // Образовательная технология. – 2014. – №3. – С. 110–119.
3. Мезенцева О.И. Современные педагогические технологии: учебное пособие для студентов-бакалавров, обучающихся по педагогическим направлениям и специальностям / О.И. Мезенцева; Куйб. фил. Новосиб. гос. пед. ун-та. Новосибирск: Немо Пресс, 2018. – 140 с.
4. Мельникова Е.И. Проблемный урок, или как открывать знания с учениками: пособие для учителя / Е.И. Мельникова. – М., 2002. – 168 с.
5. Селевко Г.К. Современные образовательные технологии: учебное пособие / Г.К. Селевко. – М.: Народное образование. 1998. – 256 с.
6. Сластенин В.А. Педагогика: учеб. пособие для студ. высш. пед. учеб. заведений / В.А. Сластенин [и др.]. – М.: Академия, 2002. – 576 с.
7. Чупрасова В.И. Современные технологии в образовании: курс лекций / В.И. Чупрасова. – Владивосток: ТИДОТ ДВГУ, 2000. – 52 с.
8. Рябцева О.А. Обзор современных образовательных технологий и методов обучения. / О.А. Рябцева [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://infourok.ru/obzor-sovremennih-obrazovatelnih-tehnologiy-i-metodov-obucheniya-2240402.html>
9. Российская Федерация. Законы. Об образовании в Российской Федерации: Федеральный закон №273-ФЗ: принят Госдумой 21 декабря 2012 года; одобрен Советом Федерации 26 декабря 2012 года [Электронный ресурс]. – Режим доступа http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_140174/

10. ФГОС основного общего образования: утв. приказом Министерства образования и науки РФ от 17 декабря 2010 г. №1897 [Электронный ресурс]. – Режим доступа <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/55070507/>

Коняев Игорь Сергеевич

канд. биол. наук, старший научный сотрудник, доцент
Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

Мангушева Виктория Фаридовна

студентка
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

ПРОБЛЕМЫ ПОДГОТОВКИ ШКОЛЬНИКОВ К ВСЕРОССИЙСКОЙ ОЛИМПИАДЕ ПО БИОЛОГИИ В УЛЬЯНОВСКОЙ ОБЛАСТИ

***Аннотация:** рассматриваются региональные особенности подготовки школьников к ВсОШ по биологии. Исследованы статистические данные по итогам олимпиад 2021–2023 гг., результаты анкетирования обучающихся школ в регионе; дается сравнительный анализ результативности участия школьников Ульяновской области, г. Москвы, Республики Татарстан. Выявлены основные проблемы подготовки обучающихся к биологическим олимпиадам (невысокая информированность, слабая мотивация, преобладание теоретической направленности подготовки, ограниченные возможности школ для подготовки к практическому туру и др.), предлагаются пути их решения.*

***Ключевые слова:** Всероссийская олимпиада школьников по биологии, работа с одаренными детьми, подготовка к олимпиаде, анкетирование, учебно-тренировочные сборы, образовательные центры.*

Предметные олимпиады школьников, являющиеся по своей сути интеллектуальным состязанием, направлены на выявление одаренных детей и дальнейшую работу с ними. Также предметные олимпиады способны ориентировать обучающихся на выбор будущей профессии. Самой масштабной и одной из наиболее пре-

стижных предметных олимпиад в нашей стране является Всероссийская олимпиада школьников (далее – ВсОШ). Данная олимпиада призвана не только выявлять детей, талантливых в определенной области знания, но и развивать соответствующие умения и навыки, необходимые в научно-исследовательской деятельности. Участие в предметных олимпиадах такого масштаба дает большие привилегии и преимущества. Как минимум, это возможность для всестороннего развития ребенка как личности, общение с такими же заинтересованными в науке сверстниками, проверка на прочность и стрессоустойчивость. Для победителей различных этапов – это дополнительные баллы при поступлении в университет, а для призеров и победителей заключительного этапа ВсОШ – это возможность поступления в вузы страны без вступительных испытаний на направления подготовки, соответствующие профилю олимпиады.

С 2009 года ВсОШ по биологии состоит из 4-х этапов: школьный, муниципальный, региональный и заключительный [4]; особенностью двух последних является наличие, кроме теоретического, еще и практического тура, проектируемого по модели Международной биологической олимпиады, что, в свою очередь, создает определенные сложности при подготовке участников к заданиям данного тура.

Нами изучались рейтинги регионального и муниципального этапов ВсОШ по биологии за 2021/2022 и 2022/2023 учебный год (9–11 классы) и комплекс заданий теоретического и практического туров регионального и заключительного этапов ВсОШ по биологии, относящихся к разделу «Ботаника», за 2022/2023 учебный год и за предыдущие годы. Исследовалась работа с одаренными школьниками в школах города Ульяновска, система подготовки школьников к теоретическому и практическому туру ВсОШ в Ульяновской области. Для получения актуальной информации о вовлеченности обучающихся в олимпиадное движение, и, в частности, в подготовку к ВсОШ по биологии, в регионе было проведено анонимное анкетирование и опрос учеников 9–11-х классов школ города и области. Полученные результаты прошли математическую обработку, а также были проанализированы и представлены в наглядном виде. Была исследована структура и методика подготовки учащихся университетских классов при ФГБОУ ВО

«УлГПУ им. И.Н. Ульянова» к заданиям ВсОШ на занятиях ПРОЗ («Практическое решение олимпиадных заданий по биологии») в период 2021/2022 и 2022/2023 учебного года, а также опыт обучения школьников на базе ОГБН ОО «Центр выявления и поддержки одарённых детей в Ульяновской области Алые паруса».

Оценка текущей обстановки по подготовке учащихся школ города и области к ВсОШ по биологии была проведена на основе сравнения рейтинга участников заключительного этапа от Ульяновской области с рейтингом традиционных «лидеров» – участников олимпиады от г. Москвы и Республики Татарстан [1]. По количеству дипломов призеров и победителей олимпиад на 100 тыс. человек Ульяновская область заметно отстает, демонстрируя невысокие показатели (табл. 1). В общем рейтинге регионов РФ по участию в заключительном этапе ВсОШ по биологии в 2022 г. Ульяновская область занимает 32 место. За период с 2009 года (когда ВсОШ стала проводиться по усовершенствованной схеме) три раза представители Ульяновской области становились призерами заключительного этапа: в 2016 г. – Я. Алиса, ученица 11 класса Гимназии №1 имени В.И. Ленина; в 2020 г. – С. Игорь, ученик 10 класса той же гимназии (в 2020 г. все участники заключительного этапа признаны призёрами из-за ограничений, связанных с пандемией COVID-19); в 2021 г. Игорь С., будучи учеником 11 класса, стал полноправным призёром заключительного этапа. За указанный период победителями заключительного этапа ВсОШ по биологии представители от Ульяновской области не становились.

Таблица 1

Количество дипломов призеров и победителей заключительного этапа ВсОШ по биологии на 100 000 чел. по годам

Регион	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2021 г.	2022 г.
г. Москва	4,78	5,67	6,6	7,24	7,5	10,65	10,43
Республика Татарстан	2,83	3,64	3,6	3,57	3,8	5,42	6,10
Ульяновская область	1,27	1,19	1,04	1,36	0,73	1,15	0,67

По нашему мнению, причинами столь скромного участия школьников Ульяновской области в олимпиаде на всероссийском уровне является недостаточная подготовленность большинства участников олимпиады к региональному этапу. Анализ итоговых рейтингов участников регионального этапа ВсОШ по биологии за 2023 год (табл. 2, табл. 3) показывает, что большинство школьников испытывают явные затруднения с заданиями практического тура.

Таблица 2

Фрагмент итогового рейтинга участников регионального этапа ВсОШ по биологии 2023 г., 11 класс [3]

Ботаника (максимум - 50 баллов)	Биохимия (максимум - 50 баллов)	Экология (максимум - 50 баллов)	Сумма баллов (максимум - 150 баллов)	Итоговый балл 2 тур (максимум - 100 баллов)	Статус участника
33,750	44,5	25,0	103,3	68,8	победитель
11,250	26,5	37,0	74,8	49,8	участник
4,375	9,0	19,0	32,4	21,6	участник
4,375	8,0	15,0	27,4	18,3	участник
0,625	15,0	18,0	33,6	22,4	участник
10,000	26,5	39,0	75,5	50,3	участник
5,000	19,5	19,0	43,5	29,0	участник

Наибольшие затруднения вызывают задания кабинетов анатомии, морфологии и физиологии растений, биосистематики, молекулярной биологии, биоинформатики, генетики.

Стоит отметить, что аналогичная картина сложилась и на практическом туре заключительного этапа в 2023 г., когда участники от Ульяновской области, выступающие за 9 класс, столкнулись с серьёзными сложностями при выполнении заданий в кабинетах «Морфология и систематика растений», «Биосистематика и экология». При этом теоретическая подготовка наших участников была очень высокая, по итогам теоретического тура они находились в верхней части рейтинга. По всей видимости, теоретический

тур дается учащимся Ульяновского региона легче, чем практический, что свидетельствует о высоком уровне общей подготовленности по всем разделам биологии.

Таблица 3

Фрагмент итогового рейтинга участников регионального этапа ВСОШ по биологии 2023 г., 9 класс [3]

Ботаника (максимум - 40 баллов)	Зоология (максимум - 40 баллов)	Человек (максимум - 40 баллов)	Сумма баллов (максимум - 120 баллов)	Итоговый балл 2 тур (максимум - 100 баллов)	Итоговый балл 1-2 тур (максимум - 100 баллов)	Статус участника
35,0	31,0	20,5	86,5	72,1	71,7	победитель
26,0	28,0	17,5	71,5	59,6	65,5	призер
29,0	24,0	22,0	75,0	62,5	63,1	призер
16,0	25,0	19,5	60,5	50,4	50,5	участник
12,0	16,0	19,5	47,5	39,6	46,3	участник
8,0	17,0	13,0	38,0	31,7	44,8	участник
9,0	17,0	9,0	35,0	29,2	41,3	участник
9,0	18,5	12,0	39,5	32,9	38,0	участник

Для выяснения степени вовлеченности в олимпиадное движение и особенностей подготовки школьников к биологическим олимпиадам в регионе нами было проведено анкетирование обучающихся 9–11 классов 55 школ г. Ульяновска и области. После общего анкетирования были отдельно изучены ответы тех детей, которые проявляют интерес к биологии и/или хотели бы связать свою жизнь с данной наукой. Анализ анкетных данных показал следующие результаты.

Около 70% респондентов участвовали в олимпиадах по биологии различного масштаба (среди которых «Ломоносов», «Прорыв», «Эрудит», «Симбирский уникам»), но при этом лишь 39% принимали участие во Всероссийской олимпиаде школьников по биологии (рис. 1 и рис. 2).

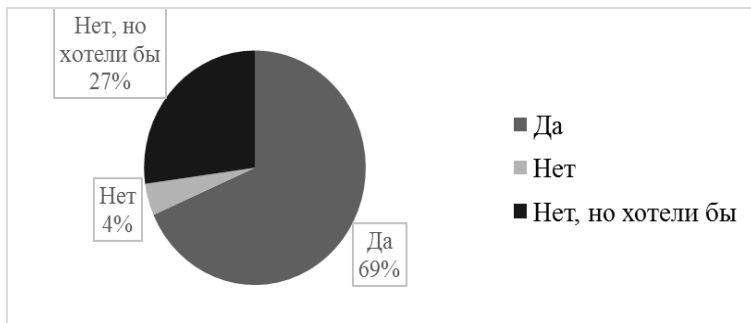


Рис. 1. Участие школьников в олимпиадах (по результатам ответов на вопрос «Участвовали вы когда-либо в олимпиадах по биологии?»)

Основными причинами такого низкого показателя участия во ВсОШ по биологии являются следующие: плохая информированность о данном мероприятии (26%), страх плохого результата (26%) и неуверенность в собственных знаниях (40%) (рис. 3).

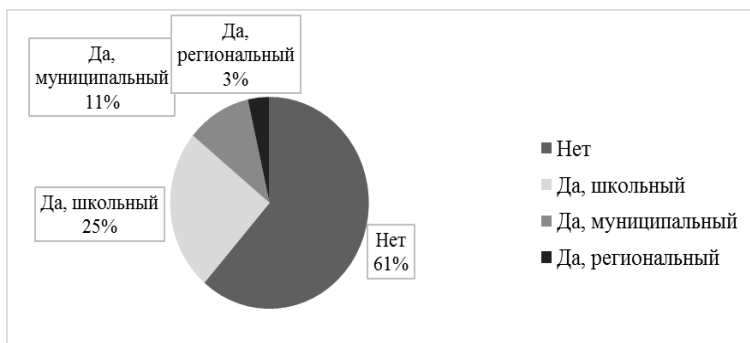


Рис. 2. Участие школьников во всероссийской олимпиаде (ВсОШ) (по результатам ответов на вопросы: «Участвовали вы когда-либо во Всероссийской олимпиаде школьников? Если да, то какого максимального уровня вы достигали?»)

Результаты опроса свидетельствуют о невысокой популяризации олимпиадного движения на территории региона. Зачастую подготовка к олимпиадам в школах ведется учителями независимо друг от друга, и будущие участники, выступающие в одиночку или небольшими группами, лишены возможности общения и обмена опытом друг с другом. Положительный опыт взаимодействия имеется у участников смен в образовательном центре «Си-

риус», наглядно демонстрирующий потребность участников для успешного и психологически комфортного выступления заблаговременно знакомиться со спецификой олимпиады и приобщаться к олимпиадному движению.

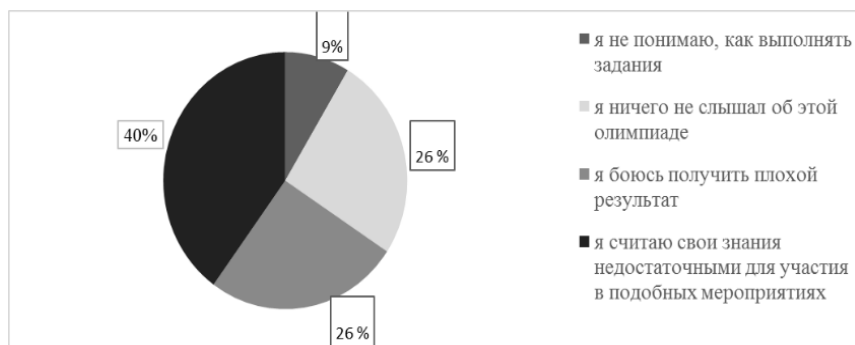


Рис. 3. Наиболее распространенные причины неучастия в олимпиаде

На вопрос о наличии системы подготовки к олимпиаде по биологии в школе учащиеся ответили следующим образом. Порядка 50% респондентов утверждают, что в их школе имеется специальный кружок/секция/курс, где учитель ведет свою подготовку к олимпиаде, но при этом в 90% случаев это исключительно разбор теоретических вопросов. Учитывая специфику олимпиадных заданий регионального и заключительного этапов и уровень знаний и навыков, требуемый от участников ВсОШ, можно сделать вывод о том, что обычному школьному учителю довольно трудно самостоятельно создать эффективную систему подготовки, особенно без специального оснащения и оборудования.

Но при этом в Ульяновске имеется положительный опыт подготовки учащихся к ВсОШ по биологии, содержащий в себе консультации ведущих преподавателей ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова» и университетскую материально-техническую базу, лаборатории и технологии. Для призеров и победителей муниципального этапа организуются специальные учебно-тренировочные сборы. Для более эффективного обучения на занятия приглашаются научные сотрудники НИЦ ФППББ при УлГПУ, организацию сборов курируют преподаватели естественно-географического факультета УлГПУ. Сами занятия имеют раз-

личный формат и содержание, начиная от лекций и заканчивая практикумами и мастер-классами [2]. Ведущую организационную и координирующую роль по проведению ВсОШ и подготовке к олимпиадам на региональном уровне играет ОГБН ОО «Центр выявления и поддержки одарённых детей в Ульяновской области «Алые паруса» [3].

Также опрошенные нами школьники указали, насколько они проинформированы о ВсОШ по биологии и знают ли они ее историю и все преимущества, и «бонусы», которые получают победители и призеры. Ничего не слышали о данной олимпиаде 19% респондентов, и еще 47% обладают недостаточными данными, что, очевидно, негативно влияет на мотивацию школьников к участию во Всероссийской олимпиаде (рис. 5). Тем не менее, дети проявляют активный интерес к биологии как к науке и хотели бы принять участие в мероприятиях подобного масштаба, чтобы расширить свои знания и определиться со своей будущей профессией.

Мы можем утверждать, что есть необходимость полнее информировать школьников об истории олимпиады, положительных аспектах участия в ней, вовлекать в олимпиадное движение как можно большее количество заинтересованных и одаренных детей, возможно – будущих победителей и призеров.

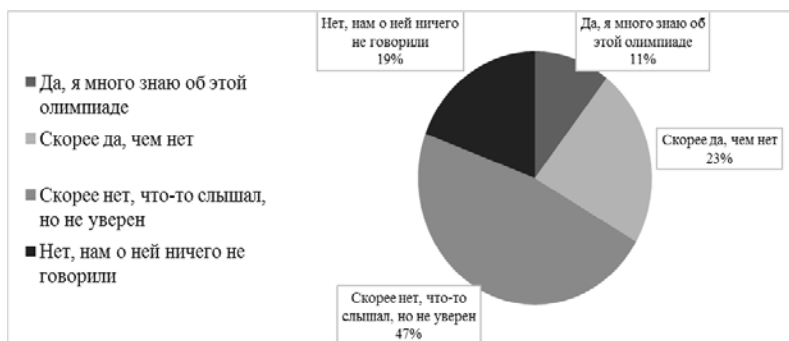


Рис. 4. Степень информированности школьников о ВсОШ

Таким образом, можно выделить следующие проблемные аспекты системы подготовки школьников к ВсОШ по биологии в Ульяновской области:

– низкая информированность школьников об истории, сущности участия в олимпиаде и «бонусах», которые получают победители и призеры;

– большинство школьников не участвует из-за страха получить плохой результат или неуверенности в собственных силах;

– подготовка в школах ведется в основном только к теоретическому туру, решение практических заданий ограничено материально-технической базой;

– положительный опыт подготовки к ВсОШ по биологии со стороны вузов реализуется только лишь в стенах ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», а также на базе профильных смен и сборов в ОГБН ОО «Центр выявления и поддержки одарённых детей в Ульяновской области «Алые паруса»; необходимо использование педагогического потенциала преподавателей и научных сотрудников других вузов региона.

Список литературы

1. Всероссийская олимпиада по биологии [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://olimpiada.ru/activity/77/tasks>

2. Коняев И.С. Элективный курс по углубленному изучению биологии как часть структуры подготовки школьников к биологической олимпиаде / И.С. Коняев // *Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии: сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. – Чебоксары: Среда, 2022. – С. 243–252. – EDN JJCTLM

3. ОГБН ОО «Центр выявления и поддержки одарённых детей в Ульяновской области «Алые паруса» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://odarendeti73.ru>

4. Положение о всероссийской олимпиаде школьников (утв. приказом Минобрнауки России от 2 декабря 2009 г., №695) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.edu.ru/db/mo/Data/d_09/prm695-1.htm

Костенко Елена Геннадьевна

канд. пед. наук, доцент
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет
физической культуры, спорта и туризма»
г. Краснодар, Краснодарский край

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ В СПОРТИВНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

***Аннотация:** управление подготовкой спортсменов базируется на моделирование их профессиональной деятельности, в том числе основанной на методах математической статистики. Математическое моделирование влияет на уровень достижений в различных видах спорта и развития спортивной индустрии в целом.*

***Ключевые слова:** моделирование, математическая статистика, обработка данных, статистический анализ.*

Трудно представить исследование какого-либо явления или процесса, в котором не применялись бы методы статистики. На основании анализа научной литературы можем различать два типа статистики: описательная и математическая. Основное отличие описательной статистики от математической, заключается в ее функции обеспечения и предоставления информации. Математическая статистика основана на обработки информации и ее оценкой. Это научная дисциплина, которая занимается изучением данных, описывающих свойства массовых явлений, и оценивает гипотезы, объясняющие эти данные [3].

Сегодня математическая статистика включает в себя очень широкий набор количественных методов, позволяющих определять «состояние» вещей и отношений в различных структурах (рис. 1). Моделирование, основанное на методах математической статистики, проникло практически во все эмпирические научные дисциплины и даже в гуманитарные науки.

Современная математическая лингвистика, демография и эконометрика, а также эпидемиология и биостатистика опираются на статистические методы. Расширяются цифровые приложения математической статистики и в области физической культуры и спорта [4].

В самом общем виде задача статистики заключается в распознавании закономерностей в массовых явлениях, происходящих во всех областях жизни.

Статистический анализ в первую очередь требует понимания статистических концепций. Базовым определением математической статистики является статистическое множество. Это конечное множество элементов (объектов или единиц), обладающих некоторыми общими свойствами с данной точки зрения [3]. Количество всех элементов называют статистическими единицами. На этих элементах наблюдаем различные признаки, т.е. общие свойства статистических единиц и различаем качественную характеристику, например, национальность, пол, и количественную характеристику – вес, длина, возраст [1].

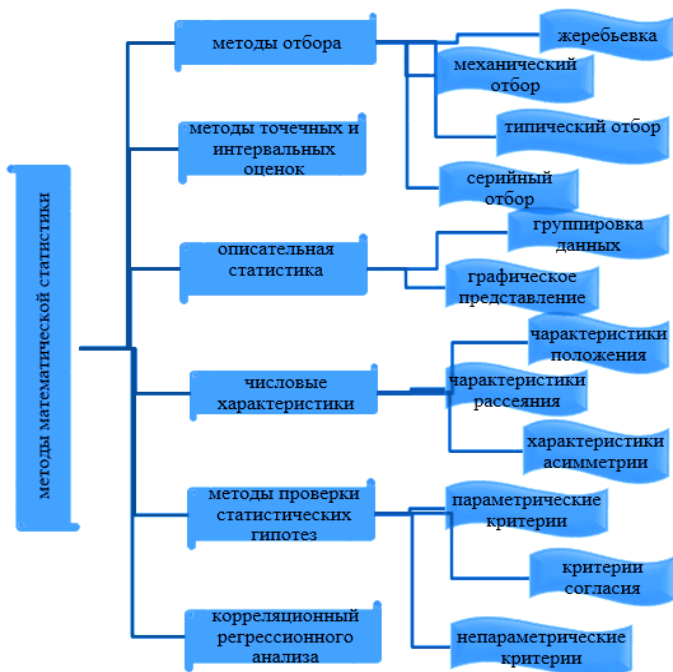


Рис. 1. Методы математической статистики, применяемые в спортивно-педагогических исследованиях

Математическое моделирование базируется на качественно проведенном статистическом обследовании, предполагающие точное определение предмета и содержания исследования, результатом которого является пространственное, материальное и временное определение статистической совокупности, статисти-

ческой единицы и статистических признаков [3]. Пространственное разграничение статистической единицы, статистической совокупности и статистического признака состоит в точном определении пространственной границы, определяющей область, к которой относится данное исследование. Объективное определение статистической единицы, статистического набора и статистического признака состоит в установлении четкого определения статистической единицы, статистического набора и отслеживаемых статистических признаков [4].

Временное определение статистической единицы, статистической совокупности и статистических признаков состоит в определении решающего момента или решающего периода. Решающий момент – это момент времени, который является основным для включения или невключения статистической единицы в данное обследование и для записи данных о мгновенных статистических характеристиках. Решающим периодом является период, за который должны быть зарегистрированы данные об интервальных статистических характеристиках. Этот период состоит из двух моментов времени, образующих его границы.

Статистические данные, полученные в результате статистического обследования, обычно неорганизованны. Чтобы было понятнее, необходимо их организовать, используя статистическую обработку. Только после такого расположения статистических данных можно переходить к их обобщению и к вычислению статистических характеристик, служащих для анализа наблюдаемого явления [1]. Систематизацию и обобщение результатов статистического исследования путем вычисления статистических характеристик называют статистической обработкой. С организационной точки зрения статистическая обработка может осуществляться двумя способами – централизованно и децентрализованно. При централизованном методе вся обработка осуществляется одним способом. Преимуществом является его экономичность и однородность, есть возможность использования специальных машин. Поэтому его используют при обработке крупномасштабных опросов. Децентрализованный метод осуществляется несколькими способами по очереди. Преимуществом является возможность использования статистических данных для оперативных нужд компонентов, осуществляющих обработку постепенно [3].

Методика обработки зависит от предмета исследования, объема статистического файла и количества исследуемых, а также срока обработки и финансовых ресурсов, доступных для обработки. Машинная обработка в настоящее время приобретает все большее значение из-за скорости, точности и общей эффективности обработки данных. Использование компьютерной техники предполагает обширные знания технических параметров отдельных устройств и их работы, а также знание языков программирования. Таким образом, обработка формирует обширную дисциплину [2]. В диссертационных работах и публикациях, посвященных проблемам физического воспитания, спортивной подготовки, представляется обширный массив цифровых данных, статистическая обработка которого завершается различными видами анализа, моделирования, прогнозирования. Поэтому выбор методов математической статистики является весьма актуальны [4,5].

Таким образом, математическое моделирование, основанное на методах статистической обработки и анализа исходной информации напрямую связано с целью и задачами исследования с учетом того, что оптимальная стратегия тренировки в различных видах спорта во многом зависит от знания ведущих факторов, оказывающих наибольшее влияние на уровень спортивных достижений в конкретном виде спорта. Применяя методы математической статистики в физкультурно-спортивной отрасли, необходимо следовать принципу примата качества, который требует, чтобы они применялись не вслепую, в расчете на последующую «интерпретацию» результатов, полученных эмпирическим формальным путем, а с самого начала базировались на теории данной области явлений и специфической логике исследуемого предмета.

Список литературы

1. Костенко Е.Г. Анализ и статистическая обработка данных спортивно-педагогических исследований: монография / Е.Г. Костенко, Е.В. Мирзоева, В.В. Лысенко. – Чебоксары, 2019. – 132 с.
2. Костенко Е.Г. Практические рекомендации применение компьютерных технологий в обработке и анализе результатов измерений в области физической культуры и спорта / Е.Г. Костенко, В.В. Лысенко // The Scientific Heritage. – 2020. – №47–3 (47). – С. 25–27.
3. Костенко Е.Г. Математика и математическая статистика: учебное пособие / Е.Г. Костенко. – Краснодар, 2020. – 151 с.
4. Костенко Е.Г. Математические методы анализа и обработки данных в спорте: учебное пособие / Е.Г. Костенко, Е.В. Мирзоев. – Краснодар, 2022. – 92 с.
5. Моделирование, прогнозирование и планирование в спорте: учебное пособие / Е.Г. Костенко, Е.В. Мирзоев. – Краснодар, 2022. – 80 с.

Ленгесова Наталья Анатольевна

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник
Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Беззубенкова Ольга Евгеньевна

канд. биол. наук, доцент, начальник учебного управления
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

ОСОБЕННОСТИ ПОДГОТОВКИ ОБУЧАЮЩИХСЯ К УЧАСТИЮ ВО ВСЕРОССИЙСКОЙ ОЛИМПИАДЕ ШКОЛЬНИКОВ ПО БИОЛОГИИ

Аннотация: в статье рассмотрены особенности подготовки обучающихся к участию во Всероссийской олимпиаде школьников по биологии.

Ключевые слова: олимпиада, Всероссийская олимпиада школьников, одаренный школьник, качество образования, практический тур.

Перед современной системой образования стоит главная задача – поиск, развитие и поддержка талантливой молодежи в изменчивом социуме. На сегодняшний день это одно из актуальных направлений. На решение этой задачи направлены всевозможные предметные олимпиады школьников, которые повышают интерес учащихся к науке, помогает развивать творческий потенциал, познавательную активность, а также способствуют профессиональной ориентации школьников.

По результатам участия в Олимпиадах оценивают качество образования школы. Также стоит отметить, что в настоящее время победа учащегося на Олимпиадах является достаточным основанием для получения льгот при зачислении в вузы и считается важным фактором определения степени готовности обучающегося к профильному и углубленному изучению предметов.

Роль учителя и школы разглядеть и раскрыть талант и одарённость ребёнка, развить его познавательный интерес к предмету и подвести к достижению высоких результатов в учебе. Однако для этого, необходим ряд выполняющихся условий. Ребёнка можно научить побеждать, если у него есть определённые природные данные. Но, как показывает практика, самым главным является

наличие четко слаженной системы подготовки к олимпиаде, взаимодействие всех ресурсов. Подготовка к олимпиадам должна быть систематической и планомерной, с этой целью необходимы программа подготовки и методические пособия, данная работа восполняет подобный пробел и является актуальной.

В современной России с 2009 года, предметные олимпиады проводятся по схеме, согласно Положению о проведении Всероссийских олимпиад, которая включает в себя 4 этапа: школьный, муниципальный, региональный и заключительный. Школьный и муниципальный этапы в последнее время меняют свой формат. Так, школьный этап по биологии в настоящее время проходит на образовательной платформе «Сириус», что дает возможность участвовать любому школьнику страны. Школьный этап, так же является самым массовым по количеству участников этапом Олимпиады. Муниципальный этап тоже предусматривает только теоретический тур. Начиная с регионального этапа, который проводится по олимпиадным заданиям, разработанным центральной предметно-методической комиссией Олимпиады задания включают не только теоретические вопросы, но и практический этап. На этом этапе кроме теоретического тура проводится практический. Практический тур состоит из трех кабинетов для каждого класса.

Схема проведения заключительного этапа сходна с региональным этапом, но теоретический тур включает большее число тестовых заданий. Практический тур состоит из четырех кабинетов. Содержание заданий значительно сложнее, чем на других этапах, они приближены к заданиям международной олимпиады по биологии. По итогам проверки выполнения заданий создается рейтинговый список, на основании которого выявляются призеры и победители. Количество призеров и победителей определяется регламентирующими документами Минобрнауки РФ.

В каждом регионе Российской Федерации разрабатываются свои программы, форумы, конференции, проекты и меры поддержки одаренных детей.

Подготовка к заключительному этапу успешно реализуется в небольшом числе субъектов Российской Федерации. Далее представлен анализ подготовки учащихся тех регионов, в которых

много ребят становятся победителями и призерами Заключительного этапа ВОШ по биологии.

Наиболее эффективная система подготовки школьников к олимпиадам сложилась за последнее десятилетие в Москве. В этом городе ведет активную работу со школьниками в первую очередь МГУ и его структурные подразделения (например, сотрудники (Ботанического сада). Подготовку школьников ведут известные ученые и преподаватели, большинство которых являются членами жюри и членами ЦПМК всероссийской олимпиады по биологии. Функционирует ГОУ Специализированный учебно-научный центр – факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, школа имени А.Н. Колмогорова (СУНЦ МГУ). Химико-биологическое отделение СУНЦ МГУ является одним из лучших направлений. В Москве имеется региональный центр олимпиадного движения «Взлет». Региональный Центр выявления, поддержки и развития способностей и талантов детей и молодежи Московской области создан в 2019 году на базе Гимназии имени Е.М. Примакова по инициативе Правительства Московской области. Немаловажным является то, что в Москве и Московской области регулярно организуются выездные школы и учебно-тренировочные сборы для заинтересованных в предмете детей. В г. Пущино ежегодно проходит Всероссийский турнир юных биологов. Работа образовательных центров, школ, клубов сопровождается спонсорской поддержкой. В результате на заключительном этапе биологической олимпиады отмечается доминирование учащихсся сборной команды г. Москва.

В Республике Татарстан ведущую роль в подготовке школьников играет ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» – КФУ. Работу по подготовке и проведению предметных олимпиад осуществляет Центр довузовского образования КФУ. Сборная команда участников заключительного этапа биологической олимпиады от Республики Татарстан – одна из самых многочисленных. Так же в Республике Татарстан имеется ГАОУ «Республиканский олимпиадный центр» Министерства образования и науки Республики Татарстан (далее – ГАОУ «РОЦ») открыт в 2014 году. В 2016 году в состав ГАОУ «РОЦ», как его структурное подразделение вошел оздоровительно-образовательный комплекс «Дуслык» (далее – ООК «Дуслык»). На протяжении по-

следних лет по итогам заключительного этапа олимпиады всегда есть призеры и победители из Татарстана.

В г. Саранск работает ГБОУ РМ «Республиканский лицей для одарённых детей», куда отбираются одаренные дети, начиная с 7 класса. Лицей входит в десятку лучших школ страны. Почти все призеры и победители заключительного этапа биологической олимпиады от сборной Республики Мордовия – учащиеся этого лицея.

В Пензенской области активно работает ГБОУ «Губернский лицей-интернат для одаренных детей», где ведется серьезное сотрудничество с вузами по обучению одаренных детей. Со школьниками занимаются высококвалифицированные педагоги, преподаватели Пензенского государственного университета. На базе лицея проводятся собственные открытые олимпиады и конкурсы. Результативность работы со школьниками заслуживает самой высокой оценки: с 2012 года ежегодно учащиеся становятся призерами или победителями заключительного этапа олимпиады по биологии.

В Удмуртской Республике ведет активную работу по подготовке олимпиадников Образовательный центр «ТАУ» – это уникальная образовательная площадка. Задача центра – обеспечить всех детей Удмуртии условиями, которые позволят учащимся заниматься научной творческой. Данный центр проводит свои конкурсы, олимпиады и соревнования. Победители и призеры этих мероприятий автоматически попадают в базу данных одаренных детей Удмуртии и получают возможность стать стажерами центра ТАУ (а это приоритетное зачисление на профильные лагерные смены и другие программы ТАУ). Также имеется Федеральный детский эколого-биологический центр, который, к примеру, совсем скоро запускает конкурс инновационных экономических, а также экологических проектов «Мои зеленые Стартапы».

Что касается Ульяновской области, то до последнего времени подготовка школьников к олимпиадам осуществлялась в основном школьными учителями, без какой-либо системы или образовательного центра. Многие учителя традиционно делают упор на освоение учеником всей школьной программы биологии и на решение тестовых заданий и заданий прошлых лет. Соответственно такая форма подготовки не может привести к высоким результа-

там, и это очевидно, потому что, Всероссийская олимпиада школьников, а именно знания, необходимые для участия в региональном и заключительном этапе, лежат за пределами школьной программы.

В Ульяновской области в последние годы проводятся учебно-тренировочные сборы. Целью сборов является подготовка к региональному этапу ВсОШ. Однако не все школы области могут отправить детей на них.

Хорошие условия для работы с одаренными детьми предоставляет ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет имени И.Н. Ульянова». В 2013 году была открыта «Малая академия естественнонаучного образования» при «Научно-исследовательском центре фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии» (НИЦ ФППББ УлГПУ). В 2015 году при УлГПУ открылся общеобразовательный лицей. На этих учебных площадках ведется подготовка учащихся старших классов по углубленной программе изучения биологии, проводятся курсы по решению олимпиадных заданий.

В последние годы на территории Ульяновской области поддержка талантливых детей осуществляется Областной государственной бюджетной нетиповой образовательной организацией «Центр выявления и поддержки одарённых детей в Ульяновской области «Алые Паруса» Был подписан документ о сотрудничестве с образовательным центром «Сириус». На данный момент, в сменах ОЦ «Сириус» (г. Сочи) уже побывало более 300 ульяновцев. Участие в сменах данного центра – отличная возможность попасть в среду профессионалов, поучаствовать в принципиально новых образовательных программах. Немаловажным является то, что многие из тех, кто прошел обучение в «Сириусе» уже учатся в престижных университетах страны. Так же, был утвержден приоритетный проект «Региональная модель развития талантов» и создан региональный образовательный фонд поддержки талантов.

В 2022–2023 году при поддержке ОГБН ОО «Центр выявления и поддержки одарённых детей в Ульяновской области «Алые Паруса» реализуется программа дополнительного образования «Олимпиадная биология», которая включает в себя две части: теоретическая подготовка, которая ведется в формате онлайн 2 раза в неделю по 2 часа и 2 практикоориентированные смены по

10 дней в загородном кампусе этой организации. Всего в программе более 70 обучающихся, кампус на смены принимает около 40 учащихся.

Таким образом для организации подготовки обучающихся к участию во Всероссийской олимпиаде школьников по биологии необходимо использовать различные инструменты, а именно выявление талантливых ребят, создание им условий для углубленного освоения знаний по биологии, чему может способствовать создание круглогодичной программы на базе высших учебных заведений, открытие центров подготовки, летних предметных лагерей, разработка и распространение специальных пособий и учебников для повышения качественной подготовки одаренных школьников.

Ленгесова Наталья Анатольевна

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник
Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Беззубенкова Ольга Евгеньевна

канд. биол. наук, доцент, начальник учебного управления
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Араданова Регина Алексеевна

Магистрант
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

ДЕМОНСТРАЦИОННЫЙ ЭКЗАМЕН КАК ФОРМА АТТЕСТАЦИИ БУДУЩИХ ПЕДАГОГОВ

Аннотация: в статье актуализируется проблема использования демонстрационного экзамена как альтернативного средства итогового контроля индивидуальных образовательных результатов студентов будущих педагогов. Показано, что демонстрационный экзамен отвечает всем современным требованиям к оценке образовательных результатов студентов будущих педагогов.

Ключевые слова: демонстрационный экзамен, аттестация, государственная итоговая аттестация, ГИА, выпускная квалификационная работа, ВКР, промежуточная аттестация.

В России произошли значительные изменения во многих областях жизни, которые затронули и сферу образования. Однако до сих пор остаются проблемы качества подготовки учителей и процедуры оценивания их готовности к дальнейшей профессиональной деятельности. Классическая модель этой процедуры, основанная на устных ответах на теоретические вопросы, не всегда предоставляет полную и объективную оценку готовности выпускников к профессионально-педагогической деятельности, особенно в отношении прикладного компонента. В настоящее время важен поиск модернизированных моделей аттестации.

Государственная итоговая аттестация представляет собой форму определения степени и уровня освоения студентами-выпускниками конкретной образовательной программы вуза и проводится на основе принципов объективности и независимости оценки качества подготовки обучающихся, которые являются итоговыми критериями в интегративном ряду таких мониторинговых и рейтинговых принципов качества высшего образования, как: структурности, согласованности, координации, коммуникативности, целостности, соответствия ФГОС ВО и развития процесса подготовки бакалавров, специалистов и магистров. В системе высшего образования государственная итоговая аттестация является обязательной процедурой и в подавляющем большинстве проводится в формах выпускной аттестационной работы и письменного экзамена по билетам.

В печати последних лет появились публикации, посвященные теме аттестации будущих учителей. Причем эта тема актуальна для многих стран.

Характеристика работ отечественных специалистов позволяет утверждать, что в них обращается внимание и на содержание, и на процедуру аттестационного дела. Так, Т.Г. Архипова предлагает оценивать преддипломную практику, оценки гос. экзамена, выпускной квалификационной работы и оценку работодателя [1].

Е.Е. Дурнева предлагает применять элементы:

- 1) тестирование мировоззренческих и нормативных компетенций;
- 2) решение комплексных профессиональных задач в форме кейсов;
- 3) защиту выпускной квалификационной работы [2].

Е.В. Яковлев и Н.О. Яковлева предлагают разделять аттестационные экзамены на: организованный в ходе ГИА, т.е. профессиональный и квалификационный.

В.А. Далингер считает важными оценку профессионального опыта, мотивации, личностных качеств и других профессиональных характеристик [3].

Е.П. Антипова и Т.Н. Шамало считают государственный профессиональный экзамен как первый квалификационный экзамен учителя.

Краткий анализ работ зарубежных авторов говорит о том, что в них основное внимание обращается на поиск и использование конкретных форм аттестации выпускников, будущих учителей. Например, студенты Германии после окончания университета и сдачи первого государственного экзамена начинают готовиться к практическому этапу аттестации. После следует государственный экзамен, который определяет уровень профессиональной компетентности, необходимый для получения должности учителя.

Практический этап аттестации включает в себя два открытых экзаменационных урока по преподаваемым предметам, письменную работу по исследовательской проблеме учителя и коллоквиум по определенным вопросам. Тема письменной работы соискателя на должность учителя должна связываться с собственной педагогической практикой и в то же время основываться на научных положениях и принципах [4].

Во Франции особенность аттестации заключается в обязательном участии выпускников в конкурсах на замещение вакантной должности преподавателя. Студенты педагогических университетов сдают конкурсные экзамены. Наравне со студентами экзамен сдают и претенденты на вакансии, готовившиеся к конкурсу самостоятельно. Испытание начинается с письменной работы и устного экзамена, по результатам которых они будут допущены к основному конкурсу. Успешно пройдя этот конкурсный экзамен, студент-выпускник вуза получает место работы в качестве учителя [5].

Получается, что зарубежные авторы большую склонность проявляют к использованию практико-ориентированных demonstra-

ционных версий. В этом просматривается их нацеленность на итоговые процедуры международного движения WorldSkills.

На наш взгляд, модернизированной формой аттестации должен стать демонстрационный экзамен.

В системе обучения среднего профессионального образования демонстрационный экзамен широко используется для демонстрации умений и навыков, необходимых для работы по выбранной специальности. Демонстрационный экзамен, преимущественно, проходит по направлениям подготовки промышленных и технических направленностей: поварское дело, программирование и кибербезопасность, строительство и эксплуатация зданий и сооружений, бизнес, электромонтаж и т. д. Проанализировав электронные сайты Учреждений Высшего образования в России, мы обнаружили, что демоэкзамен чаще применялся в ГИА различных вузов по таким направлениям подготовки, как: банковское дело, бухгалтерский учет, финансы, информационные технологии, технологические системы энергетических объектов и т. д. В педагогической сфере демонстрационный экзамен широко применяется в системе среднего профессионального образования для моделирования реальных производственных условий работы с учащимися, в ходе которого будущие учителя должны показать все то, чего они достигли за годы обучения в колледже.

Демонстрационный экзамен в системе высшего образования только начинает набирать обороты. Это не случайно, ведь демонстрационный экзамен отвечает всем современным требованиям к оценке образовательных результатов студентов-будущих педагогов. В практико-ориентированной модели высшего педагогического образования именно демонстрационный экзамен становится результативным средством итогового контроля формирования компетенций.

Задания для проведения демонстрационного экзамена будущих педагогов представляют собой комплексные практические задачи, моделирующие реальную профессиональную педагогическую деятельность. Выполняются эти задачи в режиме реального времени в форме урока по определенной теме в течение 20 мин. Обучающиеся принимают участие в демонстрационном экзамене на добровольной основе. Демонстрационный экзамен может проводиться по любой форме итоговых испытаний – как в рамках ВКР, так и государственного экзамена.

Задания профессионального (демонстрационного) экзамена включают в себя следующие обязательные компоненты: перечень проверяемых универсальных, общепрофессиональных и/или про-

фессиональных компетенций, соотнесенных с профессиональным стандартом; описание задания профессионального (демонстрационного) экзамена в соответствии со структурой; шаблон технологической карты или плана-конспекта учебного занятия, образовательного события, психолого-педагогического занятия; критерии и показатели оценивания.

В качестве кейсового задания прикладного компонента ГИА для демозамена студентам, к примеру, может быть предложено разработать и провести по предмету биология фрагмент урока с ИКТ технологиями, включающий этап открытия нового знания, а также подготовить и провести виртуальную экскурсию для школьников по значимым местам родного края, направленную на патриотическое воспитание.

Для оценки выполнения этих групп заданий организуется экспертная группа, координирует работу экспертной группы главный эксперт, учитывая индивидуальные мнения всех экспертов, что повышает объективность оценивания. Наблюдают за ходом урока эксперты из соседней технически оборудованной комнаты, т.е. экзаменуемый находится со «своими детьми» один на один.

Необходимо отметить, что успешность реализации итогового контроля обеспечивается комплексностью и функциональностью. Комплексность рассматривается как межпредметность. Под функциональностью понимается взаимосвязь приобретаемых компетенций с конкретными видами и задачами профессиональной деятельности и социальной активности выпускника [6]. Демонстрационный экзамен в полной мере ориентирован на выполнение требований комплексности и функциональности, поскольку будущими педагогами при осуществлении профессиональных проб через выполнение заданий осуществляется демонстрация различных видов компетенций.

Список литературы

1. Архипова Т.Г. Роль итоговой аттестации в оценке готовности выпускников педагогического вуза к профессиональной деятельности / Т.Г. Архипова // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Гуманитарные науки. – 2014. – №12. – С. 33–35. – EDN RZKXEEZ
2. Дурнева Е.Е. Итоговая государственная аттестация бакалавров, обучающихся по федеральным образовательным стандартам третьего поколения / Е.Е. Дурнева // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – №10–1. – С. 23–26. – EDN RARFDR
3. Далингер В.А. Требования к аттестации учителей математики в условиях действия новых профессиональных стандартов педагога / В.А. Далингер // Международный журнал экспериментального образования. – 2018. – №–1. – С. 60–64.
4. Лучкина Т.В. Роль интернатуры в профессиональном становлении начинающего учителя в Германии / Т.В. Лучкина, Е.Ю. Грачева // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2010. – №9. – С. 281–290. – EDN NDKDMX

5. Семенова Ю.И. Профессиональная педагогическая подготовка учителей во Франции / Ю.И. Семенова // Высшее образование в России. – 2009. – №10. – С. 126–132. – EDN KWVBAZ

6. Блинов В.И. Методика преподавания в высшей школе / В.И. Блинов, В.Г. Виненко, И.С. Сергеев. – М.: Юрайт, 2019. – 315 с. – EDN JTWILO

Мнихович Максим Валерьевич

канд. мед. наук, ведущий
научный сотрудник, доцент
НИИ морфологии человека им. академика А.П. Авцына
ФГБНУ «РНЦХ им. академика Б.В. Петровского
г. Москва

Ерофеева Людмила Михайловна

д-р биол. наук, профессор, ведущий
научный сотрудник
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
морфологии человека»
Московский медицинский университет «Реавиз»
г. Москва

Безуглова Татьяна Васильевна

канд. биол. наук, заместитель
директора по научной работе
НИИ морфологии человека им. академика А.П. Авцына
ФГБНУ «РНЦХ им. академика Б.В. Петровского
г. Москва

Жакота Дмитрий Анатольевич

канд. мед. наук, доцент
ФГБОУ ВО «Российский национальный
исследовательский медицинский университет»
г. Москва

Ширипенко Иван Александрович

лаборант-исследователь
НИИ морфологии человека им. академика А.П. Авцына
ФГБНУ «РНЦХ им. академика Б.В. Петровского
ФГБОУ ВО «Российский национальный
исследовательский медицинский университет»
г. Москва

DOI 10.31483/r-106863

**СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ КРУЖОК: СПОСОБ
РЕАЛИЗАЦИИ ПРАКТИКО-ОРИЕНТИРОВАННОГО
ПОДХОДА К ОРГАНИЗАЦИИ УЧЕБНОГО
ПРОЦЕССА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ КАФЕДРАХ**

Аннотация: резкое сокращение в учебном плане аудиторных часов привело к сокращению часов самостоятельной аудиторной работы,

которая предполагала практическую направленность и способствовала формированию профессиональных компетенций у обучающихся. Особенно эти изменения затронули морфологические дисциплины. В статье рассматривается возможность использования студенческого научного кружка для реализации практико-ориентированного подхода. Показано, что связь студенческого научного кружка и соответствующего подразделения учебного или научно-исследовательского учреждения позволяет создать образовательную среду, объединяющую в себе возможности учебного, научно-практического и личностного роста в рамках единой профориентационной среды.

Ключевые слова: *студенческий научный кружок, практико-ориентированный подход, организация учебного процесса, морфологические кафедры.*

Для современного высшего образования характерен практико-ориентированный или компетентностный подход, который предполагает освоение обучающимися компетенций, необходимых в будущей профессиональной деятельности [1, с. 1; 3, с. 171].

На современном этапе задача системы образования состоит в том, чтобы наиболее полно раскрыть потенциал обучающегося. Особенно это важно в сфере медицинского образования, так как неординарный предмет изучения (а именно – здоровье и нездоровье человека) требует, с одной стороны, предельной широты профессионального кругозора, с другой стороны – значительной специализации, заточенной под конкретную область медицинской практики [4, с. 1119]. В рамках морфологических дисциплин эта проблема значительно обостряется тем, что, хотя нормальная и патологическая анатомия, а также цитология, гистология и эмбриология входят в перечень базовых знаний врача, для узкого специалиста-медика требуется поразительная глубина знания этих дисциплин и понимание их связи с клинической медициной. Морфологические дисциплины направлены на формирование базовых фундаментальных знаний, составляющих основу профессиональных компетенций [1, с. 1; 2, с. 45; 3, с. 171]. Однако в связи с резким сокращением в учебном плане аудиторных часов произошло сокращение часов самостоятельной аудиторной работы, которая как раз предполагала практическую направленность и способствовала формированию компетенций [3, с. 171]. Кроме того, внедрение в учебный процесс компьютерных технологий отдалает

обучающегося от биологического объекта, что также не способствует формированию профессиональных компетенций.

Не менее важным моментом в преподавании морфологических дисциплин является необходимость формирования у обучающихся не только клинического, но и научно-исследовательского мышления. Современная медицинская наука, как фундаментальная, так и клиническая, представляет собой крайне быстро изменяющуюся отрасль знания. Современные методы диагностики требуют, во-первых, знаний по соответствующим вопросам, во-вторых, зачастую и творческого подхода, так необходимого в тех областях теории и практики, которые на сегодняшний день принято считать *terra incognita*.

Одним из решений проблем базового обучения, углубленного овладения и научно-исследовательского мышления в контексте морфологических дисциплин может стать организация профориентационной среды на базе студенческого научного кружка (СНК) и соответствующего отдела учебного или научно-исследовательского учреждения. Конкретно для морфологических наук может быть предложена музейная образовательная среда (МОС), в которой органично сплетены как базовые учебные компоненты, так и научно-практические.

Помимо уточнения и углубления знаний по соответствующим дисциплинам студенту могут быть предложены занятия по препарированию макроскопического материала от «нулевого цикла» до применения специальных методов, в том числе и методов окрашивания макроскопического препарата; приготовление микропрепаратов и работа со световой и электронной микроскопией; теоретическая обработка и обсуждение достигнутых практических результатов; работа с научной литературой и подготовка собственного научного текста под контролем научного руководителя; приобретение опыта публичного представления результатов работы, связанной с МОС.

Вполне очевидно, что для проведения специальных практических занятий (будь то макро- или микропрепарирование, работа со световым или электронным микроскопом) необходимо наличие материально-технической базы, а также педагогов, работа которых в том числе состоит в организации и направлении деятельности СНК. Однако, при достижении минимальных условий, необходимых для существования МОС, прогресс профориентационного процесса не заставит себя ждать.

Так, например, студенты, заинтересованные в овладении соответствующей специальностью, не только смогут вполне понять многие неявные особенности будущей профессии, но и сделать первые теоретические и практические шаги на пути к овладению ей. Достаточно широкое представление студенческой науки на медицинских конференциях дает возможность максимально реализовать потенциал заинтересованного студента.

Стоит отметить, что МОС, основанная на базе кафедры, лаборатории или иного структурного подразделения морфологического профиля, выгодно отличается от аналогичной профориентационной среды, направленной на подготовку чисто клинических специалистов. Непосредственное тесное взаимодействие студента и пациента соответствующего клинического профиля затруднено по ряду причин как практического, так юридического и деонтологического характера. Этот неизбежный недостаток клинической профориентационной среды во многом нивелируется характером работы студента с морфологическим биоматериалом.

Помимо учебных и научно-практических достижений, МОС в том числе является площадкой для установления прочных социальных связей, значимых не только в профессиональном, но и в личном психологическом смысле.

Таким образом, связь студенческого научного кружка и соответствующего подразделения учебного или научно-исследовательского учреждения позволяет создать музейную образовательную среду, объединяющую в себе возможности учебного, научно-практического и личностного роста в рамках единой профориентационной среды.

Список литературы

1. Одинцова И.Н. Перестройка высшего образования и актуальные вопросы преподавания гистологии в медицинском вузе / И.Н. Одинцова // Вестник Российской военной медицинской академии. – 2013. – №3 (43). – С. 1–4.
2. Сазонов С.В. Проблемы подготовки кадров высшей квалификации по гистологии, эмбриологии, цитологии и преподавания этих дисциплин в медицинских вузах / С.В. Сазонов, И.А. Одинцова, Л.М. Ерофеева // Морфологические ведомости. – 2017. – Т. 25. №1. – С. 45–48.
3. Шевлюк Н.Н. Состояние и перспективы традиционных и инновационных методов преподавания гистологии, цитологии и эмбриологии в медицинском вузе (дискуссионные аспекты) / Н.Н. Шевлюк, А.А. Стадников, Е.В. Блинова // Морфология. – 2021. – Т. 159. №4. – С. 171–177.
4. Bonnel F. The teaching of anatomy in Montpellier University during VIII centuries (1220–2020) / F. Bonnel, T. Lavabre-Bertrand, C. Bonnel // Surg Radiol Anat. 2019 Oct; 41 (10): 1119–28.

Силина Юлия Алексеевна

студентка

Пырова Светлана Александровна

канд. с.-х. наук, доцент

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

ФОРМИРОВАНИЕ МОТИВАЦИИ К ЗДОРОВОМУ ОБРАЗУ ЖИЗНИ У ШКОЛЬНИКОВ НА УРОКАХ БИОЛОГИИ

***Аннотация:** в статье рассматриваются основные элементы здорового образа жизни школьников, возникновение негативных факторов, влияющих на здоровье детей в период школьного возраста, дан анализ тем учебника биологии 8 класса по изучению человека по новой программе «Линия жизни».*

***Ключевые слова:** мотивация, здоровый образ жизни, биология, внеурочная деятельность, учебник биологии, программа «Линия жизни».*

Здоровье и здоровый образ жизни подрастающего поколения – тема особо актуальна. Особое значение данная тема занимает среди детей подросткового возраста. Подрастающее поколение обычно пренебрежительно относится к собственному здоровью, вследствие чего возникают всевозможные нарушения здоровья и различные заболевания. Как показывает практика, постоянно происходит ухудшение здоровья учащихся и причиной этого является не только наследственность и окружающая среда, но и образ жизни людей.

У подростков происходит активное формирование образа жизни, и каким он будет, зависит собственное здоровье и здоровье последующего поколения. Следовательно, подросткам необходимо должным образом сформировать мотивацию, обучить навыкам укрепления организма, а также управлению собственной психикой.

В большей степени на формирование здорового образа жизни подростков влияет школа. В урочной и внеурочной деятельности учащиеся получают знания о здоровье, его сохранении и укреплении.

Одним из значимых звеньев в формировании здорового образа жизни у школьников может быть изучение предмета биологии. Учитель может внести свой важный вклад в становление здорового образа жизни учащимся подросткового возраста на уроках.

Особенно актуально поднимать данные темы учителю биологии во время прохождения курса «Анатомии человека» который представлен в 8 классе. При прохождении на уроках разных частей тела, систем органов и их работы, можно уделять время в рамках урока на рассказ о профилактике заболеваний, касаемо данной сферы, а также как влияют на организм человека различные вредные вещества и действия.

Когда говорят о здоровом образе жизни школьников, нужно учитывать новые факторы, которые могут негативно влиять на их здоровье. Это, например, увеличение учебной нагрузки, занятия в дополнительных учреждениях, уменьшение контроля со стороны родителей, влияние сверстников и половое созревание. Важно помнить, что ребенок становится самостоятельной личностью и формирует свои собственные взгляды на здоровый образ жизни, а также может быть психологически ранимым в критические периоды, такие как подростковый возраст.

Мотивация к здоровому образу жизни является ключевым фактором для того, чтобы дети хотели и вели здоровый образ жизни. Она помогает сохранять здоровье и повышать качество жизни на долгие годы [4].

Развитие мотивации здорового образа жизни у школьников необходимо проводить поэтапно, решая определенные задачи:

1. Формирование системы валеологических знаний, что поможет установить понятийно-сущностный уровень понимания здорового образа жизни.

2. Формирование комплекса умений и навыков здорового образа жизни, что позволит применять практические навыки в реальной жизни.

3. Развитие опыта продуктивной здоровьеразвивающей деятельности, что способствует формированию мировоззренческого уровня понимания здорового образа жизни.

4. Формирование личностно-ценностного отношения к здоровью и осознанной потребности в здоровом образе жизни, что является концептуальным уровнем понимания здоровья.

Учитель должен постоянно помогать школьникам становиться более мотивированными к здоровому образу жизни, решая задачи постепенно. Для этого необходимо использовать различные методы и приемы, чтобы создать у учащихся потребность быть здоровыми и вдохновить их на здоровый образ жизни [2].

Работа по формированию мотивов здорового образа жизни должна основываться на системности, непрерывности, эмоциональном стимулировании для создания у подростков позитивного

отношения к своему здоровью [2]. Таким образом, формирование мотивации к здоровому образу жизни у подростков включает в себя не только учебную программу, но и воспитание правильных ценностей и убеждений.

Школа должна учить детей о здоровье и здоровом образе жизни, таких как правильное питание, регулярные физические упражнения и профилактика вредных привычек. Биология – это важный предмет, который помогает детям понять, как работает организм человека, как он растет и развивается, и как сохранять его здоровье.

Для того, чтобы учить детей о здоровом образе жизни, учителя должны быть очень хорошо подготовлены. Они должны уметь объяснять материал так, чтобы дети лучше его понимали. Чтобы уроки были интересными, можно проводить их в необычных форматах, например, в виде диспутов, конференций или защиты проектов. Также можно использовать игры, загадки и головоломки [1]

Использование интересных элементов в учебном процессе помогает не только улучшить познавательную деятельность учеников, но и сделать уроки более интересными и запоминающимися. Такие элементы помогают стимулировать развитие сообразительности и фантазии учеников, что существенно влияет на качество усвоения материала. Кроме того, занимательные формы обучения помогают закрепить уже полученные знания и развить биологическую память.

Важно отметить, что использование игровых технологий в учебном процессе может быть очень эффективным. Игры позволяют перейти от развлечения к развитию, включив элементы творчества и фантазии. Они должны быть адаптированы к возрасту и уровню знаний учеников, и усложняться постепенно, чтобы не вызывать чувства неудачи у учеников. Если ученик успешно справляется с заданием, он получает дополнительный стимул для развития и готовности к более сложным заданиям.

Использование занимательных элементов и игровых технологий в учебном процессе является важным фактором в формировании здорового образа жизни учеников, но следует учитывать, что проведение такой работы на уроках биологии невозможно вследствие нехватки времени. Это приводит к необходимости введения в учебный процесс внеурочной деятельности как дополнительный ресурс освоения материала.

Серия учебно-методических комплектов «Линия жизни» для курса биологии под редакцией В.В. Пасечника является одним из

наиболее популярных и востребованных учебных пособий в России. Она разработана в соответствии с федеральным перечнем учебников, которые рекомендуется использовать при реализации государственно аккредитованных образовательных программ начального, основного и среднего общего образования [3].

Курс биологии в 8 классе предназначен для того, чтобы ученики узнали, как устроен организм человека, как он функционирует и какие факторы влияют на его здоровье. В рамках курса дети изучают анатомию и физиологию человека, органов и систем органов человека, таких как сердечно-сосудистая, дыхательная, пищеварительная, выделительная, нервная, эндокринная и другие. Ученики узнают о том, как работают эти системы, как они взаимодействуют друг с другом и какие функции выполняют [3].

Одним из главных направлений курса является поощрение здорового образа жизни. Ученики узнают о том, как правильно питаться, как вести активный образ жизни и как избегать вредных привычек. Они также изучают гигиену и узнают о том, как поддерживать личную гигиену и обеспечивать безопасность в повседневной жизни.

К тому же курс биологии включает изучение влияния окружающей среды на здоровье человека, включая факторы, такие как загрязнение воздуха, воды, почвы, шум, радиация и другие. Ученики узнают о том, как эти факторы влияют на организм человека и как можно защитить себя от их воздействия.

Исходя из вышеизложенного, возникает необходимость представления очень большого объема информации. Представить информацию только в урочное время невозможно и возникает необходимость введения в учебный процесс курсов внеурочной деятельности, что, на наш взгляд, позволит углубить знания школьников, осмыслить полученную информацию и применить ее в повседневной жизни.

Таким образом, мотивация к здоровому образу жизни очень важна для школьников и должна формироваться с самого раннего детства. Это поможет сохранить здоровье и повысить качество жизни на долгие годы. Должны сформироваться личные взгляды и убеждение, что иного способа к здоровью, благополучию для себя, своей семьи и общества просто не существует.

Список литературы

1. Балабанова Т.Н. Формирование здорового образа жизни учащихся на уроках биологии / Т.Н. Балабанова // МБОУ ЦО. – 2021. – №43 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://almanahpedagoga.ru/servisy/publik/publ?id=52020&date=15.09.2021>

2. Борисова Л.Б. Формирование мотивации к здоровому образу жизни у детей / Л.Б. Борисова [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.art-talant.org/publikacii/22544-formirovanie-motivacii-k-zdorovomu-obrazu-ghizni-u-detey>

3. Пасечник В.В. Биология. Примерные рабочие программы. Предметная линия учебников «Линия жизни». 5–9 классы: учебное пособие для общеобразоват. организаций / В.В. Пасечник [и др.]. – 2-е изд. – М.: Просвещение, 2020. 128 с.

4. Папоян К.А. Мотивация здорового образа жизни / К.А. Папоян [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://spravochnik.ru/psihologiya/motivaciya_zdorovogo_obraza_zhizni/#:~:text=Мотивация%20здорового%20образа%20жизни%20\(ЗОЖ\),оно%20не%20является%20постоянной%20величиной](https://spravochnik.ru/psihologiya/motivaciya_zdorovogo_obraza_zhizni/#:~:text=Мотивация%20здорового%20образа%20жизни%20(ЗОЖ),оно%20не%20является%20постоянной%20величиной)

Степанова Полина Андреевна
студентка

Булат Роман Евгеньевич
д-р пед. наук, доцент, профессор

ГАОУ ВО ЛО «Ленинградский государственный
университет им. А.С. Пушкина»
г. Санкт-Петербург

DOI 10.31483/r-106707

РЕАЛИЗАЦИЯ ПРОБЛЕМНОГО ОБУЧЕНИЯ НА УРОКАХ БИОЛОГИИ

***Аннотация:** в исследовании раскрывается потенциал практического применения достижений теории проблемного обучения в решении задач, связанных с выполнением обновлённых требований ФГОС ООО и ФООП ООО к результатам освоения учебного предмета «Биология». На этой основе доказывается, что теоретическое обоснование и практическая разработка технологических карт уроков, которые будут включать элементы проблемного обучения, способны повысить эффективность освоения обучающимися учебного предмета «Биология». В ходе исследования выявлено, что применение проблемного обучения сопряжено с учётом ряда особенностей: значительным объёмом времени как на подготовку к проблемному уроку, так и на демонстрацию учебного материала; недостаточной эффективностью проблемного обучения при решении задач формирования практических навыков и умений, а также при усвоении совершенно новых разделов учебной информации и др. При этом эффективность использования проблемного обучения в первую очередь зависит от качества и объёма предварительной работы педагога и его целевого применения при освоении обучающимися единиц знания высокого уровня обобщённости или сложных биологических понятий, закономерностей развития биологического объекта.*

Ключевые слова: проблемное обучение, учебный предмет «Биология», технологическая карта урока, эффективность обучения.

В основе проблемного обучения лежат идеи Джона Дьюи. Современная теория проблемного обучения базируется на результатах фундаментальных исследований отечественных ученых Б.Г. Ананьева, А.Н. Леонтьева, Д.Н. Узнадзе, С.Л. Рубинштейна и др. Дидактика проблемного обучения опирается на психологические теории мышления и его развития. Значительный вклад в её развитие внесли научные достижения Л.В. Занкова, И.Я. Лернера, М.Н. Скаткина, А.М. Матюшкина, А.Я. Пономарева, М.И. Махмутова и др. [1–5].

Более поздние результаты научных исследований отечественных учёных в области теории проблемного обучения опубликованы А.В. Брушлинским, В.Т. Кудрявцевым, А.В. Хуторским и др. и применены в практике образовательной деятельности [6–8].

Вместе с тем, потенциал практического применения достижений теории проблемного обучения до сих пор остаётся до конца не раскрытым [9; 10]. Так, например, перспективным направлением дальнейших исследований может стать выявление потенциала проблемного обучения в решении задач, связанных с выполнением обновлённых требований ФГОС ООО и ФООП ООО к результатам освоения учебного предмета «Биология» [11; 12].

Проведённый нами анализ подтвердил, что установленные ФГОС ООО с 1 сентября 2022 г. и ФООП ООО с 1 января 2023 г. требования к сформированности у обучающихся личностных, предметных и метапредметных результатов освоения учебного предмета «Биология» в ООП были уточнены [13–15].

Выполнение обновлённых требований к результатам освоения обучающимися содержания учебного предмета «Биология», на наш взгляд, наиболее целесообразно за счёт теоретического обоснования и практической разработки технологических карт уроков, которые будут включать элементы проблемного обучения [16; 17]. Поэтому объективная потребность поиска новых, отвечающих современным условиям, эффективных практических приёмов и форм реализации достижений теории проблемного обучения на уроках биологии не подлежит сомнению и обуславливает актуальность нашего исследования. Таким образом, актуальность и значимость выполнения обновлённых требований ФГОС ООО и ФООП ООО к результатам освоения учебного предмета «Биология» предопределили формулировку темы нашего исследования: «Проблемное обучение и его реализация на уроке биологии».

В качестве объекта исследования выступает реализация теории проблемного обучения в учебном предмете «Биология», а предметом исследования является потенциал проблемного обучения при проведении уроков биологии.

В соответствии с выявленными противоречиями в реализации теории проблемного обучения в современных условиях освоения обучающимися учебного предмета «Биология», нами была сформулирована цель исследования: выявить потенциал проблемного обучения в повышении результативности уроков биологии. Для реализации цели потребовалось выполнение задач исследования:

- 1) раскрыть суть и сущность термина «проблемное обучение»;
- 2) выявить теоретические основы и особенности разработки технологической карты урока;
- 3) раскрыть особенности реализации проблемного обучения на уроках биологии в школе;
- 4) разработать и апробировать технологические карты уроков биологии на основе проблемного обучения;
- 5) сформулировать выводы на основе анализа результатов внедрения в образовательную практику технологических карт уроков биологии, разработанных на основе проблемного обучения.

В рамках теоретической части нашей работы на основе анализа различных подходов к определению понятия «проблемное обучение» мы сформулировали свой взгляд на исследуемое педагогическое явление: «современный уровень развития дидактики и передовой педагогической практики, при котором организация образовательного процесса основывается главным образом на фундаментальном принципе проблемности, а решение учебных задач приобретает черты самостоятельного поиска поставленной перед обучающимися проблемы, её необычной интерпретации и представления материала». При изучении особенностей сущности проблемного обучения нами было выявлено, что его организация обеспечивает интенсивное развитие умственных сил обучающегося, сталкивает его с противоречивыми утверждениями, заставляет задумываться над истинным смыслом, активизирует на поиск оптимального выхода из проблемной ситуации даже при утрате возможностей достичь правильного ответа [18–20].

Вместе с тем анализ работ современных учёных показал необходимость более углубленного изучения диагностических характеристик обучающихся при конструировании уроков с применением проблемного обучения. Только на этой основе возможно пошаговое и личностно-ориентированное составление методических рекомен-

даций. Применение проблемного обучения сопряжено и с другими требующими учёта при подготовке урока особенностями: значительный объём времени как на подготовку к проблемному уроку, так и на демонстрацию учебного материала; недостаточная эффективность проблемного обучения при решении задач формирования практических навыков и умений, а также при усвоении совершенно новых разделов учебной информации и др. [10; 12; 14; 16].

Поэтому в результате теоретического анализа мы сформулировали вывод в том, что эффективность использования проблемного обучения в первую очередь зависит от качества и объёма предварительной работы педагога. Проблемное обучение наиболее рационально применять при освоении обучающимися единиц знания высокого уровня обобщённости, или сложных биологических понятий, закономерностей развития биологического объекта, при его описательных характеристиках, составлении диаграмм и таблиц [11; 13; 15; 17; 19].

Практическая часть нашего исследования включила определение базы исследования: средняя общеобразовательная школа №404 Колпинского района Санкт-Петербурга. Это позволило проанализировать характеристики обучающихся 6 «Б» и «В» классов. Для решения практических задач исследования и определения уровня усвоения учебной информации нами было использовано тестирование по методике Н. Ф. Виноградовой.

Далее нами была разработана технологическая карта урока биологии на основе проблемного обучения и в соответствии с обновлёнными требованиями ФГОС ООО и ФООП ООО. В практической части исследования приняли участие 63 обучающихся (31 и 32 в каждом классе соответственно). Конструирование урока включило: определение темы учебного материала, типа дидактической цели темы и типа урока; уточнение структуры урока и его материально-технического и программного обеспечения; отбор и подбор содержания учебного материала; выбор методов обучения и форм организации педагогической деятельности; оценка работы и рефлексия урока.

Организационная часть проведения уроков по биологии в 6 «Б» и «В» классе включила в себя несколько этапов. По результатам проведения уроков были сформулированы методические рекомендации.

Эмпирическая часть исследования показала, что внедрение в образовательную практику технологической карты биологии, разработанной на основе проблемного обучения, является значимым этапом в практике. Результаты, полученные в ходе проведённого

исследования, показали, что занятия по биологии с использованием технологий проблемного обучения обладают на практике большей эффективностью, чем стандартное проведение урока, как с психолого-педагогической точки зрения, так и с точки зрения продуктивности выполнения контроля знаний, усвоения учебного материала. При этом выявленные в ходе эмпирической части исследования несоответствия и недостатки будут учтены нами в дальнейших исследованиях.

Таким образом, исследование на тему: *«Реализация проблемного обучения на уроках биологии»* показало, что:

потенциал практического применения достижений теории проблемного обучения до сих пор остаётся до конца не раскрытым, поэтому его выявление может стать перспективным направлением дальнейших исследований в решении задач, связанных с выполнением обновлённых требований ФГОС ООО и ФООП ООО к результатам освоения учебного предмета «Биология»;

выполнение обновлённых требований ФГОС ООО и ФООП ООО к результатам освоения обучающимися содержания учебного предмета «Биология» наиболее целесообразно за счёт теоретического обоснования и практической разработки технологических карт уроков, которые будут включать элементы проблемного обучения;

объективная потребность поиска новых, отвечающих современным условиям, эффективных практических приёмов и форм реализации достижений теории проблемного обучения на уроках биологии обусловила поиск потенциала проблемного обучения в повышении результативности уроков биологии;

анализ первоисточников показал необходимость более углубленного изучения диагностических характеристик обучающихся при конструировании уроков с применением проблемного обучения, что предопределяет пошаговое и личностно-ориентированное составление технологических карт уроков и методических рекомендаций к ним;

применение проблемного обучения сопряжено и с учётом ряда особенностей: значительным объёмом времени как на подготовку к проблемному уроку, так и на демонстрацию учебного материала; недостаточной эффективностью проблемного обучения при решении задач формирования практических навыков и умений, а также при усвоении совершенно новых разделов учебной информации и др.;

эффективность использования проблемного обучения в первую очередь зависит от качества и объёма предварительной работы педагога и его целевого применения при освоении обучающимися

единиц знания высокого уровня обобщённости или сложных биологических понятий, закономерностей развития биологического объекта;

эмпирическая часть исследования и математическая обработка её результатов доказала эффективность внедрения проблемного обучения в практику уроков по учебному предмету «биология».

Список литературы

1. Лернер И.Я. Проблемное обучение / И.Я. Лернер. – М.: Знание, 1974. – С. 267
2. Махмутов М.И. Организация проблемного обучения в школе / М.И. Махмутов. – М.: Просвещение, 1977. – 240 с.
3. Оконь В. Основы проблемного обучения / В. Оконь. – М.: Просвещение, 1968. – 208 с.
4. Скаткин М.Н. Совершенствование процесса обучения: проблемы и суждения / М.Н. Скаткин. – М.: Педагогика, 1971. – 205 с.
5. Занков Л.В. Избранные педагогические труды / Л.В. Занков. – М., 1990. – С. 102.
6. Брушлинский А.В. Психология мышления и проблемное обучение / А.В. Брушлинский. – М.: Знание, 1983. – 96 с.
7. Кудрявцев В.Т. Проблемное обучение: истоки, сущность, перспективы / В.Т. Кудрявцев. – М.: Знание, 1991. – 80 с.
8. Хуторской А.В. Дидактическая эвристика. Теория и технология креативного обучения / А.В. Хуторской. – М.: Изд-во МГУ, 2003. – 416 с.
9. Верейна Л.М. Проблемное обучение на уроках биологии как средство повышения уровня сформированности познавательных универсальных учебных действий обучающихся / Л.М. Верейна // Актуальные исследования. – 2023. – №1 (131). – С. 77–79.
10. Воронин Д.М. Подходы к повышению эффективности обучения биологии в школе / Д.М. Воронин // Проблемы современного педагогического образования: сборник трудов: – 2018. – №59–4. – С. 7–10.
11. Зиборова И.О. Использование проблемного обучения на уроках биологии / И.О. Зиборова // Альманах мировой науки. – 2018. – №5 (25). – С. 78–79.
12. Кадырова Д.А. Проблемное обучение на уроках биологии / Д.А.Кадырова, З.М. Джахбарова, Р.У.Гаджиева // Биоразнообразие и рациональное использование природных ресурсов: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Махачкала: Дагестанский государственный педагогический университет. 2016. С. 114–115.
13. Мурылёв А.В. Проблемное обучение на уроках биологии и экологии / А.В. Мурылёв // Ключевые вопросы образования и педагогики: сборник статей по материалам международной научно-практической конференции. – 2017. – С. 89–92.
14. Нарушевич В.Н. Межпредметные связи как средство реализации проблемного обучения на уроках биологии и химии / В.Н. Нарушевич, Ю.В. Журова // Наука – образованию, производству, экономике: материалы Региональной научно-практической конференции. – 2016. – С. 201–202.
15. Поляничева Н.О. Реализация системно-деятельностного подхода на уроках биологии посредством использования метода проблемного обучения / Н.О. Поляничева // Педагогический поиск. – 2015. – №3. – С. 32–37.
16. Кадуцкая Л.А. Личностное развитие обучающихся как цель управления качеством образования / Л.А. Кадуцкая, Р.Е. Булат // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Гуманитарные науки. – 2013. – №13 (156). – С. 238–242.
17. Байчорова Х.С. Психолого-педагогический потенциал совершенствования системы управления качеством образования / Х.С. Байчорова, Р.Е. Булат // Человек и образование. – 2020. – №4 (65). – С. 127–133. – DOI 10.54884/S181570410020505-0. – EDN GAVVNC.

18. Породенко А.С. Приёмы и методы технологии проблемного обучения на уроках биологии / А.С. Породенко // Молодой ученый. – 2020. – №3 (293). – С. 447–450.

19. Разумная Е.В. Использование элементов проблемного обучения на уроках биологии / Е.В. Разумная // Молодой ученый. – 2011. – №10–2. – С. 175–177.

20. Сдобнова С.Д. Методические приемы проблемного обучения как средство формирования познавательных универсальных учебных действий на уроках биологии и химии / С.Д. Сдобнова // Актуальные вопросы теории и практики биологического и химического образования: материалы XII-й всероссийской с международным участием научно-практической конференции. – Волгоград, 2018. – С. 272–278.

Суворова Анна Игоревна

канд. геогр. наук, доцент

Кривоногов Никита Александрович

студент

ФГБОУ ВО «Шадринский государственный
педагогический университет»
г. Курган, Курганская область

ЯДРА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО КАРКАСА КАК ЭЛЕМЕНТ УСТОЙЧИВОГО РАЗВИТИЯ ТЕРРИТОРИИ

***Аннотация:** в статье проведён анализ понятия «экологического каркаса», элементов, составляющих его. Предпринята попытка рассмотреть основные элементы природно-экологического каркаса Заводоуковского городского округа Тюменской области. Описаны ядра природно-экологического каркаса городского округа, определено местоположение и отмечены особенности функционирования в условиях влияния хозяйственных систем.*

***Ключевые слова:** экологический каркас, природно-экологический каркас, Заводоуковский городской округ.*

Одним из первых об экологическом каркасе как системе природных комплексов особой экологической ответственности упоминает В.В. Владимиров, который отмечает, что экологический каркас включает узлы и оси сосредоточения наибольшей экологической активности. В концепции природного каркаса П. Кавалюскаса отмечается, что это и зона особой экологической ответственности, охватывающая наиболее важные в геодинамическом отношении ареалы [3]. В более поздних исследованиях Р.Г. Сафиуллина и Р.М. Сафиуллина экологический каркас территории определяется как совокупность экосистем территории с определенным режимом природопользования, управляемая и обеспечивающая устойчивое развитие территории [3]. Элементами каркаса, по мнению В.А. Николаева, являются разного рода зеленые

насаждения и водоемы. Э.Н. Сохнина и Е.С. Зархина под экологическим каркасом понимают сомкнутую систему зон максимальных напряжений гео- и биопотоков территорий и подчеркивают, что экологический каркас может иметь различные уровни иерархии: глобальный, региональный, бассейновый и локальный [3]. Экологический каркас как сложный природно-территориальный комплекс рассмотрен в трудах Б.Б. Родомана, Н.Ф. Реймерса, Б.И. Кочурова, А.В. Елизарова, А.Ю. Ретеюма и других учёных.

Рассмотрим экологический каркас г. Заводоуковска Тюменской области. Численность населения города, получивший в 1960 г. статус города, составляет 27100 человек. Расположен на Западно-Сибирской равнине, в пределах 2-й и 3-й надпойменных террас реки Тобола, протекающего в 5 – 6 километрах к западу от него. Заводоуковский городской округ расположен в пределах границ лесостепной и таежной областей. Поверхность осложнена неглубокими бессточными понижениями, оврагами, единичными карьерами и прорезана долиной притока Тобола рекой Ук [1; 2].

Экологический каркас г. Заводоуковска начал формироваться с начала XX в. Сосновый бор городского округа, активно посещаемый горожанами, постепенно стал выполнять функции центрального городского парка. Окончательно территория сформировалась уже к концу 1950-ых гг. Общая площадь городских лесов - 246 га.

В настоящее время в пределах Заводоуковского городского округа можно выделить элементы экологического каркаса.

Ядром экологического каркаса, выполняющим средообразующую функцию Заводоуковского городского округа, можно считать комплексный памятник природы регионального значения «Колмаковский парк». Парк получил название в честь купца-промышленника Кирияна Степановича Колмакова. Упоминание о парке встречается ещё в 1885 г. у путешественников по Западной Сибири. Парк создан по Решению исполнительного комитета Тюменского областного Совета депутатов трудящихся 22 августа 1968 г., общая площадь парка - 5,9 га. Целью создания парка является охрана лесного массива, искусственного происхождения 115–135-летнего возраста. Основными представителями древесных пород являются тополь, вяз и ель. В подлеске распространены черемуха обыкновенная, боярышник, рябина сибирская, ивы, малина, жимолость лесная. В травянистом покрове произрастают звездчатка Бунге, костяника, крапива двудомная, герань лесная, вероника дубравная, хвощ луговой, лопух паутинистый. Кроме этого, на территории памятника природы отмечены редкие виды: липа, осока Арнелля [1].

Комиссаровский заказник, расположенный к юго-западу городского округа, в 9 км юго-восточнее с. Колесниково. Основная площадь (4389,90 га.) занята сосновыми и березово-сосновыми лишайниковыми и зеленомошными лесами, в сочетании с участками березовых и осиново-березовых лесов, луговой растительности, низинными осоковыми и верховыми кустарничково-сфагновыми болотами. С востока на запад через заказник протекает р. Емуртгла – правый приток р. Тобола. Вдоль берегов р. Емуртглы узкой полосой простирается травяно-кустарниковая растительность с участием ивы, тростника, рогоза широколистного. В воде отмечены элодея канадская, кувшинка чисто-белая, водокрас, ряски. На территории заказника произрастают растения, которые занесены в Красную книгу. Это ковыль перистый, башмачки настоящий и крапчатый, гроздовник виргинский, осока Арнелля, дремлик болотный. Специально установленный режим охраны запрещает любой вид деятельности. Однако сохранена возможность сбора дикоросов для жителей прилегающей территории [1].

Памятник природы «Падунский» также непосредственно следует отнести к ядру экологического каркаса. В границах памятника находится месторождение лечебных термальных минеральных вод. Древесная растительность – сосна обыкновенная и береза повислая. Особую ценность представляют участки ненарушенного ландшафта. Сосновые леса с участием липы сердцевидной и вяза с лугово-степным разнотравьем относят к региональным объектам охраны. Всего на территории памятника произрастает около 300 видов сосудистых растений. В частности, пальчатокоренник Траунштейнера, ковыль перистый, липа сердцевидная, шалфей степной, щитовник мужской, зверобой изящный, очиток живучий, вероника Крылова, скрученностник Шелля являются охраняемыми краснокнижными видами РФ и Тюменской области. В 1957 г. открыт профилакторий (с 2015 г. – это спа-отель «Ингала»).

Новозаимский парк памятник природы расположен в Заводуковском городском округе, у с. Новая Заимка, к югу от железной дороги. С восточной и юго-восточной сторон участка расположены автодорога и пашня, в западной части протекает р. Ольховка – приток р. Ук. Основную площадь памятника занимает березовый лес паркового типа с подлеском из черемухи, рябины, яблони, шиповника, малины, ивы. Из охраняемых, занесенных в красные книги Российской Федерации и Тюменской области видов растений встречается также башмачок настоящий. По берегам реки сформировались травяно-кустарниковые заросли из ивы, черной смородины, тростника, лабазника вязолистного [1; 5].

В опорную схему экологического каркаса можно включить Парк машиностроителей, который был создан 23 сентября 1930 г. При строительстве Новозаимского зерносовхоза было принято решение рекультивировать пустырь, расположенный рядом. Работники зерносовхоза разбили аллеи, высадили кустарники. Позднее благоустройство территории стало традицией. В 2007 г. территория парка была реконструирована [4].

К экологическому каркасу следует отнести и Сквер Воинской славы. В 1929 г. из части соснового бора, на западной окраине станции Заводоуковской, была образован парк Заготзерно. В настоящее время сквер значительно изменён, однако древесно-растительный покров частично сохранён [2].

А пределах границ городского округа в состав площадных элементов экологического каркаса можно также включить садовые и дачные участки, территорию коттеджной застройки, где местные жители поддерживают высокий процент озеленения территории.

Таким образом, в результате анализа природно-экологического каркаса выявлены массивы, которые могут стать ядрами экологического каркаса Заводоуковского городского округа. В перспективе необходимо проанализировать линейные и точечные элементы экологического каркаса. Это необходимо для анализа возможности внутренней и внешней взаимосвязи между основными ядрами каркаса.

Экологический каркас в городе необходим для поддержания благоприятного экологического состояния городской среды, которое в свою очередь важно для физического и психического здоровья горожан.

Список литературы

1. Глазунов В.А. Особо охраняемые природные территории Тюменской области / В.А. Глазунов, С.Л. Максимова, С.А. Николаенко [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – Тюмень: Тюменская областная Дума, 2022. – 152 с.
2. Достопримечательности Заводоуковского городского округа // Официальный портал органов государственной власти Тюменской области [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://zavodoukovsk.admtymen.ru/> (дата обращения: 26.05.2023).
3. Пономарев А.А. Экологический каркас: анализ понятий / А.А. Пономарев, Э.И. Байбаков, В.А. Рубцов // Ученые записки Казанского университета. Естественные науки. – 2012. – Т. 154. Кн. 3. – С. 228–238.
4. Путешествие в историю: история Дома культуры и Парка машиностроителей в Заводоуковске [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://safe-rgs.ru/> (дата обращения: 27.05.2023).
5. Центральный парк: Заводоуковский культурно-досуговый центр [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://zkdc.ru/czentralnyj-park/> (дата обращения: 26.05.2023).

Для заметок

Для заметок

Научное издание

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПО ПРИОРИТЕТНЫМ НАПРАВЛЕНИЯМ
БИОЭКОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ**

Сборник материалов
VI Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием
(Ульяновск, 22 мая 2023 г.)

Главный редактор *Е. И. Антонова*
Компьютерная верстка *Е. И. Антонова*
Дизайн обложки *Н. В. Фирсова*

Подписано в печать 08.06.2023 г.
Дата выхода издания в свет 13.06.2023 г.
Формат 60×84/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Гарнитура Times. Усл. печ. л. 15,1125. Заказ К-1150. Тираж 500 экз.

Издательский дом «Среда»
428005, Чебоксары, Гражданская, 75, офис 12
+7 (8352) 655-731
info@phsreda.com
<https://phsreda.com>

Отпечатано в Студии печати «Максимум»
428005, Чебоксары, Гражданская, 75
+7 (8352) 655-047
info@maksimum21.ru
www.maksimum21.ru