

СОДЕРЖАНИЕ

Том 141, номер 3, 2021

Белок ядрышка SURF6 – известные свойства и возможные функции <i>А. А. Моралева, М. А. Ползиков, М. Ю. Кордюкова, О. В. Зацепина</i>	211
Молочная кислота: динамика представлений о биологии лактата <i>С. В. Чепур, Н. Н. Плужников, О. В. Чубарь, И. В. Фатеев, Л. С. Бакулина, И. В. Литвиненко, А. И. Ширяева</i>	227
Опиоидиндуцированный апоптоз клеток иммунной системы <i>С. В. Гейн</i>	248
Противоречия клинической иммунологии. Полезные и вредные свойства иммунотерапии <i>В. М. Земсков, А. М. Земсков, В. В. Нейманн, К. Н. Пронько, В. А. Земскова, В. С. Демидова</i>	258
Протекторное влияние коротких пептидов на нервную систему насекомых <i>Н. И. Чалисова, Г. А. Рыжак, О. М. Ивко</i>	265
Адаптивные черты биологии близких видов иксодовых клещей, определяющие их распространение (на примере таежного <i>Ixodes persulcatus</i> Sch. 1930 и европейского лесного <i>Ixodes ricinus</i> L. 1758) <i>Э. И. Коренберг, М. Б. Сироткин, Ю. В. Ковалевский</i>	271
Критерии оценки эффективности искусственного воспроизводства лососевых рыб (на примере самок ладожской палии <i>Salvelinus lepechini</i> Gmelin 1788) <i>Н. И. Шиндавина, В. Я. Никандров, А. А. Лукин</i>	287
Интродукция карельской березы <i>Л. В. Ветчинникова, А. Ф. Титов</i>	296
Правила для авторов	310

Contents

Vol. 141, No. 3, 2021

Nucleolus Protein SURF6 – Known Properties and Possible Functions <i>A. A. Moraleva, M. A. Polzikov, M. Yu. Kordyukova, O. V. Zatsepina</i>	211
Lactic Acid: Dynamics of Ideas about the Lactate Biology <i>S. V. Chepur, N. N. Pluzhnikov, O. V. Chubar, I. V. Fateev, L. S. Bakulina, I. V. Litvinenko, A. I. Shirjaeva</i>	227
Opioid-Induced Apoptosis of Immune System Cells <i>S. V. Gein</i>	248
Contradictions to Clinical Immunology. Useful and Harmful Immunotherapy Properties <i>V. M. Zemskov, A. M. Zemskov, V. V. Neymann, K. N. Pron'ko, V. A. Zemskova, V. S. Demidova</i>	258
Protective Effect of Short Peptides on the Insect Nervous System <i>N. I. Chalisova, G. A. Ryzhak, O. M. Ivko</i>	265
Adaptive Features of the Biology of Similar Species of Ixodes Ticks that Determine their Distribution (on the Example of the Taiga – <i>Ixodes persulcatus</i> Sch. 1930 and European Forest – <i>Ixodes ricinus</i> L. 1758) <i>E. I. Korenberg, M. B. Sirotkin, Yu. V. Kovalevskii</i>	271
Criteria for Estimating the Artificial Reproduction Efficiency of Salmon Fish (on the Example of Females of the Lake Char <i>Salvelinus lepechini</i> Gmelin, 1778) <i>N. I. Shindavina, V. Ya. Nikandrov, A. A. Lukin</i>	287
Introduction of the Curly Birch <i>L. V. Vetchinnikova, A. F. Titov</i>	296
Rules for Authors	310

УДК 577.2

БЕЛОК ЯДРЫШКА SURF6 – ИЗВЕСТНЫЕ СВОЙСТВА И ВОЗМОЖНЫЕ ФУНКЦИИ

© 2021 г. А. А. Моралева¹, *, М. А. Ползиков¹, М. Ю. Кордюкова¹, **О. В. Зацепина¹**

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*e-mail: a_moraleva@mail.ru

Поступила в редакцию 22.12.2020 г.

После доработки 23.12.2020 г.

Принята к публикации 23.12.2020 г.

Ядрышко – основной субъядерный компартмент, где происходит биогенез рибосом. Также ядрышко является центром стрессовой реакции, вовлеченным в регуляцию множества процессов, в частности, прогрессирования клеточного цикла, старения и апоптоза. Новые данные связывают ядрышко также с контролем стабильности генома и развитием злокачественных новообразований человека. В пролиферирующих клетках млекопитающих основную массу ядрышка составляют белки, большинство из которых представлено факторами, участвующими в транскрипции рибосомных генов, в процессинге новообразованных транскриптов пре-рРНК и в сборке рибосомных частиц. Однако около трети белков, обнаруженных в составе выделенных ядрышек, изучены плохо, а их роль в клеточном метаболизме до сих пор остается невыясненной. К таким белкам относится, в частности, эволюционно консервативный белок ядрышка SURF6, описываемый в данной работе.

Ключевые слова: ядрышко, SURF6, биогенез рибосом

DOI: 10.31857/S004213242103008X

ВВЕДЕНИЕ

Ядрышко представляет собой основной домен клеточного ядра, не отделенный мембраной от нуклеоплазмы и сформированный около участков хромосом, кодирующих повторы рибосомных генов (рДНК). Канонической функцией ядрышка является биосинтез рибосом. В настоящее время к функциям ядрышка относят участие в регуляции клеточного цикла, апоптоза, в развитии вирусных инфекций и процессов клеточного старения (Núñez Villacís et al., 2018). Новые данные связывают ядрышко также с контролем стабильности генома и развитием злокачественных новообразований человека (Lindström et al., 2018). Таким образом, ядрышко – многофункциональный и значимый клеточный компартмент, неканонические функции которого в настоящее время активно изучаются. Согласно данным масс-спектрометрического анализа, в ядрышке клеток человека содержится около 6000 белков, большинство из которых представлено факторами, участвующими в транскрипции рибосомных генов, в процессинге новообразованных транскриптов пре-рРНК и в сборке рибосомных частиц. Около трети белков, выявляемых в составе ядрышек, изучены плохо, а их роль в клеточном метаболизме до сих пор остается невыясненной (Tafforeau et al., 2013). К таким белкам относится, в частности, белок ядрышка

SURF6. SURF6 впервые был описан в 1996 г. как продукт экспрессии гена *Surf-6*, являющегося одним из членов *Surfeit*-локуса в геноме мыши (Magoulas, Fried, 1996). Имеющиеся на настоящий момент данные позволяют предположить, что SURF6 участвует как в биогенезе рибосом, так и в регуляции клеточного цикла. Однако существующая на сегодня информация не позволяет сделать более определенных выводов о роли SURF6 в метаболизме клеток высших эукариот, и этот белок до сих пор относится к наименее изученным белкам ядрышка у млекопитающих.

Surfeit-ЛОКУС

Surfeit-локус – консервативный локус генов – широко распространен у позвоночных, он выявлен в геномах человека, мыши, курицы (Duhig et al., 1998), шпорцевой лягушки (Wolff et al., 2002), рыбы Фугу (Armes et al., 1997; Wolff et al., 2002) (рис. 1). Это дает основания предполагать, что организация локуса *Surfeit* играет существенную роль в генной экспрессии позвоночных. У рыбы Фугу *Fugu rubripes* гены локуса *Surfeit* расположены в трех различных участках генома, но их структура гомологична структуре генов *Surfeit*-локуса у млекопитающих (Armes et al., 1997). Беспозвоночные виды, например, фруктовая мушка *D. melanogaster* и нематода *C. elegans*, не имеют *Surfeit*-локуса, ха-

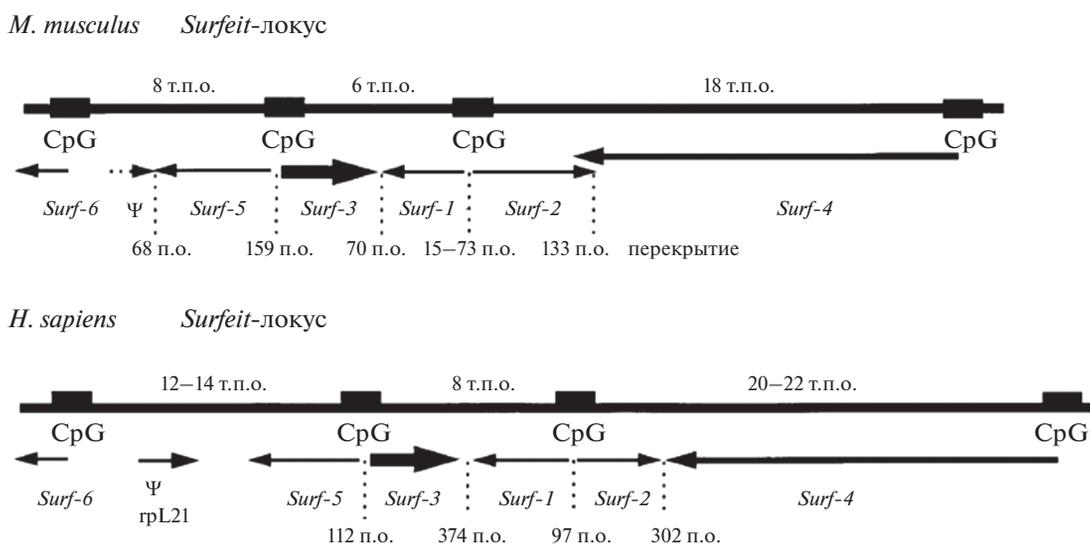


Рис. 1. Surf-локусы мыши *M. musculus* и человека *H. sapiens*. Геномная ДНК обозначена толстой линией, CpG-обогащенные участки представлены в виде черных прямоугольников. Направление транскрипции генов Surf-локуса и псевдогена Ψ указано стрелками, также указано расстояние между генами, где п.о. — пара нуклеотидных оснований, т.п.о. — тысяча пар нуклеотидных оснований (Magoulas, Fried, 2000).

рактерного для позвоночных, но обладают генами, гомологичными генам Surf-локуса, которые располагаются на разных хромосомах, а продукты экспрессии этих генов также имеют гомологов у позвоночных видов (Armes et al., 1997).

Surf-локус млекопитающих представляет собой плотный кластер шести не связанных друг с другом генов “домашнего хозяйства” (*Surf-1*, *Surf-2*, ... *Surf-6*) (Huxley, Fried, 1990). Как было показано, нуклеотидные последовательности шести генов Surf-локуса и аминокислотные последовательности продуктов их экспрессии не имеют гомологии между собой и с другими генами и белками. Surf-локус обладает уникальными свойствами: перекрывающиеся генные последовательности, двунаправленные промоторы транскрипции и очень плотное расположение генов (Armes et al., 1997).

Направление транскрипции для пяти из шести генов Surf-локуса (кроме гена *Surf-6*) противоположно направлению транскрипции соседнего гена, причем, 5'-концы каждого из шести генов ассоциированы с участками геномной ДНК, обогащенными цитозином и гуанином (CpG-обогащенные участки) и не содержат консенсусной ТАТА-последовательности (рис. 1), что характерно для генов “домашнего хозяйства” (Armes et al., 1997). В частности, метилирование таких участков приводит к подавлению активности промотора, расположенного в этой области (Antequera et al., 1989).

По сравнению с расположением других генов, гены Surf-локуса имеют достаточно малые межгенные расстояния: их разделяют не более 73 пар

оснований, тогда как большинство близкорасположенных генов млекопитающих разделяют десятки и сотни тысяч пар оснований. Необычно плотное расположение генов, характерное для генов локуса Surf, является консервативным для млекопитающих и птиц. Этот факт свидетельствует в пользу того, что подобная организация может иметь биологическое значение и играть важную функциональную или регуляторную роль. Такое плотное расположение генов в локусе может также свидетельствовать о *цис*-взаимодействии генов или взаимной регуляции экспрессии генов данного локуса у позвоночных (Armes et al., 1997).

Необходимо заметить, что промоторная область генов *Surf-1* и *Surf-2* человека содержит четыре сайта связывания транскрипционных факторов. Два из них идентифицированы и представляют собой белки Sp1 и YY1 (Cole, Gaston, 1997). Известно, что транскрипционные факторы Sp1 и YY1 взаимодействуют между собой и с транскрипционным фактором с-Мус (Seto et al., 1993). Транскрипционный фактор с-Мус — ядерный белок, регулирующий экспрессию генов, которые участвуют в процессах клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза (Marcu et al., 1992; Stine et al., 2015). Показано, что активация промотора *Surf-1* достигается путем связывания транскрипционных факторов YY1 и с-Мус в ответ на добавление ростовых факторов. Кроме того, обнаружено, что экспрессия гена *Surf-6* у *D. melanogaster* также активируется транскрипционным фактором с-Мус (Orian et al., 2003). С использованием фибробластов крысы, постоянно экспресси-

рующих с-Мус, были идентифицированы 38 генов, кодирующих белки с ядрышковой локализацией, экспрессия которых находилась в зависимости от уровня эндогенного фактора с-Мус (Schlosser et al., 2003). К числу таких генов относится ген *Surf-6* человека, а также гены других ядрышковых белков: нуклеолина, B23/нуклеофозмина, фибрилларина и Nopp140. Все эти белки играют ключевые роли в биогенезе рибосом. Можно предположить, что, несмотря на отсутствие *Surfeit*-локуса у беспозвоночных и, в частности, у *D. melanogaster*, *Surf*-гены могут обладать схожими механизмами Мус-зависимой активации.

К настоящему моменту продукты экспрессии каждого из шести *Surf*-генов идентифицированы. Белки, кодирующиеся *Surf*-генами, обладают различными функциями и имеют межвидовые гомологи, принадлежащие к SURF1, SURF2, ... SURF6 белковым семействам, представленным в базе данных белковых семейств Pfam (<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/>).

Так, белки, принадлежащие семейству SURF1, являются трансмембранными митохондриальными белками, предположительно участвующими в биогенезе цитохрома с. Белок, кодируемый *Surf-1*, — компонент промежуточного звена митохондриальной регуляции трансляции комплекса MITRAC (mitochondrial translation regulation assembly intermediate of cytochrome c oxidase), который участвует в регуляции сборки цитохром с-оксидазы. Дефекты *Surf-1* являются причиной синдрома Ли — тяжелого неврологического расстройства, которое обычно связано с системным дефицитом цитохром с-оксидазы (комплекс IV), и болезни Шарко—Мари—Тута — моторно-сенсорной полиневропатии (Smith et al., 2005).

SURF2 — консервативный белок, локализующийся в ядре и ядрышке, функция которого неизвестна.

Ген *Surf-3* кодирует рибосомный белок L7a.

Surf-4 кодирует консервативный интегральный мембранный белок, который содержит несколько предполагаемых трансмембранных областей и связан с эндоплазматическим ретикулом. Специфическая функция этого белка не определена, но его дрожжевой гомолог непосредственно необходим для упаковки гликозилированного про-альфа-фактора в везикулы COPII. Этот ген использует несколько сайтов полиаденилирования, что приводит к изменению длины транскрипта (Yin et al., 2018).

Surf-5 кодирует белковый компонент MED22 медиаторного комплекса, который функционирует в регуляции транскрипции за счет мостиковых взаимодействий между ген-специфическими регуляторными факторами, РНК-полимеразой II и общими факторами транскрипции. Наблюдались альтернативно сплайсированные варианты тран-

скриптов, кодирующие разные изоформы (Sato et al., 2003).

И, наконец, ген *Surf-6* кодирует белок SURF6, являющийся белком ядрышкового матрикса (Magoulas et al., 1998). *Surf-6* экспрессируется во всех типах тканей (Trott et al., 2001), но его функция до сих пор точно неизвестна.

Таким образом, *Surfeit*-локус уникален как по строению и взаимному расположению генов, так и по разнообразию функций белков, кодируемых *Surf*-генами.

Необходимо заметить, что в локусе *Surfeit* мыши был обнаружен псевдоген, расположенный на расстоянии в 68 п.о. от 3'-конца гена *Surf-5*. Псевдогенная последовательность также содержится в локусе человека и соответствует рибосомному белку rpL21 (Trott et al., 2001). Наличие псевдогенов, рассеянных по геному, типично для рибосомных белков, в частности rpL21 обладает 145 псевдогенами (Коваленко, Патрушев, 2018).

Также стоит отметить, что в геноме человека содержится один псевдоген *Surf-6*, выявлены 53 псевдогена для *Surf-3* (рибосомный белок L7a), псевдогенов для других членов *Surfeit*-локуса у человека не выявлено (<http://pseudofam.pseudogene.org/>).

Анализ последовательности кДНК *Surf-6* человека показал, что открытая рамка считывания начинается с первого АТГ, который окружен последовательностью, подобной последовательности, выведенной Козак, и служащей для эффективной инициации трансляции у млекопитающих. Выше сайта начала транскрипции гена *Surf-6* находится несколько сайтов связывания транскрипционных факторов, однако, как и в случае с другими генами локуса *Surfeit*, отсутствует консенсусная ТАТА-последовательность (Magoulas, Fried, 2000).

СВОЙСТВА БЕЛКА SURF6

К признакам семейства белков SURF6 относят: сравнительно небольшие размеры (у мыши и человека 355 и 361 а.о. соответственно); обогащенность остатками лизина и аргинина (28%), которые придают белкам большой положительный заряд (изоэлектрическая точка pI около 10.5); отсутствие каких-либо консенсусных функциональных последовательностей; преимущественно ядрышковая локализация. У человека экспрессия гена *Surf-6* описана в тканях всех органов, использованных для анализа: поджелудочной железе, почке, мышцах, печени, легком, плаценте, мозге и сердце (Magoulas, Fried, 2000). Было показано, что SURF6 человека содержит 10 потенциальных сайтов фосфорилирования (результаты анализа аминокислотной последовательности SURF6 с использованием базы данных Prosite (<http://prosite.expasy.org>)).

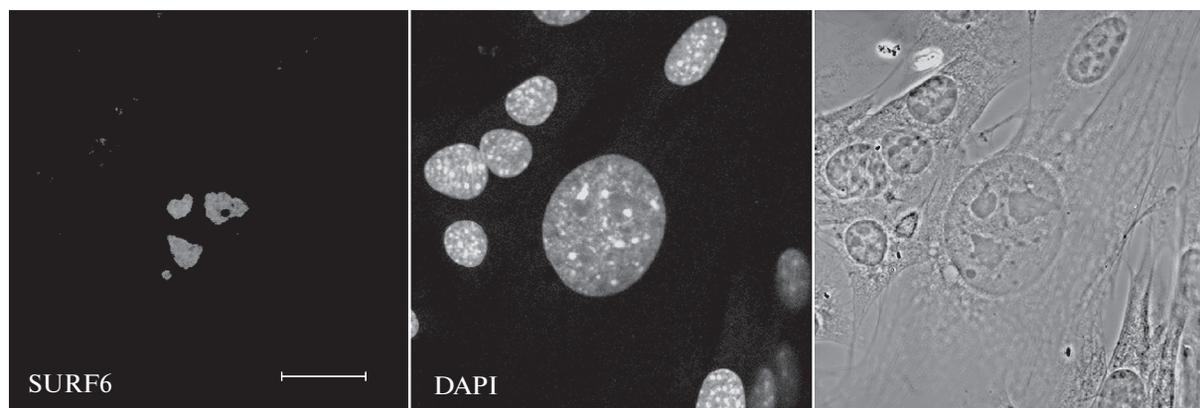


Рис. 3. Иммуноцитохимическое выявление белка SURF6 в клетках мыши линии NIH/3T3 с помощью специфических антител (Polzikov et al., 2012).

действия SURF6 с белковыми партнерами и нуклеиновыми кислотами *in vivo* (Polzikov et al., 2005).

С помощью аффинной хроматографии и нитроцеллюлозных фильтров с сорбированными на них ДНК или РНК была показана способность SURF6 мыши связываться с нуклеиновыми кислотами *in vitro*, причем связь с РНК была сильнее, чем с ДНК (Magoulas et al., 1998). Также было показано, что воздействие РНКазы А на клетки полностью препятствует иммуноцитохимическому окрашиванию ядрышек антителами к SURF6. Поскольку основным типом РНК ядрышек является рРНК на разных стадиях созревания, это наблюдение является свидетельством в пользу возможного взаимодействия SURF6 с рРНК *in situ*. При этом обработка клеток ДНКазой I не влияла на локализацию SURF6 (Гурченков и др., 2005), что может говорить об отсутствии связи SURF6 с рДНК *in situ*. Об этом также косвенно говорит поведение SURF6 в митозе: все специфические белки ядрышка, которые ассоциированы с рДНК, включая РНК-полимеразу I и ее факторы транскрипции, — белки UBF, TBP, TAF во время митоза сохраняют связь с районами ядрышковых организаторов. В отличие от этих белков, SURF6 располагался на поверхности хромосом, в цитоплазме и в составе предъядрышек, подобно белкам, участвующим в созревании рРНК, — фибрилларину и B23 (Гурченков и др., 2005).

ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ БЕЛКА SURF6

Методом иммуноцитохимической электронной микроскопии обнаружено, что в клетках мыши белок SURF6 локализуется преимущественно в гранулярном компоненте (ГК) (Magoulas et al., 1998) (рис. 3), где происходит процессинг рРНК, и входит в состав ядрышкового матрикса. SURF6 присутствует в ядрышках в течение клеточного

цикла, и его локализация остается практически одинаковой во всех фазах цикла. При этом области локализации SURF6 значительно, но не полностью перекрываются с областями локализации B23 и фибрилларина, причем степень колокализации SURF6 и B23 оказывается выше степени колокализации SURF6 и фибрилларина (Magoulas et al., 1998).

Распределение SURF6 в течение митоза подобно распределению белков, участвующих в процессинге рРНК. При вступлении клеток в митоз и начале распада ядрышка в профазе белок мигрирует из ядрышек в ядро, где располагается в межхромосомных районах. В прометафазе и метафазе SURF6 локализуется на поверхности хромосом и в цитоплазме, частично оставаясь ассоциированным с остаточными ядрышками. В анафазе SURF6 располагается в основном в цитоплазме и слабо декорирует хромосомы. В ранней телофазе белок находится на перихромосомной области хромосом. В телофазе и поздней телофазе белок отчетливо обнаруживается в предъядрышковых тельцах и практически отсутствует в цитоплазме. Было выявлено, что белок SURF6 не ассоциирован с митотическими ядрышковыми организаторами (рДНК). Также белок SURF6 был найден в составе цитоплазматических включений, в которых локализуются B23 и фибрилларин, хотя динамика его перемещений отличается от поведения этих белков. Так, при переходе в начале митоза SURF6 покидает остаточное ядрышко позже B23, но раньше фибрилларина, а в конце митоза SURF6 исчезает из цитоплазмы позже фибрилларина, но раньше B23. В целом, поведение SURF6 в митозе говорит о том, что он проявляет свойства, присущие белкам, вовлеченным в процессинг рРНК, а не транскрипцию (Гурченков и др., 2005).

Было показано, что миграция белков семейства SURF6 в ядрышки обеспечивается эволюци-

онно консервативными сигналами ядерной локализации и адресной доставки белков в ядрышко. В первичной структуре данных белков присутствуют множественные сигналы ядерной локализации – NLS (nuclear localization signal). NLS могут быть как одинарными, так и двойными. Наибольшее количество NLS содержится в консервативных SURF6-доменах белков (Polzikov et al., 2005).

Для экспериментального подтверждения присутствия NLS в последовательности SURF6 мыши была создана серия генетически конструкций, кодирующих зеленый флуоресцентный белок EGFP с различными участками последовательности белка SURF6. Локализацию химерных белков изучали в клетках мыши линии P19. При этом подавляющее большинство укороченных форм SURF6 обладали способностью мигрировать в ядра и ядрышки клеток. Однако отчетливой ядрышковой локализацией обладали только полипептиды, содержащие N-концевую часть полного размера белка SURF6.

Консервативный SURF6-домен насыщен остатками аргинина и лизина, которые также входят в состав двойных перекрывающихся NLS, составляющих от 20 до 45% последовательности SURF6-домена у разных видов. Как показано более чем для 79% проанализированных белков ядра и ядрышка с известными функциями, NLS входят в состав или непосредственно примыкают белковым доменам, отвечающим за ДНК- или РНК-связывающие свойства белковых молекул (Polzikov et al., 2005).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ SURF6 С ДРУГИМИ БЕЛКАМИ

С помощью двух альтернативных методов: иммунопреципитации с использованием специфичных антител к SURF6 и аффинной хроматографии было выявлено несколько белковых партнеров SURF6 человека в опухолевых клетках HeLa. Оба подхода показали, что SURF6 человека ассоциирован с многофункциональными белками B23/нуклеофозмином и нуклеолином, основным кофактором РНК-полимеразы I, UBF, а также с фактором процессинга рРНК – Ebp2 (Кордюкова и др., 2014а,б).

С помощью масс-спектрометрии и аффинной хроматографии было идентифицировано 14 белков, связывающихся с консервативным доменом SURF6 (Surf6_dom). Эти белки образуют разные функциональные группы. Основным местом локализации и функционирования этих белков являются цитоплазма (для рибосомных белков RPS9, RPL17, RPL26, трансляционных факторов EIF3D, eEF1γ, виментина) или ядро (для остальных белков). Пять белковых партнеров Surf6_dom участвуют в биогенезе рибосом: структурный бе-

лок малой (40S) субъединицы рибосомы RPS9; структурные белки большой (60S) субъединицы рибосомы RPL17, RPL26; белки Ku70 и Ku80, вовлеченные в транскрипцию рДНК. Surf6_dom образует также комплекс с белками, участвующими в процессинге мРНК (SF3B3, hnRNP C, hnRNP H, hnRNPU), что соответствует современным представлениям об участии ядрышек высших эукариот в созревании мРНК (Кордюкова и др., 2014а). Таким образом, SURF6 взаимодействует с факторами биогенеза рибосом, участвующими в регуляции транскрипции рДНК, процессинге рРНК и сборке рибосомных субъединиц. Также он взаимодействует с белками, принимающими участие в регуляции сплайсинга и клеточного цикла. В целом эти данные говорят в пользу многофункциональности белка SURF6.

Было предсказано (Ferrolino et al., 2018), что SURF6 человека содержит множественные богатые аргинином короткие поливалентные линейные мотивы (названные R-мотивами) в своей первичной структуре, благодаря которым SURF6 напрямую взаимодействует и совместно локализуется с NPM1. Исследования показали, что мультивалентные R-мотивы в неупорядоченном N-концевом фрагменте SURF6 (S6N; остатки 1–182) взаимодействуют с двумя кислотными участками внутри IDR-домена NPM1. При концентрации выше насыщения эти взаимодействия за счет электростатической комплиментарности мотивов вызывают гетеротипическое разделение жидкой и жидкой фаз (ЖЖРФ) (Ferrolino et al., 2018; Mitrea et al., 2018). Интересно, что в каплях, подобных жидкостям, NPM1–S6N активны два конкурирующих механизма: гетеротипный ЖЖРФ NPM1 с S6N (формирующий молекулярные сети NPM1–S6N) и гомотипный ЖЖРФ NPM1 (формирующий молекулярные сети NPM1–NPM1). Ранее предполагалось (Mitrea et al., 2018), что способность NPM1 претерпевать множественные типы ЖЖРФ с различными классами ядрышковых компонентов (например, с рРНК, с рибосомными и нерибосомными белками, содержащими R-мотив) играет роль буфера в поддержании жидкоподобного структурного каркаса ГК ядрышка. Эта буферная способность может компенсировать вариации в сети партнеров NPM1, присутствующих в ядре, поскольку прерибосомные частицы векторно собираются от фибриллярных центров в центре ядрышка к ГК на периферии. Было показано, что композиционные и физические свойства капель NPM1–S6N модулируются за счет конкуренции между гетеротипными механизмами NPM1–S6N и гомотипическими механизмами создания каркасов NPM1–NPM1, и что взаимодействие между этими механизмами обеспечивает динамическую адаптацию к изменениям концентраций партнеров SURF6 в модулировании доступной валент-

ности NPM1 и NPM1-зависимого молекулярного каркаса в жидкоподобных каплях. Таким образом, NPM1 и SURF6 совместно вносят вклад в формирование и функциональную регуляцию каркаса ГК (Ferrolino et al., 2018).

Также было высказано предположение (Ferrolino et al., 2018), что роль SURF6 в регулировании состава и биофизических свойств ядрышкового матрикса распространяется не только на ГК, но также на фибриллярные центры и плотный фибриллярный компонент. Благодаря множеству конкурентных взаимодействий с множественными ядрышковыми белками, а также ДНК и РНК, SURF6 может динамически модулировать особенности ядрышкового каркаса во время биогенеза рибосом, возможно, способствуя образованию градиента ядрышкового каркаса, который направляет путь сборки рибосомных частиц. Выяснилось, что включение SURF6 в гомотипные капли NPM1 изменяет подвижность NPM1, вязкость капли, ее состав и гидрофобность. Таким образом, нарушение непрерывности концентрации SURF6 в ядрышке и связанное с этим влияние на вязкость и гидрофобность каркаса могут вносить вклад в этот гипотетический градиент, способствующий сборке рибосом (Ferrolino et al., 2018). Интересно, что резкие различия в локальной вязкости, гидрофобности и поверхностном натяжении, как было показано, опосредуют компартиментализацию плотного фибриллярного компонента внутри ГК (Cogrell et al., 2019). Однако потребуются дальнейшие исследования, чтобы проверить гипотезы относительно того, как различные типы конкурирующих каркасов, включающие многочисленные белки и нуклеиновые кислоты, влияют на молекулярные перестройки внутри ядрышка, которые сопровождают биогенез рибосом.

ДРОЖЖЕВОЙ ГОМОЛОГ SURF6 – Rrp14

Наличие консервативного SURF6-домена позволило считать гомологом SURF6 мыши белок ядрышка Rrp14 у пекарских дрожжей *S. cerevisiae* – белок, кодируемый геном *uk1082c*. Идентичность аминокислотных остатков между консервативными доменами белков SURF6 мыши и Rrp14 составляет 23%. Подобно консервативным доменам всех белков SURF6-семейства, домен белка Rrp14 обладает высококонсервативным “ядром” из 60 а.о., девять из которых сохраняются неизменными у всех видов (Polzikov et al., 2005). Известно, что экспрессия гена *uk1082c* осуществляется специфическим дрожжевым транскрипционным фактором Rap1, вовлеченным в транскрипцию генов белков, участвующих в биогенезе рибосом (Planta, 1997).

Сборка рибосомных субъединиц у дрожжей также начинается в ядрышке, где РНК-полиме-

раза I транскрибирует предшественник 35S пре-рРНК, из которого после обработки и удаления внешних и внутренних транскрибируемых спейсеров (ETS и ITS) в ходе созревания генерируется 18S, 5.8S и 25S рРНК (рис. 4а). После эндонуклеолитического расщепления предшественника рРНК по сайту A2 у дрожжей субъединицы пре-40S и пре-60S следуют разными путями биогенеза (Klinge, Woolford, 2019). Модульная сборка частицы 90S обеспечивает основу для доменного складывания рРНК-предшественника 18S. В отличие от субъединицы 40S, архитектура субъединицы 60S с ее шестью сильно переплетенными доменами 25S рРНК является более сложной (рис. 4б) (Woolford, Baserga, 2013). В ранней пре-рРНК домен VI связывается с доменами I и II и с участком 5.8S предшественника рРНК (рис. 4в). С этого начинается формирование туннеля выхода полипептида. Его созревание прогрессирует по мере складывания доменов рРНК в следующем порядке: VI, V, III и IV. Полная сборка туннеля выхода полипептида достигается только тогда, когда домен V полностью свернут (рис. 4в). После этого требуется несколько нуклеоплазматических стадий для расщепления ITS2 прежде, чем частицы будут экспортированы в цитоплазму, где они окончательно созревают (Kater et al., 2017). Особенностью ядрышковой частицы пре-60S является ее открытая архитектура, в которой открытые для растворителя домены I, II и VI инкапсулированы рядом факторов сборки рибосом, формирующих кольцеобразную структуру на стороне, открытой для растворителя (рис. 5а). При этом различные факторы, действуя совместно, стерически предотвращают преждевременные контакты РНК–белок и РНК–РНК (Sanghai et al., 2018).

При помощи метода равновесного центрифугирования в градиенте сахарозы доказано, что белок Rrp14 является компонентом ранних 90S пре-рибосомных комплексов и связан с предшественниками 60S рибосомных частиц (Oeffinger et al., 2007а). Истощение пула Rrp14 с помощью метода генного нокаута приводит к почти полной блокаде процессинга 20S пре-рРНК, предшественника 18S рРНК, а также 27S пре-рРНК, предшественника 25S рРНК, и сопровождается гибелью клеток.

Также показано, что нокаут белка SURF6 в дрожжах приводит к накоплению aberrантных A₂–C₂ фрагментов (рис. 4а). Таким образом, Rrp14 может прямо или опосредованно препятствовать преждевременному расщеплению ITS2 по сайту C₂, с которого начинается деградация ITS2 у дрожжей, не затрагивая другие стадии созревания пре-рРНК (Oeffinger et al., 2007а).

Недавно с помощью криоэлектронной микроскопии было показано, что Rrp14 совместно с ге-

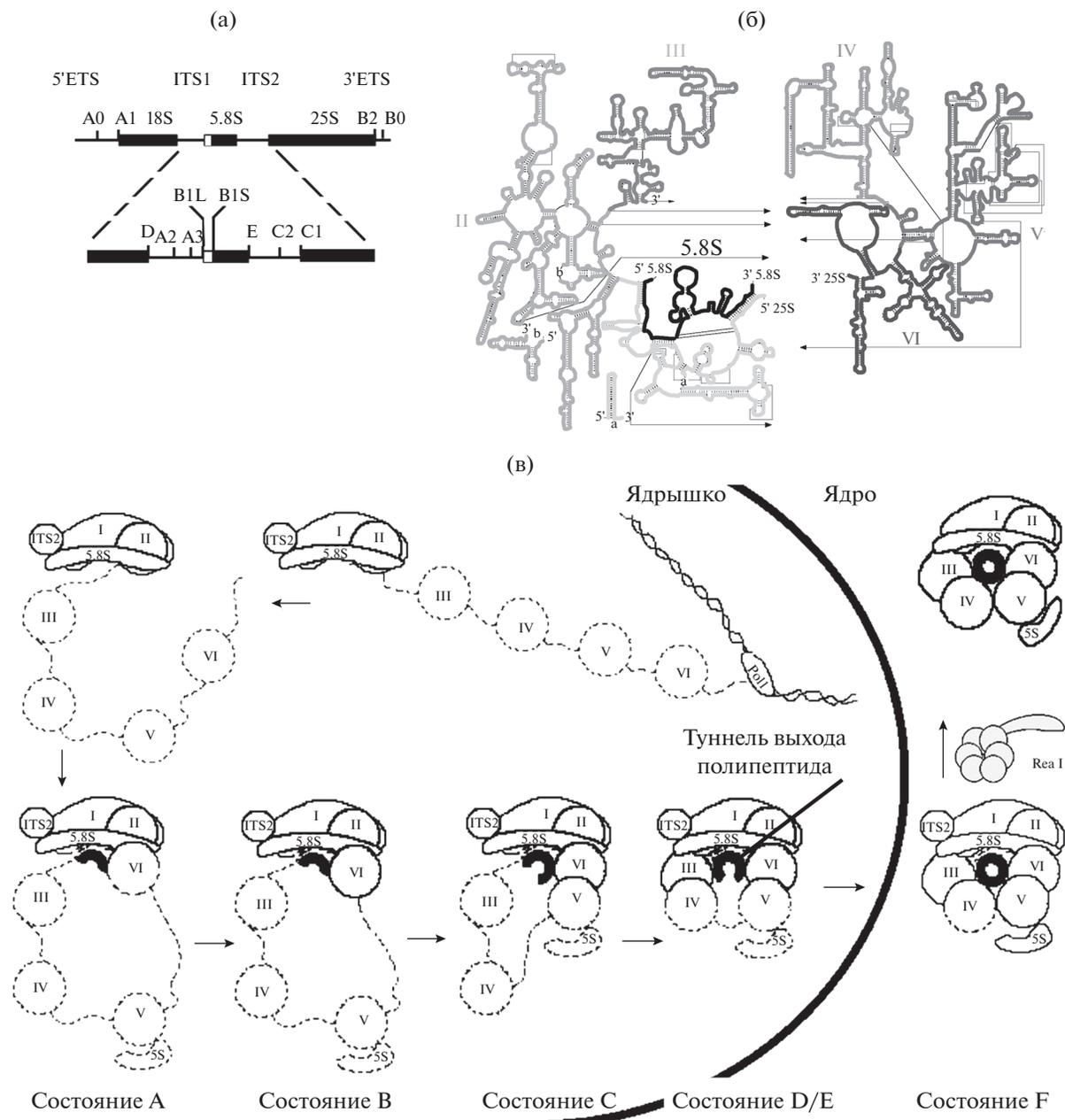


Рис. 4. Структура дрожжевой пре-рРНК (Oeffinger et al., 2007). 5'ETS и 3'ETS – внешние транскрибируемые спейсеры; ITS – внутренние транскрибируемые спейсеры рибосомного гена; 18S, 5.8S, 25S рРНК – участки, кодирующие зрелые рРНК. Участки ферментативного расщепления обозначены буквами А, В, С, D, Е (а). Вторичная структура 25S и 5.8S рРНК *S. cerevisiae* (б). Справа 25S рРНК содержит шесть доменов (I–VI) вторичной структуры. Пары оснований 5.8S рРНК (черные) с доменом I (адаптировано из <https://crw-site.chemistry.gatech.edu/>). Эти вторичные структуры филогенетически консервативны во всех царствах, хотя эукариотические рРНК содержат сегменты, не обнаруженные в прокариотических или архейных рРНК (Woolford, Baserga, 2013). Последовательность сборки доменов пре-рРНК пре-60S (в). Сборка рибосомных белков и факторов биогенеза на формирующемся предшественнике 35S рРНК начинается котранскрипционно. Формирование туннеля выхода полипептида (показано здесь как черный кружок) начинается с того, что домен VI связывается с доменами I и II с участком 5.8S предшественника рРНК. Его созревание прогрессирует по мере складывания доменов рРНК в следующем порядке: VI, V, III и IV и завершается только тогда, когда домен V полностью свернут, как это наблюдается в состоянии F (Kater et al., 2017).

теродимером Ssf1–Rrp15 образует кольцевую структуру, инкапсулирующую домены I, II и VI 25S рРНК, которые выравнивают две стороны формируемого туннеля выхода полипептида. В то

время как длинный комплекс Ssf1–Rrp15 расположен на границе раздела доменов I и VI, С-концевая консервативная спираль Rrp14 соединяет домены II и VI. При этом Ssf1 занимает ту же по-

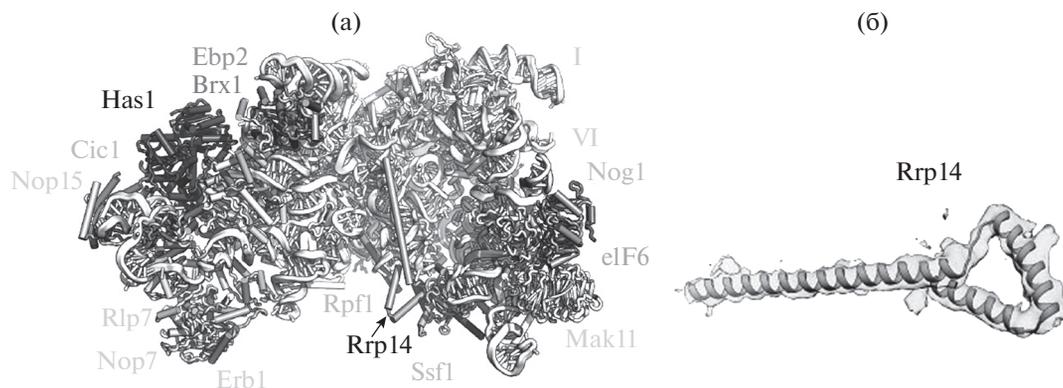


Рис. 5. Структура ранней ядрышковой частицы пре-60S *S. cerevisiae*, полученной с помощью криоэлектронной микроскопии (а). Подбор плотности крио-ЭМ белка Rrp14, входящего в состав предшественников больших субъединиц рибосом пре-60S *S. cerevisiae* (б). Изображение создано в PyMO (Sanghai et al., 2018).

зицию, что и Rpl31. Rpl31 в более поздних частицах пре-60S связывается на границе раздела доменов III и VI около туннеля выхода полипептида, который создается доменами I, III и VI на стороне, подверженной воздействию растворителя (Sanghai et al., 2018; Klinge, Woolford, 2019). На этом этапе с пре-рРНК уже связаны рибосомные белки Rpl7, Rpl13, Rpl17, Rpl24, Rpl26. Последующая стадия созревания состояний, как полагают, включает соединение доменов III и VI и образование туннеля выхода полипептида на стороне, открытой для растворителя. Это может сопровождаться вставкой N-конца белка Nog1 в формирующийся туннель и заменой Ssf1–Rrp15 на Rpl31 (Sanghai et al., 2018). С использованием техники экспрессии и очистки усеченной пре-рРНК пре-60S была определена иерархическая последовательность присоединения факторов раннего биогенеза большой субъединицы рибосом. Было показано, что Rrp14 связан с IV доменом 25S рРНК (Chaker-Margot, Klinge, 2019).

Таким образом, белок Rrp14 совместно с белками Ssf1 и Rrp15 (у человека PPAH и Rrp15 соответственно) действуют как шапероны доменов I и VI, образующих две стороны формирующегося туннеля выхода полипептида до связывания Rpl31 и удаления ITS2. Одновременно с Rrp14 с пре-рРНК связаны белки Ssf1/PPAH, Rrp15, Rrp1/Nop52, Ebp2/EBNA1BP2, Brx1/Brix1, NSA1/WDR74, YTM1/WDR12, Rpf1, Erb1/BOP1, Nop7/Pes1, Nop15/MKI67IP, Nop16, Mak16, Nog1/GTPBP4 (Sanghai et al., 2018; Klinge, Woolford, 2019).

Ранее с помощью аффинной хроматографии и дрожжевой дугибридной системы показано, что у дрожжей *S. cerevisiae* с белком Rrp14 взаимодействуют следующие белки (табл. 1). Как видно, большинство белковых партнеров Rrp14 участвуют в процессинге рибосом. И часть из них (Rrp1, Ebp2, Ssf1, NSA1, Nop15, Mak11) была идентифицирована в том же рибонуклеиновом комплексе,

что и Rrp14 (Sanghai et al., 2018). Причем белки Ssf1, LOC1, DBP9, Mak11, как и Rrp14, связаны с IV доменом пре-60S (Chaker-Margot, Klinge, 2019).

Важно отметить, что часть белковых партнеров Rrp14 участвует в установлении клеточной полярности и регуляции пролиферации. Было показано, что штаммы дрожжей, у которых было пониженное содержание Rrp14, имели дефекты в расположении и элонгации веретена деления в течение митоза, чего не наблюдалось ранее при понижении содержания других факторов биогенеза рибосом (Yamada et al., 2007). Логично предположить поэтому, что белок Rrp14 может регулировать и координировать важные биологические процессы – биогенез рибосом, клеточный цикл и клеточную полярность.

Как описано ранее, гомологи белков Rrp1, Ebp2 человека также являются белковыми партнерами SURF6 (Кордюкова и др., 2014б), что говорит в пользу участия SURF6 в биогенезе большой субъединицы рибосом у млекопитающих.

УЧАСТИЕ SURF6 В БИОГЕНЕЗЕ РИБОСОМ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В отличие от низших эукариот, биогенез рибосом млекопитающих изучен недостаточно. В основном это связано с невозможностью провести очистку пре-рибосомных комплексов (так как ядрышки не солибилизируются эффективно, без нарушений) с использованием протоколов экстракции, существующих в настоящее время (Nieto et al., 2020).

С помощью равновесного центрифугирования в градиенте сахарозы было показано, что SURF6 человека кофракционируется с предшественниками большой субъединицы (Couté et al., 2006). Тем не менее скрининг ядрышковых белков на основе РНК-интерференции с оценкой изменения количественного содержания промежуточ-

Таблица 1. Список белков пекарских дрожжей *S. cerevisiae*, взаимодействующих с белком Rrp14, членом эволюционно консервативного белкового семейства SURF6

Гомолог у дрожжей	Гомолог у человека	Функция белка у дрожжей
Ssf1	PPAN	Белок, принадлежащий VriX-семейству и являющийся компонентом 66S пре-рибосомальной частицы, необходим для созревания большой субъединицы (Fatica et al., 2002; Dez, Tollervey, 2004; Krogan et al., 2006; Klinge, Woolford, 2019)
Nop12	RBM34	Белок ядрышка, вовлеченный в процессинг пре-25S рРНК и биогенез большой 60S рибосомной субъединицы, содержит РНК-распознающий мотив (RRM) и связан с белком Ebp2 (Wu et al., 2001; Yamada et al., 2007; Klinge, Woolford, 2019)
LOC1	Нет	Ядерный белок, вовлеченный в асимметричную локализацию ASH1 мРНК, связывает двухцепочную РНК <i>in vitro</i> , является компонентом 66S пре-рибосомальной частицы (Urbinati et al., 2006; Yamada et al., 2007)
NSA1	WDR74	Компонент 66S пре-рибосомальной частицы, вовлеченный в биогенез 60S рибосомной субъединицы (Kressler et al., 2008; Klinge, Woolford, 2019)
Rrp36	Rrp36	Компонент 90S пре-рибосом вовлечен в процесс раннего расщепления 35S пре-рРНК и биогенез 40S субъединицы. Гомолог белка Rrp36 у человека участвует в расщеплении по сайту A ₀ , A ₁ (Gérus et al., 2010; Klinge, Woolford, 2019)
FAF1	Нет	Белок, необходимый для пре-рРНК процессинга и сборки 40S рибосомной субъединицы, участвует в расщеплении по A ₁ -, A ₀ -, A ₂ -сайтам (Karkusiewicz et al., 2004; Yamada et al., 2007)
Nop15	MKI67IP	Компонент 66S пре-рибосомных частиц, вовлеченный в биогенез 60S рибосомной субъединицы, локализован и в ядрышке, и в цитоплазме (Oeffinger et al., 2007b; Kressler et al., 2008; Breitzkreutz et al., 2010; Klinge, Woolford, 2019)
Ebp2	EBNA1BP2	Белок, существенно необходимый для созревания 25S рРНК и сборки 60S рибосомной частицы, участвует в процессинге 27SA ₃ в 27SB пре-рРНК (у человека 36S в 32S пре-рРНК соответственно), локализуется в ядрышке, является компонентом 66S пре-рибосомных частиц, играет ключевую роль в митотическом разделении вируса Эпштейна–Барр (Huber et al., 2000; Yamada et al., 2007; Klinge, Woolford, 2019)
Mak11	PAK1IP1	Белок, вовлеченный в ранний биогенез 60S рибосомной субъединицы (Chaker-Margot, Klinge, 2019), является существенным для клеточного роста и репликации M1 дцРНК вируса (Saveanu et al., 2007; Lebreton et al., 2008; Klinge, Woolford, 2019)
DBP9	DDX56	АТФ-зависимая РНК-хеликаза, принадлежащая к DEAD-box-семейству, вовлеченная в биогенез 60S рибосомной субъединицы (Daugeron et al., 2001; Kikuma et al., 2004; Yamada et al., 2007)
UTP11	UTP11L	Субъединица U3 комплекса SSU – процессомы, вовлеченной в биогенез 18S и сборку малой рибосомной субъединицы (Gallagher et al., 2004; Yamada et al., 2007; Turner et al., 2009)
Rrp1	Rrp1/Nop52	Эволюционно консервативный белок, необходимый для биогенеза 60S рибосомной субъединицы и процессинга пре-рРНК в рРНК, ассоциирован с несколькими различными 66S пре-рибосомными частицами (Klinge, Woolford, 2019). Гомолог у человека – Nop52, который вовлечен в биогенез 25S рРНК (Savino et al., 1999; Horsey et al., 2004; Yoshikawa et al., 2015). Интересно, что белок Rrp1 взаимодействует с белком SIC1, участвующим в регуляции перехода клеток из G1- в S-фазу клеточного цикла (Cross et al., 2007; Costanzo et al., 2010)

Таблица 1. Окончание

Гомолог у дрожжей	Гомолог у человека	Функция белка у дрожжей
GIC1 GIC2	Нет	Rho-подобные ГТФ-связывающие белки GIC1 и GIC2 – эффекторы белка CDC42 (Uetz et al., 2000; Drees et al., 2001; Höfken, Schiebel, 2004)
ZDS2	Нет	Белок, участвующий в организации теломер и клеточной пролиферации, взаимодействующий с молчащими белками теломер, вовлеченный в транскрипционный сайленсинг, участвует в регуляции вхождения клеток в митоз посредством активации CDC14p-фосфатазы в ранней анафазе. В течение интерфазы ZDS2 локализован в ядре, преимущественно в ядрышке. В течение интерфазы ZDS2 локализован в ядре, а CDC14p – преимущественно в ядрышке. Любопытно, что белок ZDS2, в свою очередь, взаимодействует с белком Sir2, принадлежащим к семейству SIR-белков, играющих активную роль в регуляции транскрипции рибосомных генов (Yakura et al., 2006). Кроме того, белки GIC1 и GIC2, а также ZDS2 взаимодействуют с фосфотазой CDC14, принимающей участие в регуляции вхождения клеток в митоз и в инициации репликации (Yakura et al., 2006; Queralt, Uhlmann, 2008)
BUD7	Нет	Белок, играющий роль в установлении клеточной полярности (Zahner et al., 1996; Drees et al., 2001)
KIN4	Нет	Серин/триониновая белковая киназа, ингибирующая митотическую входную сеть, когда веретено деления активировано (Pereira, Schiebel, 2005; Krogan et al., 2006; Breitskreutz et al., 2010)
СКА1	CSNK2A1	Альфа 1 субъединица казеин киназы II – серин/триониновая белковая киназа, играющая роль в процессах клеточного роста и пролиферации, является голоферментом и содержит СКА2, СКВ1 и СКВ2, транскрипционные факторы и РНК-полимеразы (Ho et al., 2002; Breitskreutz et al., 2010)
YPL141C	Нет	Белок, предположительно являющийся белковой киназой, имеет подобие с KIN4p (Gallagher et al., 2004; Krogan et al., 2006; Breitskreutz et al., 2010)
PRP43	DHX15	РНК-хеликаза, принадлежащая DEAH-бок-семейству, функционирует и как полимеразы I, и как полимеразы II, вовлечена в вырезание лариат-интрона из сплайсосомы (Lebaron et al., 2005)
RPS16A и RPS16B	Нет	Белки с неясной функцией (Yamada et al., 2007)

ных продуктов процессинга пре-рРНК показал, что нокдаун SURF6, как и его партнера NPM1, не приводит к существенным изменениям в биогенезе рибосом (Taffogeu et al., 2013). Что, возможно, связано с недостаточной эффективностью нокдауна.

Было показано, что в фибробластах мыши оверэкспрессия SURF6 заметно увеличивает количество всех промежуточных продуктов рРНК, за исключением 36S рРНК, являющегося самым длинным общим предшественником для 5.8S и 28S рРНК. Наиболее заметные изменения касаются накопления 45S пре-рРНК (общий предшественник для 18S, 5.8S и 28S рРНК, образованной ниже 47S пре-рРНК), 34S и 20S рРНК (предшественников 18S рРНК) и 32S рРНК (Mogaleva et al., 2017).

Также было показано, что оверэкспрессия SURF6 в клетках мыши приводит к многократно-

му (более чем в семь раз) увеличению содержания фрагментов второго внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 и почти двукратному увеличению содержания долгоживущих участков 5'-внешнего транскрибируемого спейсера 5'ETS. Содержание же фрагментов, соответствующих 18S рРНК, ITS1, 5.8S рРНК и 28S рРНК, изменяется менее заметно, по сравнению с ITS2 и 5'ETS.

Также методом FISH продемонстрировано, что SURF6 колокализуется с ITS2 и 5'ETS. Имеющиеся данные не дают сделать заключение об участии SURF6 в сайт-специфическом расщеплении ITS2, но позволяют предположить, что SURF6 мыши может принимать участие в стабилизации ITS2 и 5'ETS (Ползиков и др., 2010), что соответствует данным, полученным для дрожжевого гомолога SURF6 Rrp14. Вероятно, стабилизация ITS2 является эволюционно консерватив-

ной функцией семейства белков SURF6. Вопрос о механизмах стабилизации ITS2 с участием SURF6/Rrp14 остается открытым.

Предполагается, что SURF6 непосредственно связывается с ITS2, препятствуя его расщеплению рибонуклеазами. Однако среди белковых партнеров SURF6 на сегодня не описаны рибонуклеазы, и среди белковых партнеров Rrp14 не выявлено белков, обладающих рибонуклеазной активностью.

АКТИВНОСТЬ SURF6 ПРИ КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ И ПРОЛИФЕРАЦИИ

Экспериментальным путем доказано, что истощение пула белка Rrp14 у дрожжей (Oeffinger et al., 2007a; Yamada et al., 2007), в соматических клетках (Polzikov et al., 2007) и эмбрионах мыши (Romanova et al., 2006) приводит к гибели клеток. Эти данные позволяют рассматривать белки семейства SURF6 как эволюционно консервативные и жизненно необходимые белки “домашнего хозяйства” эукариот. Однако изучение дрожжевого SURF6 – белка Rrp14 – показало, что этот белок многофункционален и необходим не только для сборки субъединиц рибосомы и процессинга рРНК, но также для поляризации и деления клеток (Oeffinger et al., 2007a; Yamada et al., 2007).

С помощью дифференциального дисплея мРНК и нозерн-блотов было обнаружено, что экспрессия гена *Surf-6* на уровне транскриптов регулируется в процессе дифференцировки эмбриональных стволовых клеток. Было исследовано влияние на экспрессию *Surf-6* эритропоэтина – цитокина, играющего важную роль в процессе деления и дифференцировки предшественников эритроидных клеток. Добавление эритропоэтина в среду культивирования эмбриональных стволовых клеток, экспрессирующих рецептор эритропоэтина, и к гематопоэтическим стволовым клеткам-предшественникам сильно повышало уровень экспрессии гена *Surf-6* (Xia et al., 2000).

При анализе экспрессии гена *Surf-6* в процессе эмбриогенеза у шпорцевой лягушки (Wolff et al., 2002) установлено, что наибольший уровень экспрессии наблюдался на 30–38 стадиях эмбриогенеза, соответствующих латеральной фазе, а падение экспрессии – на 8–9 стадиях, соответствующих этапу бластулы, и 40–45 стадиях, соответствующих этапу начала генерации нейронов в таламусе до завершения формирования таламуса. Высокий уровень экспрессии гена *Surf-6* на большинстве стадий эмбриогенеза, а также уменьшение экспрессии на терминальных стадиях эмбриогенеза может свидетельствовать в пользу участия белка SURF6 в процессах клеточной дифференцировки у эмбрионов шпорцевой лягушки. Сходные результаты были получены при

изучении экспрессии *Surf-6* у взрослых особей *D. melanogaster* по сравнению с эмбриональной стадией и личинкой: пик экспрессии наблюдается на 0–12 стадиях эмбриона и на сроке 18–24 ч у взрослых самок, процессы клеточной дифференцировки сопровождались снижением уровня содержания SURF6 (Arbeitman et al., 2002).

Таким образом, ген *Surf-6* и его возможные гомологи – важные участники клеточного метаболизма, ассоциированные предположительно с процессами клеточной дифференцировки и пролиферации.

Обнаружено, что индукция нокдауна SURF6 в фибробластах мыши приводит к гибели клеток путем апоптоза. Также методом проточной цитофлуориметрии показано, что нокдаун увеличивает на ~8% содержание клеток в G1-периоде и снижает на ~7% долю клеток в S-периоде, по сравнению с контролем. Доля клеток, находящихся в G2-периоде клеточного цикла и митозе, в обеих популяциях клеток оставалась практически на одном уровне. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что нокдаун SURF6 препятствует переходу клеток из G1- в S-период клеточного цикла (Polzikov et al., 2007).

Как было указано ранее, гомологами белка SURF6 млекопитающих у дрожжей *S. cerevisiae* и нематоды *C. elegans* являются гены *ukl082c* и *ZK546.14*, кодирующие белки Rrp14 и CE02914 соответственно. Оказалось, что удаление с помощью гомологичной рекомбинации двух копий гена *ukl082c* приводит к летальному исходу у дрожжей (Giaever et al., 2002). Подавление экспрессии гена *ZK546.14* у нематоды сопровождается замедлением роста и аномалиями в развитии взрослых особей. Истощение белка CE02914 приводит к остановке развития зародышей на стадии личинки и их последующей гибели (Piano et al., 2002). В совокупности эти наблюдения говорят о том, что белок ядрышка SURF6 относится к жизненно необходимым белкам эукариот.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ SURF6 В ЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В отличие от соматических клеток, раннее развитие зародышей млекопитающих характеризуется периодом транскрипционного покоя и присутствием ядрышковых предшественников, которые собираются внутри ядра в зрелые ядрышки, начиная со стадии двухклеточного зародыша. В доимплантационном периоде развития зародышей мыши формирование ядрышка заканчивается не раньше стадии морулы. мРНК *Surf-6* была идентифицирована методом ПЦР на стадии одноклеточного зародыша, но ее количество значительно уменьшалось при переходе от одноклеточ-

ной стадии к двухклеточной. Кроме того, было обнаружено, что количество мРНК *Surf-6* нарастает при переходе от двухклеточной стадии к стадии морулы. Также было показано, что распределение SURF6 в зародышах мыши подобно, хотя и не идентично, распределению других белков ядрышка – B23 и фибрилларина. Истощение SURF6 методом РНК-интерференции приводит к снижению содержания 18S мРНК, к остановке развития зародышей на стадии морулы и к их последующей гибели. В совокупности эти наблюдения говорят о том, что SURF6 участвует в раннем эмбриогенезе не только плодовой мушки и нематоды, но и млекопитающих (Romanova et al., 2006).

СВЯЗЬ SURF6 С ПРОЛИФЕРАТИВНЫМ СТАТУСОМ КЛЕТОК

Было показано, что в течение клеточного цикла наибольший уровень SURF6 наблюдается в G2-фазе клеточного цикла, а уровень SURF6 в клетках, находящихся в состоянии пролиферативного покоя (G0-фазе), заметно снижен, по сравнению с асинхронной культурой (Гурченков и др., 2005). При анализе различных типов клеток особенно высокий уровень экспрессии SURF6 описан в активно пролиферирующих клетках – в эмбриональных, в предшественниках, в гемопоэтических стволовых линиях (Ringwald et al., 2012) и в некоторых опухолевых клетках (<http://www.proteinatlas.org/ENSG00000148296-SURF6/cancer>). Интересно, что SURF6 отсутствует в лимфоцитах селезенки мыши, но его содержание прогрессивно нарастает после активации к пролиферации *in vitro* с помощью митогена. При этом экспрессия SURF6 начинается раньше белков PCNA и Ki-67, которые являются основными маркерами пролиферации, используемыми в онкодиагностике (Моралева и др., 2009). Исследование содержания SURF6 на иммуноцитохимическом уровне и иммуноблотах в лимфоцитах человека: нормальных, или покоящихся; активированных к пролиферации митогеном *in vitro*; в нативных лимфоцитах, полученных от больных лимфопролиферативными заболеваниями, – показало, что при определенных условиях белок ядрышка SURF6 не выявляется в нормальных лимфоцитах, но обнаруживается в активированных лимфоцитах, а также в лимфоцитах больных, при этом наибольший уровень отмечен у больных с диагнозом лимфома мантийной зоны. Таким образом, SURF6 может служить новым активационным маркером лимфоцитов (Малышева и др., 2010а,б; Моралева и др., 2020).

Неупорядоченная первичная структура и высокий позитивный заряд молекулы SURF6 способствуют его взаимодействию с NPM1, что, по мнению некоторых авторов, является ключевым условием формирования и функционирования

ядрышка и его отдельных субдоменов (Smetana, 2002; Ferrolino et al., 2018). Это может быть причиной изменения содержания SURF6 при активации, бласттрансформации и дедифференцировке клеток.

На основании крупномасштабного скрининга образования колоний с помощью трансфекции кДНК SURF6 был идентифицирован как белок, предположительно связанный с онкогенезом в культивируемых фибробластах мыши и опухолевых клетках человека (Wan et al., 2004). Обнаружено, что оверэкспрессия SURF6 в фибробластах мыши не имеет заметной цитотоксичности, но значительно ускоряет пролиферацию за счет сокращения времени G1/S-перехода (Moraleva et al., 2017). Эти данные подтверждают ранее высказанную гипотезу о том, что SURF6 млекопитающих является предполагаемым онкобелком (Wan et al., 2004).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суммируя литературные данные, можно заключить, что белок ядрышек млекопитающих SURF6 относится к белкам, необходимым для поддержания клеток в жизнеспособном состоянии, подобно дрожжевому гомологу Rrp14, участвует в биогенезе рибосом, способствуя стабилизации внутригенного транскрибируемого спейсера ITS2 и, возможно, 5'ETS. Также анализ имеющихся литературных данных позволяет предположить участие белка ядрышка SURF6 не только в биогенезе рибосом, но и в регуляции клеточной пролиферации и дифференцировке. Однако прямые данные о функциональной значимости белка SURF6 в клетках млекопитающих до сих пор отсутствуют.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований 18-34-00767.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гурченков В.В., Ползиков М.А., Магоулас К. и др. Свойства и функции нового белка ядрышка SURF-6 в

- клетках мышцы 3T3 // Биоорг. химия. 2005. Т. 31. № 6. С. 521–528.
- Кордюкова М.Ю., Ползиков М.А., Шишова К.В., Зацепина О.В. Анализ белковых партнеров белка ядрышка человека SURF6 в клетках HeLa методом аффинной адсорбции // Биоорг. химия. 2014а. Т. 40. № 4. С. 421.
- Кордюкова М.Ю., Ползиков М.А., Шишова К.В., Зацепина О.В. Функциональное значение белка ядрышка SURF6 человека – ключевого белка одноименного семейства эукариот // Докл. РАН. 2014б. Т. 455. № 4. 471–473.
- Коваленко Т.Ф., Патрушев Л.И. Псевдогены как функционально значимые элементы генома // Биохимия. 2018. Т. 83. № 11. Р. 1643–1662.
- Малышева М.В., Булычева Т.И., Дейнеко Н.Л. и др. Содержание ключевых белков ядрышка в лимфоидных клетках здоровых лиц и больных с лимфопролиферативными заболеваниями // Клин. лаб. диагн. 2010а. Т. 12. С. 23–27.
- Малышева М.В., Моралева А.А., Дейнеко Н.Л. и др. Сравнительный анализ экспрессии ключевых белков ядрышка в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров, активированных к пролиферации *in vitro* // Иммунология. 2010б. Т. 31. № 1. С. 13–17.
- Моралева А.А., Малышева М.В., Магоулас Х. и др. Ранняя экспрессия белка ядрышка SURF-6 в лимфоцитах селезенки мыши, активированных к пролиферации *in vitro* // Бюл. exper. биол. мед. 2009. Т. 147. № 5. С. 507–511.
- Моралева А.А., Малышева М.В., Хайдуков С.В. и др. Повышенное содержание белка ядрышка SURF6 в активированных лимфоцитах доноров и в лимфоцитах больных лимфопролиферативными заболеваниями // Докл. РАН. Науки о жизни. 2020. Т. 494. № 1. С. 532–536.
- Ползиков М.А., Вейко Н.Н., Жарская О.О. и др. Сверхпродукция белка ядрышка SURF-6 в фибробластах мышцы NIH/3T3 приводит к стабилизации внутренних транскрибируемых спейсеров пр-рНК // Биоорг. хим. 2010. Т. 36. № 5. С. 661–671.
- Antequera F., Macleod D., Bird A.P. Specific protection of methylated CpGs in mammalian nuclei // Cell. 1989. V. 58. № 3. 509–517.
- Arbeitman M.N., Furlong E.E.M., Imam F. et al. Gene expression during the life cycle of *Drosophila melanogaster* // Science. 2002. V. 297. № 5590. P. 2270–2275.
- Armes N., Gilley J., Fried M. The comparative genomic structure and sequence of the *surfeit* gene homologs in the puffer fish *Fugu rubripes* and their association with CpG-rich islands // Genome Res. 1997. V. 7. № 12. P. 1138–1152.
- Breitkreutz A., Choi H., Sharom J.R. et al. A global protein kinase and phosphatase interaction network in yeast // Science. 2010. V. 328. № 5981. P. 1043–1046.
- Chaker-Margot M., Klinge S. Assembly and early maturation of large subunit precursors // RNA. 2019. V. 25. № 4. P. 465–471.
- Cole E.G., Gaston K. A functional YY1 binding site is necessary and sufficient to activate *Surf-1* promoter activity in response to serum growth factors // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25. № 18. P. 3705–3711.
- Correll C.C., Bartek J., Dunder M. The nucleolus: a multi-phase condensate balancing ribosome synthesis and translational capacity in health, aging and ribosomopathies // Cells. 2019. V. 8. № 8. P. 869.
- Costanzo M., Baryshnikova A., Bellay J. et al. The genetic landscape of a cell // Science. 2010. V. 327. № 5964. P. 425–431.
- Couté Y., Burgess J.A., Diaz J.-J. et al. Deciphering the human nucleolar proteome // Mass Spectrom. Rev. 2006. V. 25. № 2. P. 215–234.
- Cross F.R., Schroeder L., Bean J.M. Phosphorylation of the Sic1 inhibitor of B-type cyclins in *Saccharomyces cerevisiae* is not essential but contributes to cell cycle robustness // Genetics. 2007. V. 176. № 3. P. 1541–1555.
- Daugeron M.C., Kressler D., Linder P. Dbp9p, a putative ATP-dependent RNA helicase involved in 60S-ribosomal-subunit biogenesis, functionally interacts with Dbp6p // RNA. 2001. V. 7. № 9. P. 1317–1334.
- Dez C., Tollervey D. Ribosome synthesis meets the cell cycle // Curr. Opin. Microbiol. 2004. V. 7. № 6. P. 631–637.
- Drees B.L., Sundin B., Brazeau E. et al. A protein interaction map for cell polarity development // J. Cell Biol. 2001. V. 154. № 3. P. 549–571.
- Duhig T., Ruhrberg C., Mor O., Fried M. The human *Surfeit* locus // Genomics. 1998. V. 52. № 1. P. 72–78.
- Fatica A., Cronshaw A.D., Dlakić M., Tollervey D. Ssf1p prevents premature processing of an early pre-60S ribosomal particle // Mol. Cell. 2002. V. 9. № 2. P. 341–351.
- Ferrolino M.C., Mitrea D.M., Michael J.R., Kriwacki R.W. Compositional adaptability in NPM1–SURF6 scaffolding networks enabled by dynamic switching of phase separation mechanisms // Nat. Commun. 2018. V. 9. № 1. P. 5064.
- Gallagher J.E.G., Dunbar D.A., Granneman S. et al. RNA polymerase I transcription and pre-rRNA processing are linked by specific SSU processome components // Genes Dev. 2004. V. 18. № 20. P. 2506–2517.
- Gérus M., Bonnart C., Caizergues-Ferrer M. et al. Evolutionarily conserved function of RRP36 in early cleavages of the pre-rRNA and production of the 40S ribosomal subunit // Mol. Cell. Biol. 2010. V. 30. № 5. P. 1130–1144.
- Giaever G., Chu A.M., Ni L. et al. Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome // Nature. 2002. V. 418. № 6896. P. 387–391.
- Ho Y., Gruhler A., Heilbut A. et al. Systematic identification of protein complexes in *Saccharomyces cerevisiae* by mass spectrometry // Nature. 2002. V. 415. № 6868. P. 180–183.
- Höfken T., Schiebel E. Novel regulation of mitotic exit by the Cdc42 effectors Gic1 and Gic2 // J. Cell Biol. 2004. V. 164. № 2. P. 219–231.
- Horseley E.W., Jakovljevic J., Miles T.D. et al. Role of the yeast Rrp1 protein in the dynamics of pre-ribosome maturation // RNA. 2004. V. 10. № 5. P. 813–827.
- Huber M.D., Dworet J.H., Shire K. et al. The budding yeast homolog of the human EBNA1-binding protein 2 (Ebp2p) is an essential nucleolar protein required for pre-rRNA processing // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. № 37. P. 28764–28773.
- Huxley C., Fried M. The mouse *surfeit* locus contains a cluster of six genes associated with four CpG-rich islands in

- 32 kilobases of genomic DNA // *Mol. Cell. Biol.* 1990. V. 10. № 2. P. 605–614.
- Karkusiewicz I., Rempola B., Gromadka R. et al. Functional and physical interactions of Faf1p, a *Saccharomyces cerevisiae* nucleolar protein // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. V. 319. № 2. P. 349–357.
- Kater L., Thoms M., Barrio-Garcia C. et al. Visualizing the assembly pathway of nucleolar pre-60S ribosomes // *Cell.* 2017. V. 171. № 7. P. 1599–1610.
- Kikuma T., Ohtsu M., Utsugi T. et al. Dbp9p, a member of the DEAD box protein family, exhibits DNA helicase activity // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 20. P. 20692–20698.
- Klinge S., Woolford J.L. Ribosome assembly coming into focus // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2019. V. 20. № 2. P. 116–131.
- Kressler D., Roser D., Pertschy B., Hurt E. The AAA ATPase Rix7 powers progression of ribosome biogenesis by stripping Nsa1 from pre-60S particles // *J. Cell Biol.* 2008. V. 181. № 6. P. 935–944.
- Krogan N.J., Cagney G., Yu H. et al. Global landscape of protein complexes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Nature.* 2006. V. 440. № 7084. P. 637–643.
- Lebaron S., Froment C., Fromont-Racine M. et al. The splicing ATPase prp43p is a component of multiple preribosomal particles // *Mol. Cell. Biol.* 2005. V. 25. № 21. P. 9269–9282.
- Lebreton A., Rousselle J. C., Lenormand P. et al. 60S ribosomal subunit assembly dynamics defined by semi-quantitative mass spectrometry of purified complexes // *Nucl. Acids Res.* 2008. V. 36. № 15. P. 4988–4999.
- Lindström M.S., Jurada D., Bursac S. et al. Nucleolus as an emerging hub in maintenance of genome stability and cancer pathogenesis // *Oncogene.* 2018. V. 37. № 18. P. 2351–2366.
- Magoulas C., Fried M. The *Surf-6* gene of the mouse *surfeit* locus encodes a novel nucleolar protein // *DNA Cell Biol.* 1996. V. 15. № 4. P. 305–316.
- Magoulas C., Fried M. Isolation and genomic analysis of the human *surf-6* gene: a member of the *Surfeit* locus // *Gene.* 2000. V. 243. № 1–2. P. 115–123.
- Magoulas C., Zatssepina O.V., Jordan P.W. et al. The SURF-6 protein is a component of the nucleolar matrix and has a high binding capacity for nucleic acids *in vitro* // *Eur. J. Cell Biol.* 1998. V. 75. № 2. P. 174–183.
- Marcu K.B., Bossone S.A., Patel A.J. Myc function and regulation // *Ann. Rev. Biochem.* 1992. V. 61. P. 809–860.
- Mitreá D.M., Cika J.A., Stanley C.B. et al. Self-interaction of NPM1 modulates multiple mechanisms of liquid–liquid phase separation // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. № 1. P. 842.
- Moraleva A., Magoulas C., Polzikov M. et al. Involvement of the specific nucleolar protein SURF6 in regulation of proliferation and ribosome biogenesis in mouse NIH/3T3 fibroblasts // *Cell Cycle.* 2017. V. 16. № 20. P. 1979–1991.
- Nieto B., Gaspar S.G., Moriggi G. et al. Identification of distinct maturation steps involved in human 40S ribosomal subunit biosynthesis // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 156.
- Núñez Villacís L., Wong M.S., Ferguson L.L. et al. New roles for the nucleolus in health and disease // *BioEssays.* 2018. V. 40. № 5. P. 8–10.
- Oeffinger M., Fatica A., Rout M.P., Tollervey D. Yeast Rrp14p is required for ribosomal subunit synthesis and for correct positioning of the mitotic spindle during mitosis // *Nucl. Acids Res.* 2007a. V. 35. № 4. P. 1354–1366.
- Oeffinger M., Wei K.E., Rogers R. et al. Comprehensive analysis of diverse ribonucleoprotein complexes // *Nat. Meth.* 2007b. V. 4. № 11. P. 951–956.
- Orian A., van Steensel B., Delrow J. et al. Genomic binding by the drosophila Myc, Max, Mad/Mnt transcription factor network // *Genes Dev.* 2003. V. 17. № 9. P. 1101–1114.
- Pereira G., Schiebel E. Kin4 kinase delays mitotic exit in response to spindle alignment defects // *Mol. Cell.* 2005. V. 19. № 2. P. 209–221.
- Piano F., Schetter A.J., Morton D.G. et al. Gene clustering based on RNAi phenotypes of ovary-enriched genes in *C. elegans* // *Curr. Biol.* 2002. V. 12. № 22. P. 1959–1964.
- Planta R.J. Regulation of ribosome synthesis in yeast // *Yeast.* 1997. V. 13. № 16. P. 1505–1518.
- Polzikov M., Zatssepina O., Magoulas C. Identification of an evolutionary conserved SURF-6 domain in a family of nucleolar proteins extending from human to yeast // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 327. № 1. P. 143–149.
- Polzikov M., Magoulas C., Zatssepina O. The nucleolar protein SURF-6 is essential for viability in mouse NIH/3T3 cells // *Mol. Biol. Rep.* 2007. V. 34. № 3. P. 155–160.
- Polzikov M.A., Kordyukova M.Y., Zavalishina L.E. et al. Development of novel mouse hybridomas producing monoclonal antibodies specific to human and mouse nucleolar protein SURF-6 // *Hybridoma.* 2012. V. 31. № 1. P. 48–53.
- Queralt E., Uhlmann F. Separase cooperates with Zds1 and Zds2 to activate Cdc14 phosphatase in early anaphase // *J. Cell Biol.* 2008. V. 182. № 5. P. 873–883.
- Ringwald M., Wu C., Su A.I. BioGPS and GXD: mouse gene expression data – the benefits and challenges of data integration // *Mamm. Genome.* 2012. V. 23. № 9–10. P. 550–558.
- Romanova L.G., Anger M., Zatssepina O.V., Schultz R.M. Implication of nucleolar protein SURF6 in ribosome biogenesis and preimplantation mouse development // *Biol. Reprod.* 2006. V. 75. № 5. P. 690–696.
- Sanghai Z.A., Miller L., Molloy K.R. et al. Modular assembly of the nucleolar pre-60S ribosomal subunit // *Nature.* 2018. V. 556. № 7699. P. 126–129.
- Sato S., Tomomori-Sato C., Banks C.A.S. et al. Identification of mammalian mediator subunits with similarities to yeast mediator subunits Srb5, Srb6, Med11, and Rox3 // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 17. P. 15123–15127.
- Saveanu C., Rousselle J.-C., Lenormand P. et al. The p21-activated protein kinase inhibitor Skb15 and its budding yeast homologue are 60S ribosome assembly factors // *Mol. Cell. Biol.* 2007. V. 27. № 8. P. 2897–2909.
- Savino T.M., Bastos R., Jansen E., Hernandez-Verdun D. The nucleolar antigen Nop52, the human homologue of the yeast ribosomal RNA processing RRP1, is recruited at late stages of nucleologenesis // *J. Cell Sci.* 1999. V. 112. Pt. 12. P. 1889–1900.

- Schlosser I., Hölzel M., Mürnseer M. et al. A role for c-Myc in the regulation of ribosomal RNA processing // Nucl. Acids Res. 2003. V. 31. № 21. P. 6148–6156.
- Seto E., Lewis B., Shenk T. Interaction between transcription factors Sp1 and YY1 // Nature. 1993. V. 365. № 6445. P. 462–464.
- Smetana K. Structural features of nucleoli in blood, leukemic, lymphoma and myeloma cells // Eur. J. Histochem. 2002. V. 46. № 2. P. 125–132.
- Smith D., Gray J., Mitchell L. et al. Assembly of cytochrome-c oxidase in the absence of assembly protein Surf1p leads to loss of the active site heme // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. № 18. P. 17652–17656.
- Stine Z.E., Walton Z.E., Altman B.J. et al. MYC, metabolism, and cancer // Canc. Discov. 2015. V. 5. № 10. P. 1024–1039.
- Tafforeau L., Zorbas C., Langhendries J.-L. et al. The complexity of human ribosome biogenesis revealed by systematic nucleolar screening of pre-rRNA processing factors // Mol. Cell. 2013. V. 51. № 4. P. 539–551.
- Trott R.L., Kalive M., Karandikar U. et al. Identification and characterization of proteins that interact with *Drosophila melanogaster* protein kinase CK2 // Mol. Cell. Biochem. 2001. V. 227. № 1–2. P. 91–98.
- Turner A.J., Knox A.A., Prieto J.-L. et al. A novel small-subunit processome assembly intermediate that contains the U3 snoRNP, nucleolin, RRP5, and DBP4 // Mol. Cell. Biol. 2009. V. 29. № 11. P. 3007–3017.
- Uetz P., Giot L., Cagney G. et al. A comprehensive analysis of protein–protein interactions in *Saccharomyces cerevisiae* // Nature. 2000. V. 403. № 6770. P. 623–627.
- Urbinati C.R., Gonsalvez G.B., Aris J.P., Long R.M. Loc1p is required for efficient assembly and nuclear export of the 60S ribosomal subunit // Mol. Genet. Genom. 2006. V. 276. № 4. P. 369–377.
- Wan D., Gong Y., Qin W. et al. Large-scale cDNA transfection screening for genes related to cancer development and progression // PNAS USA. 2004. V. 101. № 44. P. 15724–15729.
- Wolff C.-M., Nguyen V.K., Remy P. Cloning and expression of the surfait locus member *Surf-6* during embryogenesis in *Xenopus laevis* // DNA Seq. 2002. V. 13. № 3. P. 149–152.
- Woolford J.L., Baserga S.J. Ribosome biogenesis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Genetics. 2013. V. 195. № 3. P. 643–681.
- Wu K., Wu P., Aris J.P. Nucleolar protein Nop12p participates in synthesis of 25S rRNA in *Saccharomyces cerevisiae* // Nucl. Acids Res. 2001. V. 29. № 14. P. 2938–2949.
- Xia Z.B., Dai M.S., Magoulas C. et al. Differentially expressed genes during *in vitro* differentiation of murine embryonic stem cells transduced with a human erythropoietin receptor cDNA // J. Hematother. Stem Cell Res. 2000. V. 9. № 5. P. 651–658.
- Yakura M., Ozoe F., Ishida H. et al. Zds1, a novel gene encoding an ortholog of Zds1 and Zds2, controls sexual differentiation, cell wall integrity and cell morphology in fission yeast // Genetics. 2006. V. 172. № 2. P. 811–825.
- Yamada H., Horigome C., Okada T. et al. Yeast Rrp14p is a nucleolar protein involved in both ribosome biogenesis and cell polarity // RNA. 2007. V. 13. № 11. P. 1977–1987.
- Yin Y., Garcia M.R., Novak A.J. et al. Surf4 (Erv29p) binds amino-terminal tripeptide motifs of soluble cargo proteins with different affinities, enabling prioritization of their exit from the endoplasmic reticulum // PLoS Biol. 2018. V. 16. № 8. P. e2005140.
- Yoshikawa H., Ishikawa H., Izumikawa K. et al. Human nucleolar protein Nop52 (RRP1/NNP-1) is involved in site 2 cleavage in internal transcribed spacer 1 of pre-rRNAs at early stages of ribosome biogenesis // Nucl. Acids Res. 2015. V. 43. № 11. P. 5524–5536.
- Zahner J.E., Harkins H.A., Pringle J.R. Genetic analysis of the bipolar pattern of bud site selection in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Mol. Cell. Biol. 1996. V. 16. № 4. P. 1857–1870.

Nucleolus Protein SURF6 – Known Properties and Possible Functions

A. A. Moraleva^{a,*}, M. A. Polzikov^a, M. Yu. Kordyukova^a, and O. V. Zatsepina^a

^a*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Science, Moscow, Russia*

*e-mail: a_moraleva@mail.ru

The nucleolus is the main subnuclear compartment where ribosome biogenesis occurs. The nucleolus is also the center of the stress response involved in the regulation of many processes, such as cell cycle progression, aging, and apoptosis. New data also link the nucleolus with the control of genome stability and the development of human malignant neoplasms. In proliferating mammalian cells, the bulk of the nucleolus is made up of proteins, most of which are represented by factors involved in the transcription of ribosomal genes, the processing of newly formed pre-rRNA transcripts, and the assembly of ribosomal particles. However, about a third of the proteins found in the isolated nucleoli are poorly understood, and their role in cellular metabolism is still not clear. These proteins include, in particular, the evolutionarily conserved nucleolar protein SURF-6, which is described in this work.

Keywords: nucleolus, SURF6, ribosome biogenesis

УДК 547.472.3:612.015.3

МОЛОЧНАЯ КИСЛОТА: ДИНАМИКА ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О БИОЛОГИИ ЛАКТАТА

© 2021 г. С. В. Чепур¹, *, Н. Н. Плужников¹, О. В. Чубарь¹, И. В. Фатеев¹,
Л. С. Бакулина², И. В. Литвиненко³, А. И. Ширяева¹

¹Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

²Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

³Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: gniiivm_2@mil.ru

Поступила в редакцию 25.11.2020 г.

После доработки 07.12.2020 г.

Принята к публикации 07.12.2020 г.

Повышение уровня лактата в биосредах организма часто интерпретируют как неблагоприятный метаболический фактор, свидетельствующий о гипоксии тканей, нарушении их перфузии. Вместе с тем, увеличение продукции лактата прослежено и в нормоксических условиях, что дало основание к переоценке его роли как ключевого фактора метаболического перепрограммирования организма в условиях стресса/интенсивной физической нагрузки. Молочная кислота вырабатывается в организме как в анаэробных, так и в аэробных условиях и не может рассматриваться как однозначный маркер гипоксии. Лактат рассматривают как важный энергетический метаболит и интермедиат обмена углеводов, а также как сигнальную субстанцию, регулируемую липолиз и β -окисление жирных кислот, обеспечивающую увеличение устойчивости к стресс-индуцирующим воздействиям и ускорение репарации повреждений. β 2-адреномиметики, амфетамины и кофакторы пируватдегидрогеназного комплекса оптимизируют энергопродукцию, влияя на метаболизм лактата при стрессовых физических нагрузках, и повышают устойчивость к ним.

Ключевые слова: лактат, физическая выносливость, регуляция энергетического метаболизма

DOI: 10.31857/S0042132421030042

ВВЕДЕНИЕ

В urgentных случаях уровень и динамику уровня лактата в крови часто используют как высокозначимый диагностический критерий при оценке тяжести травмы (Cerović et al., 2003; Parsikia et al., 2014; Fukuma et al., 2019) и независимый предиктор неблагоприятного исхода при угрожающих жизни состояниях (Nichol et al., 2010; Vou Chebl et al., 2017). Исходный посыл такого подхода: низкий уровень pO_2 в тканях (гипоксия тканей) – причина высокой концентрации лактата в крови – сформирован в сознании специалистов клинического профиля в течение столетия под влиянием множества научных публикаций. Эти экспериментально обоснованные представления, озаренные отблеском авторитета лауреатов Нобелевской премии (A.V. Hill, O.F. Meyerhof – 1922, C. Eijkman, F.G. Hopkins – 1929) (Fletcher, 1907; Hill et al., 1924a,b,c; Meyerhof, 1930, 1942), были незаметно трансформированы в лактат-кислородную догму: высокий уровень лактата в крови – следствие гипоксии тканей

(низкого уровня pO_2 в тканях). Данный тезис был усилен концепцией анаэробного порога (Wasserman, McIlroy, 1964). Такой сознательный либо подсознательный перенос эмпирического принципа релятивистской симметрии в область биологии в данном случае оказался неправомерным.

И сегодня, несмотря на то, что множеством экспериментальных работ конкретизирована роль лактата в качестве субстрата окисления и регуляторной субстанции, когда доказано существование факторов и механизмов, обеспечивающих продукцию/накопление лактата и в условиях оптимальной оксигенации тканей, лактат-кислородная догма продолжает успешно доминировать в сознании специалистов (Ferguson, 2018). В силу этого цель данной работы – систематизированное изложение современных представлений о физиологической роли лактата при дисгомеостатирующих воздействиях/высокоинтенсивных физических нагрузках в свете последних достижений биологических наук.

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ И ИЗУЧЕНИЯ ЕЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ

Молочная кислота (α -оксипропионовая кислота) впервые выделена из кислого молока шведским химиком К. Шееле в 1780 г. (Benninga, 1990). И вот уже почти четверть тысячелетия, пребывая если не в фокусе внимания, то в поле зрения исследователей, это химическое соединение продолжает оставаться загадочным интермедиатом, биологическая роль которого все еще в значительной степени непонятна.

В течение периода начального накопления экспериментальных фактов (1780–1907 гг.) о роли молочной кислоты в организме животных и человека был сформирован научно-методический базис будущих исследований в данной области. Однако даже контуры проблемы биологии лактата были не обрисованы. В этот период установлена химическая структура молочной кислоты; определена ее продукция в организме животных и в микроорганизмах; выявлено, что образование кислоты возрастает в условиях гипоксии за счет распада гликогена; доказано, что молочная кислота всегда присутствует в тканях умерших пациентов (von Liebig, 1847; Du Bois-Reymond, 1859; Wislicenus, 1873a,b; Araki, 1891a,b, 1892; von Murralt, 1950; Kompanje et al., 2007; Ghaffar et al., 2014; Ferguson, 2018; Brooks, 2018).

Второй, относительно короткий, период (1907–1926 гг.) дальнейшего становления представлений о биологической роли молочной кислоты – этап, который ассоциирован с вопросами биохимии мышечного сокращения. Ключевыми событиями на данном отрезке можно считать:

- обнаружение феномена продукции молочной кислоты в сокращающейся мышце (Fletcher, 1907);

- выявление анаэробного превращения гликогена (глюкозы) в процессе мышечного сокращения в молочную кислоту с последующим ее окислением до CO_2 и H_2O или восстановлением до глюкозы, формулирование “модели кислородного долга” (Hill, 1924a,b,c);

- открытие тесной взаимосвязи между поглощением кислорода и метаболизмом молочной кислоты в мышце (Meyerhof, 1920a,b,c, 1921; Hill, Meyerhof, 1923);

- установление факта, что молочная кислота – причина метаболического ацидоза (Barr et al., 1923; Barr, Himwich, 1923a,b; Clausen, 1925).

Следующие шестьдесят лет (1925–1985 гг.) – период господства представлений о том, что молочная кислота – тупиковый, даже токсичный продукт анаэробного метаболизма глюкозы. Важнейшие достижения данного этапа изучения обмена углеводов, биологии молочной кислоты:

- открытие цикла молочной кислоты – цикла Кори (G.T. Cori, C.F. Cori – лауреаты Нобелевской премии 1947 г.) – метаболического пути, по которому лактат, вырабатываемый при анаэробном гликолизе в мышцах, транспортируется в печень, где превращается в глюкозу, которая затем возвращается в мышцы и циклически метаболизируется обратно в лактат (Cori C.F., Cori G.T., 1929; Cori G.T., Cori C.F., 1933; Houssay, 1956; Simoni et al., 2002);

- дальнейшее подтверждение концепции кислородного долга (Hill, 1932), которая стала общепринятой теорией, призванной объяснить такие феномены физиологии мышечных сокращений как лактатемия при длительных интенсивных мышечных нагрузках и утомление мышц (Margaria, 1933);

- получение экспериментальных доказательств того, что АТФ – источник энергии для мышечных сокращений, что мышечные сокращения связаны с гидролизом АТФ под влиянием миозина (Engelhardt, Ljubimova, 1939; Szent-Györgyi, 1949, 1963; Huxley, 1957, 1969; Huxley, Simmons, 1971);

- выявление тесной корреляционной связи между содержанием гликогена в мышцах и выносливостью при физической нагрузке (Bergström et al., 1967; Hermansen et al., 1967);

- обоснование (Wasserman, McIlroy, 1964) концепции анаэробного порога, под которым предложено понимать уровень потребления кислорода, выше которого аэробный синтез АТФ дополняется анаэробной продукцией макроэргов. Согласно предложенной концепции, повышение уровня молочной кислоты, снижение физической выносливости при интенсивной мышечной нагрузке – следствие кислород-зависимого ограничения окислительного фосфорилирования в митохондриях (Wasserman et al., 1973; Wasserman, 1984).

Последние тридцать пять лет – период формирования представлений о роли лактата в реализации стресс-реакции. В течение нескольких десятилетий после опубликования работ супругов Кори усилия исследователей были направлены на поиск доказательств того, что лактат представляет собой причину мышечной усталости (Philp et al., 2005). И только в 1980-е гг. стали появляться сомнения относительно того, что лактат – это конечный продукт метаболизма, то есть метаболический отход (Brooks, 1985; Connett et al., 1986). Выяснилось, что стимулирование процесса гликолиза может происходить совершенно независимо от значений pO_2 в клетках (Kemper et al., 2001). Стало очевидным, что лактат – неотъемлемая часть энергопродукции, а не тупиковый метаболический продукт.

Важным событием в изучении биологии молочной кислоты было установление того факта,

что клиренс лактата во время и после субмаксимальной мышечной нагрузки зависит, главным образом, от окисления (метаболический клиренс) и его переноса из мышечной ткани в кровь (Donovan, Brooks, 1983; Mazzeo et al., 1986; MacRae et al., 1992). До относительно недавнего времени считали, что лактат выходит из клеток посредством простой диффузии. Вместе с тем, высказано предположение и о существовании лактатного челнока (Brooks, 1986a). Было установлено, что перенос лактата из клеток и в клетки сопряжен с белками монокарбоксилатного транспорта – МСТs-переносчиками (monocarboxylate transporters) лактата, пирувата, кетоновых тел (McCullagh et al., 1996; Wilson et al., 1998; Halestrap, Price, 1999; Halestrap, Meredith, 2004).

Лактатные челноки обеспечивают транспорт монокарбоксилатов не только через плазматическую мембрану клеток, но и через мембраны внутриклеточных органелл:

- пируват активно проникает в пероксисомы, где под влиянием пероксисомальной лактатдегидрогеназы трансформируется в лактат, что сопровождается окислением NADH до NAD⁺, необходимого для пероксисомального β-окисления длинноцепочечных жирных кислот (Baumgart et al., 1996; McClelland et al., 2003);

- митохондриальный переносчик лактата (Hashimoto, Brooks, 2008) и митохондриальная лактатдегидрогеназа обеспечивают рН- и редокс-гомеостатирование внутриклеточной среды и перенос восстановительных эквивалентов в виде NADH из цитозоля на комплекс I дыхательной цепи митохондрий (рис. 1) (Valenti et al., 2002; Hashimoto et al., 2006; Lemire et al., 2008; Young et al., 2020).

Систематизация существующих к середине 1980-х гг. знаний о быстром накоплении молочной кислоты в клетках и быстром транспорте лактата через плазматическую мембрану во внеклеточное пространство и далее через сосудистую сеть из области с высокой гликолитической активностью в области с высоким уровнем энергопотребления (миокард, ткань ЦНС, скелетная мускулатура) позволила сформировать концепцию лактатного челнока (Brooks, 1985, 1986a,b). Эта цепь обменных процессов, по-видимому, представляет собой важную адаптивную реакцию при стресс-индуцирующих воздействиях. Положения концепции лактатного челнока привлекли внимание специалистов к системным эффектам лактата. Постулировано (Brooks, 2002) представление о роли лактата в качестве метаболического сигнала на уровне всего организма. Предположительно, лактат может действовать как псевдогормон (лактормон) (Brooks, 2002, 2009).

Многие клетки млекопитающих экспрессируют G-белок-сопряженный рецептор GPR81 (G pro-

tein-coupled receptor 81 = HCA₁ – hydroxycarboxylic acid receptor 1) (Liu et al., 2009; Rooney, Trayhurn, 2011; Lauritzen et al., 2014). Лиганд рецептора GPR81 был неизвестен до 2008 г., когда выяснили, что в качестве высокоспецифичного агониста данного сенсора в диапазоне концентраций 1–20 мМ выступает L-лактат (Cai et al., 2008; Ahmed, 2011; Davenport et al., 2013). Кроме того, лактат проявил свойства положительного модулятора функционального состояния NMDA-рецепторов клеток ЦНС, обеспечивая нейропротекцию и консолидацию памяти (Jourdain et al., 2018).

Лактат как метаболит, участвующий в реализации стресс-реакции, рецептор-опосредованными и рецептор-независимыми путями синхронизирует функционально-метаболический статус клеток с транскрипцией генов:

- ингибируя активность гистондеацетилазы (Latham et al., 2012), лактилируя гистоны (Zhang et al., 2019; Liberti, Locasale, 2020), стимулируя активность некоторых факторов транскрипции (HIF1α, E2F1, Nrf2, TGF-β2) (Takahashi et al., 2019; Tauffenberger et al., 2019; San-Millán et al., 2020), лактат только в ЦНС влияет на экспрессию около 400 генов, обеспечивая синаптическую пластичность и нейропротекцию (Morland et al., 2015; Margineanu et al., 2018; De Castro Abrantes et al., 2019);

- стимулируя эпителиально-мезенхимальную трансдифференциацию (Liu et al., 2016; Miranda-Gonçalves et al., 2020), митохондриальный биогенез, ангиогенез и синтез коллагена, лактат обеспечивает эффективное заживление раневых повреждений (Ghani et al., 2004; Hashimoto et al., 2007; Hunt et al., 2007; Porporato et al., 2012; Tsukamoto et al., 2018; Ohno et al., 2019);

- стимулирует репарацию ДНК (Wagner et al., 2015, 2017) и, по-видимому, защищает ее от повреждений (De Carvalho Cunha et al., 2018);

- модулирует иммунный статус организма (Jiang, 2017; Wong et al., 2019), проявляет противовоспалительные эффекты (Hoque et al., 2014; Ratter et al., 2018; Santos et al., 2019), эффективно нейтрализует супероксидные и гидроксильные радикалы (Groussard et al., 2000), способствует купированию стресса эндоплазматического ретикулума (Tauffenberger et al., 2019), подавляет процесс аутофагии (Matsuo et al., 2019), что обеспечивает цитопротективный эффект.

АЭРОБНЫЙ ГЛИКОЛИЗ

На протяжении многих лет в качестве лидирующего патогенетического механизма формирования лактат-ацидоза рассматривали именно гипоксию, что нашло отражение во множестве публикаций (Cohen, Woods, 1976; Cahill, 1977). Но общепринятая концепция патогенеза гиперлак-

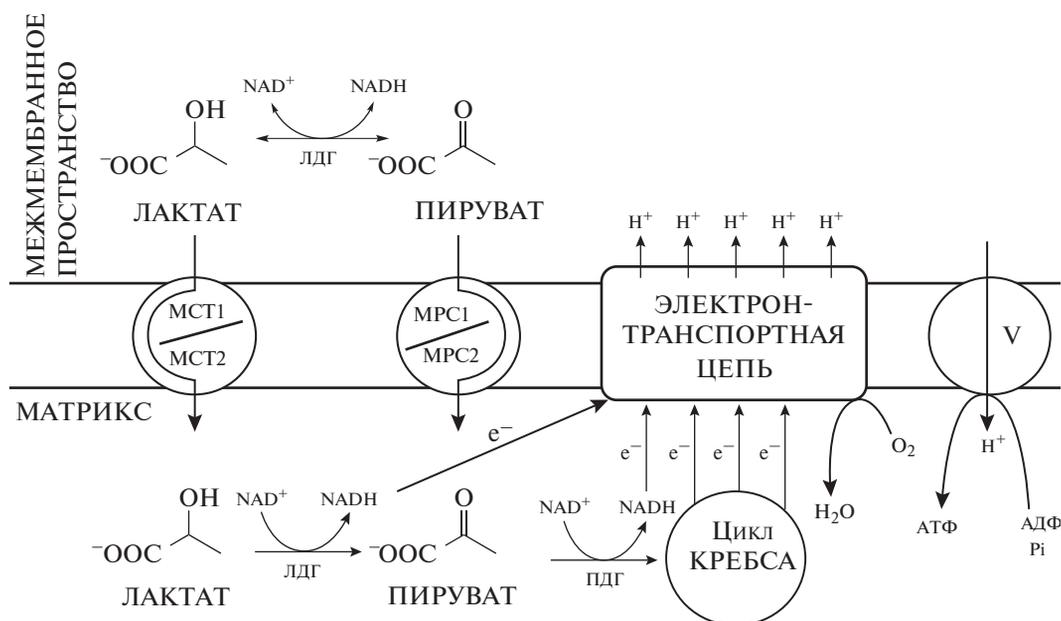


Рис. 1. Лактатдегидрогеназа обеспечивает трансфер восстановительных эквивалентов в виде NADH на комплекс I митохондрий (адаптировано по: Young et al., 2020). АТФ – аденозинтрифосфат; АДФ – аденозиндифосфат; V – АТФ-синтаза; Pi – фосфат неорганический; H^+ – протон; e^- – электрон; NADH – никотинамидадениндинуклеотид восстановленный; NAD^+ – никотинамидадениндинуклеотид окисленный; МСТ1 – монокарбоксилатный переносчик 1; МСТ2 – монокарбоксилатный переносчик 2; MPC1 – митохондриальный переносчик пирувата 1; MPC2 – митохондриальный переносчик пирувата 2; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; ПДГ – пируватдегидрогеназа. Здесь и на рис. 2 и 3.

татемии при критических состояниях не позволяла получить ответы на целый ряд вопросов (Halmagyi et al., 1967, 1971; Liddell et al., 1979; McCarter et al., 2001; Levy et al., 2007; Wutrich et al., 2010):

– почему адреналин стимулирует продукцию лактата?

– почему уровень лактата в биосредах прямо коррелирует с концентрацией катехоламинов в плазме крови?

– почему блокада адренергических рецепторов в значительной степени предотвращает накопление лактата в биосредах организма при шоковых состояниях?

– почему лактат улучшает сократительную функцию миокарда при шоковых состояниях?

На моделях угрожающих жизни состояний убедительно показано, что тканевая гипоперфузия и гипоксия не представляют собой основную патофизиологическую причину гиперлактатемии (Regueira et al., 2012). Поэтому в 2013 г. было предложено (Marik, Bellomo, 2013a) рассматривать стимулирование аэробного гликолиза при стресс-индуцирующих/критических состояниях как часть стресс-индуцированной адаптивной реакции, когда возрастание продукции лактата обусловлено стимуляцией активности Na^+/K^+ -АТФаз за счет выброса катехоламинов, а не дефицитом кислорода в тканях.

Новая парадигма понимания физиологической сущности аэробного гликолиза при стресс-индуцирующих воздействиях (рис. 2) основана на многочисленных убедительных данных о том, что:

– катехоламины посредством активирования β_2 -адренорецепторов (β_2 -АР) увеличивают уровень цАМФ в цитозоле клеток, что обуславливает стимулирование гликогенолиза, гликолиза и активности Na^+/K^+ -АТФаз (James et al., 1999b; McCarter et al., 2002; Levy et al., 2008; Bers, Despa, 2009);

– образующийся в процессе функционирования Na^+/K^+ -АТФазы АДФ посредством стимулирования активности фосфофруктокиназы (скорость-лимитирующий фермент гликолиза) увеличивает интенсивность гликолиза, то есть стимулирует образование пирувата (лактата) (Goldhammer, Paradies, 1979; Evans et al., 1981; Jenkins et al., 2011);

– активно функционирующая Na^+/K^+ -АТФаза стимулирует продукцию лактата и в условиях оптимальной оксигенации тканей (James et al., 1996, 1999a; Levy et al., 2005, 2008).

Таким образом, многие ткани, включая скелетную мускулатуру, могут продуцировать большие объемы лактата и в условиях оптимальной оксигенации, если активность Na^+/K^+ -АТФаз стимулирована воздействием катехоламинов (ад-

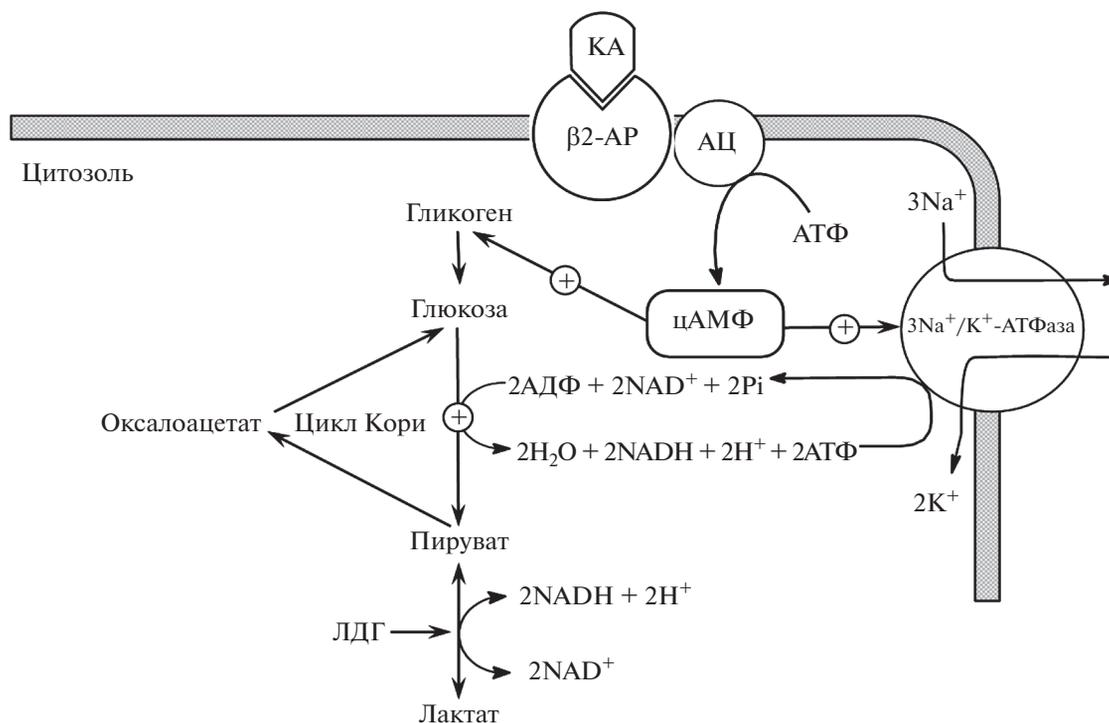


Рис. 2. Стресс-индуцированная продукция пирувата (лактата). $\beta 2$ -АР – $\beta 2$ -адренорецептор; КА – катехоламин; АЦ – аденилатциклаза; цАМФ – циклический аденозинмонофосфат.

реналин, норадреналин) (McCarter et al., 2001, 2002; Levy et al., 2008; Qvisth et al., 2008). Эффект катехоламинов относительно стимуляции аэробного гликолиза обусловлен их взаимодействием с $\beta 2$ -АР (Levy et al., 2008; Qvisth et al., 2008).

Роль $\beta 2$ -агонистов (в особенности короткодействующих: сальбутамола, тербуталина, левалбутерина, пирбутерола и др.) не только в купировании бронхообструкции, но и в воспроизведении гликолитических эффектов катехоламинов с последующей глюкоземией (Beta-2 adrenergic agonists, 2017; Hsu, Vajaj, 2021), многократно доказана в спортивной медицине (Davis, 1985; Allen et al., 2019).

Стрессовая гипергликемия и резистентность к инсулину – эволюционно древняя адаптивная реакция, направленная на обеспечение энергопотребностей и функциональной активности инсулиннезависимых тканей (нервная ткань, эпителий кишечника и др.) (Shepherd, Kahn, 1999; Barreto, Volpato, 2006; Soeters, Soeters, 2012; Marik, Bellomo, 2013b). О биологической значимости метаболического перепрограммирования свидетельствует то, что эффекты катехоламинов дублируются (воспроизводятся) остеокальцином. Остеокальцин – гормон, продуцируемый остеобластами в процессе остеосинтеза, который регулирует связывание ионов кальция и образование гидроксиапатита (Zoch et al., 2016). Кроме того, остеокальцин участвует в регулировании метаболизма глюкозы

(Tangseefa et al., 2018) и действует как стресс-гормон:

- опосредует немедленную реакцию на стресс даже в условиях надпочечниковой недостаточности (Berger et al., 2019);

- рецептор-зависимым путем (рецептор GPRC6A) супрессирует β -окисление жирных кислот, модулирует процессы гликогенеза и гликогенолиза, то есть переключает энергопродукцию на преимущественное окисление углеводов (Pi et al., 2020);

- способствует адаптации к физической нагрузке – увеличивает физическую работоспособность (Mera et al., 2016).

ЛАКТАТ: ПРИЧИНА, СЛЕДСТВИЕ ИЛИ МЕТАБОЛИТ-ПРОТЕКТОР МЫШЕЧНОЙ УСТАЛОСТИ?

Классическая теория мышечной усталости, вызванной физическими упражнениями, предполагает ее ассоциированность с метаболическими изменениями – снижением показателя рН, накоплением неорганического фосфата (Pi) при неадекватном снабжении мышц кислородом (Mitchell, Blomqvist, 1971; Bassett, Howley, 2000). Известно, что мышечная активность поддерживается за счет расходования макроэргов. Три основные АТФазы обеспечивают выполнение мышечной

работы: 1) Na^+/K^+ -АТФаза восстанавливает ионные градиенты на плазматической мембране мышечных клеток, 2) миозиновая АТФаза обеспечивает сокращение актин-миозиновых комплексов, 3) Ca^{2+} -АТФаза осуществляет транспорт Ca^{2+} из цитоплазмы мышечных клеток в цистерны саркоплазматического ретикулума, что обеспечивает расслабление мышц. Для обеспечения активности этих ферментов в процессе мышечного сокращения из общего бюджета используемых макроэргов потребляется 10, 60 и 30% соответственно (Homsher, 1987).

При мышечных сокращениях активируются АТФазы и гликолиз, что сопровождается накоплением внутриклеточных метаболитов: H^+ , пирувата, Pi. Если объем гликолитической продукции пирувата превышает объем утилизации (окисления) метаболита в митохондриях, его избыток трансформируется в молочную кислоту. При физиологических значениях pH молочная кислота в биологических жидкостях почти полностью (99%) диссоциирует на лактат-анион (La^-) и протон (H^+) (Gladden, 2004). Накопление H^+ приводит к уменьшению величины внутриклеточного pH с 7.3 до 6.9–6.4 единиц, несмотря на действие буферных систем. Считалось, что при достижении внутриклеточным pH величины 6.4 транспорт глюкозы и интенсивность гликолитических реакций замедляются, выделение Ca^{2+} из цистерн саркоплазматического ретикулума и чувствительность тропонина С к ионам кальция снижаются (Delcher, Shipp, 1966; Ui, 1966; Kaminskas, 1978; Metzger, Moss, 1990), что потенциально может привести к нарушению мышечных сокращений. Однако роль снижения величины pH в суммарном формировании мышечной усталости не нашла экспериментального подтверждения и в настоящее время аргументированно оспорена — ацидификация цитоплазмы мышечных волокон оказывает лишь минимальное влияние на сократительную способность скелетных мышц млекопитающих (Pate et al., 1995; Stackhouse et al., 2001). В частности, установлено, что основным источником протонов при сокращении мышечных волокон выступает реакция гидролиза АТФ (Zilva, 1978; Madias, 1986; Robergs et al., 2004):



а продукция лактата (посредством восстановления пирувата), наоборот, замедляет развитие ацидоза:



Мышечная активность в условиях энергодефицита сопряжена с накоплением Pi (фосфат-анион), выделяющегося во внутриклеточную сре-

ду при гидролизе креатинфосфата и АТФ. При формировании мышечной усталости уровень Pi в цитоплазме мышечных волокон может быстро возрасти от 5 до 30 мМ (Allen, Trajanovska, 2012). Pi ингибирует высвобождение Ca^{2+} из цистерн саркоплазматического ретикулума, нарушая тем самым сократительную функцию мышц (Sundberg, Fitts, 2019), что синергично усиливается повышенными концентрациями H^+ (Nelson et al., 2014). Обращает внимание и то, что Pi в биологических средах при физиологических значениях величины pH существует в форме HPO_4^{2-} и при закислении среды (накоплении H^+) может функционировать в качестве буфера, поскольку величина логарифма константы протонирования в этом случае составляет 6.82 (Robergs et al., 2004):



Концентрация лактата в плазме крови при истошающих физических нагрузках коррелирует с развитием мышечной усталости. Однако продукцию лактата при дефиците макроэргических фосфатов (АТФ) считают следствием, а не причиной состояний, которые вызывают ацидоз (Robergs, 2001). Более того, лактат-анион обеспечивает защиту от мышечной усталости, противодействуя угнетающему влиянию повышенных уровней внеклеточного K^+ на возбудимость мышечных волокон и силу мышечных сокращений (Nielsen et al., 2001; Pedersen et al., 2003; De Paoli et al., 2007). Поэтому введение бикарбоната натрия пациентам при выраженной лактатемии сопряжено с более высокой смертностью (Kim et al., 2013). Международным руководством при сепсисе бикарбонатная терапия при лечении пациентов не рекомендована, если pH крови ≥ 7.15 , при этом остаются без рекомендаций случаи более выраженного лактат-ацидоза (Rhodes et al., 2017).

При длительной мышечной активности снижение уровня K^+ в саркоплазме мышечных волокон (в 1.3–7 раз) и возрастание концентрации K^+ в интерстициальной жидкости (до 2 раз) при 1.5–2-кратном возрастании уровня Na^+ в цитоплазме мышечных клеток приводит к подавлению возбудимости и сократимости мышечных волокон, то есть к мышечной усталости. Повышение активности Na^+/K^+ -АТФазы плазматической мембраны миоцитов во время интенсивной мышечной нагрузки стабилизирует трансмембранные градиенты концентрации ионов и увеличивает возбудимость сарколеммы мышечных волокон, тем самым защищая от наступления мышечной слабости (McKenna et al., 2008).

Ингибирующий эффект повышенных концентраций внеклеточного K^+ на активность Na^+/K^+ -АТФазы преодолевается аддитивным действием лактата и катехоламинов (Nielsen et al.,

2001; Pedersen et al., 2003; De Paoli et al., 2007). Стимуляция $\beta 2$ -АР приводит к активированию протеинкиназ А и С (Han et al., 2006; Bibert et al., 2008; Despa et al., 2008) с последующим фосфорилированием фосфолеммана (малый саркоплазматический протеин, ассоциированный с Na^+/K^+ -АТФазой, модулирующий активность данного ионного обменника), что проявляется стимулированием активности Na^+/K^+ -АТФазы, но ингибированием $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмена (Berg, Despa, 2009; Cheung et al., 2010, 2013).

Гиперлактатемия при критических состояниях обусловлена не только избыточной продукцией лактата, а, главным образом, подавлением утилизации молочной кислоты (Levgaut et al., 1998). Угрожающие жизни состояния, длительная мышечная активность высокой интенсивности – стресс-индуцирующие воздействия, сопровождающиеся резким и значительным (многократным) увеличением уровня адреналина и более мощным – норадреналина в крови (Galbo et al., 1975; Horton et al., 1985; Zouhal et al., 2008; Soria et al., 2014). Катехоламины при интенсивной мышечной активности обеспечивают перераспределение кровотока в интересах работающих мышц, гомеостатирование давления крови (Thomas, Segal, 2004; Holwerda et al., 2015) и выступают в качестве основного регулятора метаболизма глюкозы (Marliss, Vranic, 2002). Биогенные амины (адреналин и норадреналин) стимулируют активность Na^+/K^+ -АТФаз плазматической мембраны мышечных волокон, что индуцирует аэробный гликолиз и, следовательно, увеличивает продукцию лактата в мышцах (James et al., 1999a; McCarter et al., 2002; Levy et al., 2008; Sepp et al., 2014). Лактат в качестве приоритетного энергетического субстрата далее утилизируется в митохондриях при участии пируватдегидрогеназного комплекса (табл. 1, рис. 3).

Пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК), представляющий собой структурно-функциональное объединение энзимов массой более $\times 10^6$ Да, катализирует окислительное декарбоксилирование пирувата с образованием ацетил-СoА, NADH и CO_2 , таким образом соединяя анаэробную и аэробную продукцию макроэргов. В условиях хронического стресса и при длительных интенсивных мышечных нагрузках активность ПДК может подавляться под влиянием прооксидантов (гидроксильный радикал, пероксинитрит) (Chugh-chill et al., 2005; Martin et al., 2005), что сопровождается нарушением утилизации пирувата, то есть нарушением энергопродукции (Vary et al., 1986; Nirupama et al., 2012; Gudiksen et al., 2016).

Активность ПДК контролируется посредством фосфорилирования/дефосфорилирования пируватдекарбоксилазы (Е1) ПДГ-киназами/ПДГ-фосфатазами (Sheeran et al., 2019). Ионы магния как кофакторы и регуляторы активности ферментов

играют важную роль в физиологии клеток организма человека, в том числе в процессах митохондриального окислительного фосфорилирования, и способствуют поддержанию функциональной активности мышц (Bohl, Volpe, 2002; Pilchova et al., 2017; Zhang et al., 2017). Эффекты стресс-гормонов (катехоламинов), уровень которых коррелирует с интенсивностью мышечной активности, ассоциированы с гипермагнизурией и, следовательно, с падением уровня ионов магния в биосредах организма (Тарасов и др., 2015; Joborn et al., 1985; Whyte et al., 1987; Cordova et al., 1992). Катионы магния активируют ПДК посредством стимулирования активности фосфатазы пируватдекарбоксилазы, в качестве кофактора (MgATP^{2-}) стимулируют ферменты гликолиза (гексокиназа, фосфофруктокиназа, фосфоглицераткиназа, пируваткиназа) и нормализуют активность Na^+/K^+ -АТФаз, что приводит к ускорению утилизации лактата, увеличению энергопродукции, восстановлению возбудимости и сократимости мышечных волокон (Caddell, 2001; Huang, Kuo, 2007; Pilchova et al., 2017). Если потребление Mg^{2+} менее 260 мг/день у физически активных мужчин и менее 220 мг/день у женщин, то может сформироваться магниевый-дефицитный статус. В условиях интенсивных физических нагрузок суточная потребность в магнии увеличивается на 10–20% (Nielsen, Lukaski, 2006). Поэтому назначение препаратов магния при истощающей мышечной активности повышает работоспособность и выносливость (Chen et al., 2014; Veronese et al., 2014; Kass, Poeira, 2015; Zhang et al., 2017).

Активность ПДК в значительной степени зависит и от обеспеченности кофакторами: тиаминдифосфатом и липоевой кислотой. При интенсивных физических и нервно-эмоциональных нагрузках в организме человека быстро возникает недостаток тиамин – витамина B_1 (Рахманов и др., 2016; Andersen et al., 2015). Выраженная склонность организма человека к формированию тиамин-дефицита, по-видимому, связана с низкой концентрацией тиаминдифосфата в циркулирующей крови, с отсутствием депо тиаминдифосфата в тканях (Gangolf et al., 2010) и с возрастанием скорости инактивации данного витамина при стимулировании митохондриальной энергопродукции (Nijkowski, 1966; Manore, 2000).

При угрожающих жизни состояниях уровень тиаминдифосфата в плазме крови отрицательно коррелирует с возрастанием концентрации лактата и положительно – с активностью пируватдегидрогеназы (Donnino et al., 2010; Costa et al., 2013; Attaluri et al., 2018). Вместе с тем, при дефиците тиаминдифосфата снижается не только пируватдегидрогеназная активность, но и уменьшается количество энзимов, входящих в состав ферментного комплекса (Andersen et al., 2015), по-видимому, вследствие уско-

Таблица 1. Состав пируватдегидрогеназного ферментного комплекса

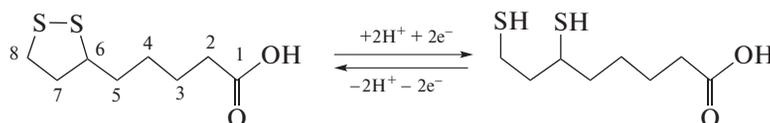
Фермент	Символ	Число мономеров (олигомеров)	Кофермент	Прекурсор
Пируватдекарбоксилаза (КФ 1.2.4.1)	E1	120 (30 тетрамеров)	Тиамин-пирофосфат (ТПФ)	Витамин В1
Дигидролипоилтрансацилаза (КФ 2.3.1.12)	E2	180 (60 тримеров)	Липоамид	Липоевая кислота (ЛК)
			СоА	Пантотеновая кислота
Дигидролипоилдегидрогеназа (КФ 1.8.1.4)	E3	12 (6 димеров)	FAD, NAD ⁺	Витамины В2, РР

ренной протеолитической деградации его лишенных кофактора компонентов (Li et al., 2004) и подавления их экспрессии (Pekovich et al., 1998). Назначение витамина В₁ при тиамин-дефицитных состояниях стимулирует аэробный метаболизм, предупреждает избыточное накопление лактата (Manzanares, Hardy, 2011; Giacalone et al., 2015; Lerner et al., 2017; Attaluri et al., 2018), а высокие дозы тиамин (100 мг/день) замедляют наступление усталости при интенсивных физических нагрузках, ускоряют восстановление после наступления усталости (Suzuki, Itokawa, 1996; Choi et al., 2013; Masuda et al., 2015). Следует заметить, что тиамин-дефицит может проявляться не только слабостью скелетной мускулатуры, но и

симптомами систолической дисфункции (Ahmed et al., 2015).

Кроме тиамин, важным регулятором активности пируватдекарбоксилазы ПДК считают экзогенную R-липовую кислоту, оказывающую ингибирующее влияние на активность киназы пируватдегидрогеназы (Korotchikina et al., 2004).

В качестве дополнительного ростового фактора бактерий липоевая кислота описана еще в 1937 г. (Snell et al., 1937) и уже в 1951 г. выделена в чистом виде как кофактор ПДК (Reed et al., 1951). В структуре липоевой (тиоктовой, 6,8-дитиоктовой) кислоты содержится две SH-группы (тио-группы), которые могут быть либо в окисленном, либо в восстановленном состоянии:



Ее восстановленная форма известна как дигидролиповая кислота, а окисленная — как α-ли-

повая кислота (Kramer, Packer, 2001). В структуре тиоктовой кислоты локализован один хиральный

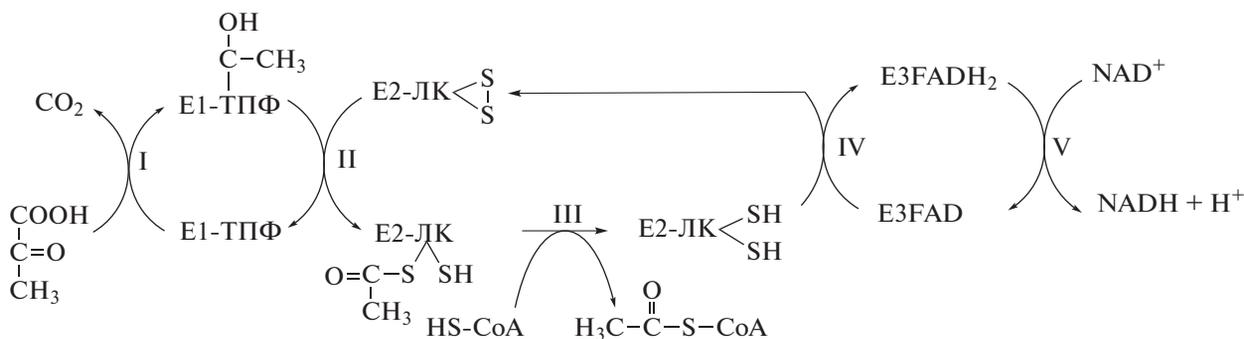


Рис. 3. Пируватдегидрогеназный комплекс (адаптировано по: Milne et al., 2002; Vijaykrishnan et al., 2011; Patel et al., 2014). ТПФ — тиаминпирофосфат; ЛК — липоевая кислота; FADH₂ — флавинадениндинуклеотид восстановленный, FAD — флавинадениндинуклеотид окисленный; CoA — коэнзим А. I — E1 катализирует декарбоксилирование пирувата и перенос 2(C)-фрагмента на ТПФ; II — E2 катализирует окисление гидроксильной группы и перенос 2(C)-фрагмента на ЛК; III — ацетилированная дигидролипоилтрансфераза взаимодействует с CoA с образованием восстановленной формы ЛК и ацетил-CoA; IV — восстановленная форма трансацилазы окисляется при участии E3; V — восстановленная форма E3 окисляется при взаимодействии с NAD⁺.

(асимметричный) атом углерода С(6) и поэтому она может существовать в виде пары энантиомеров (оптических изомеров), то есть в форме R- и L-изомеров. Биологически активна только R-липоевая кислота (Reed, 1998; Uchida et al., 2015). Восстановленная тиоктовая кислота обладает весьма высоким восстановительным потенциалом, равным -0.32 В (Smith et al., 2004), существенно превосходящим величины редокс-потенциала восстановленного глутатиона и восстановленной аскорбиновой кислоты (-0.24 и -0.28 В соответственно) (Packer et al., 1995; Padmalayam, 2012).

Из желудочно-кишечного тракта человека поступает не более 30–40% от общего количества липоевой кислоты (Teichert et al., 2003; Hermann et al., 2014). Не отличаясь тропностью к митохондриям, она распределяется в цитозоле клеток, и лишь малая часть экзогенной тиоктовой кислоты проникает в митохондрии (Brown et al., 2007; Ripcke et al., 2009). Обладая высоким восстановительным потенциалом, дигидролипоевая кислота способна напрямую без участия каких-либо ферментов гасить активные радикалы/метаболиты кислорода и азота, восстанавливать окисленные формы глутатиона, α -токоферола, витамина С и коэнзима Q_{10} (Kozlov et al., 1999; Jones et al., 2002; Smith et al., 2004). Антиоксидантное действие липоевой кислоты ассоциировано и с ее способностью хелатировать ионы металлов переменной валентности, предотвращая таким образом их участие в генерировании активных радикалов кислорода (Suh et al., 2005; Ali et al., 2015; Camiolo et al., 2019). Но значимость экзогенной липоевой кислоты как антиоксиданта, по-видимому, ограничена тем, что в тканях уровень свободной тиоктовой кислоты на порядок ниже, чем других антиоксидантов, и она быстро утилизируется в реакциях липоилирования свободных радикалов.

Тем не менее, липоевая кислота весьма благоприятно влияет на клинико-биохимические проявления угрожающих жизни состояний (Li et al., 2014; Ali et al., 2016; Petronilho et al., 2016). Тиоктовая кислота, практически не проникая внутрь митохондрий (Reed, 1957; Lodge, Packer, 1999), способствует купированию митохондриальной дисфункции (Barbieroli et al., 1995; Liu, 2008; Nicolson, 2014).

Изначально предполагали, что тиоктовая кислота синтезируется только микроорганизмами и для млекопитающих служит витамин-подобной субстанцией (Gorasa et al., 2011). Однако оказалось, что липоевую кислоту синтезируют не только прокариоты, но и митохондрии эукариот из октановой кислоты и S-аденозилметионина SAM (S-adenosylmethionine) при участии октаноилтрансферазы и синтазы липоевой кислоты LASY (lipoic acid synthase), которая катализирует замену

двух атомов водорода в положении С(6) и С(8) на две тио-группы (SH-группы) из состава двух молекул SAM (Jordan, Cronan, 1997; Cronan et al., 2005; Padmalayam et al., 2009; Cronan, 2016).

Синтаза липоевой кислоты млекопитающих экспрессируется в виде проэнзима, на N-концевой части полипептидной цепи которого локализована адресная последовательность из 37 аминокислотных остатков, селективно направляющих профермент в матрикс митохондрий, где адресный локус удаляется и протеин приобретает ферментативную активность (Morikawa, 2001; Cronan, 2016). Липоевая кислота в свободном виде может выделяться в бактериях из состава активного центра энзимов под влиянием липоамидазы (Jiang, Cronan, 2005). Роль липоамидазы в митохондриях эукариот, как выяснилось в последнее время, выполняет NAD-зависимая гистондеацетилаза/АДФ-рибозилтрансфераза SIRT4, инактивирующая ПДК путем удаления кофактора (липоевой кислоты) из активного центра дигидролипилтрансферазы (Mathias et al., 2014, 2016).

Под влиянием стресс-реализующих гормонов и провоспалительных медиаторов возрастает активность α -кетоглутаратдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы (Zakharchenko et al., 2013), но подавляется активность пируватдегидрогеназы (Vary et al., 1998; Andersen et al., 2015; Nuzzo et al., 2015). И при этом SIRT4, ингибирующий ПДК, оказывает парадоксальное противовоспалительное действие (Tao et al., 2015, 2019).

Почему при максимальной интенсивности митохондриальной энергопродукции SIRT4, выступая в качестве регулятора митохондриального биогенеза, подавляя разобщение окисления и фосфорилирования, снижая β -окисление жирных кислот в митохондриях (Laurent et al., 2013; Ho et al., 2013; Betsinger, Cristea, 2019; Han et al., 2019), ингибирует активность ПДК? Следует обратить внимание на то, что при подавлении активности комплекса IV (цитохром c-оксидаза) митохондриальной электрон-транспортной цепи (низкие значения pO_2 , воздействие NO^{\cdot} , CN^{-}) (Chandel et al., 1995; Sarti et al., 2003, 2012; Leavesley et al., 2008) и при возрастании соотношения NADH/NAD⁺ комплекс I дыхательной цепи становится одним из основных источников супероксидного анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$) в митохондриях (Murphy, 2009). Поэтому биологическая целесообразность ингибирования ПДК и стимулирования активности α -кетоглутаратдегидрогеназы состоит в ограничении поступления субстрата (NADH) на митохондриальный дыхательный комплекс I (подавление его супероксид-генерирующего эффекта) и в стимулировании сукцинат-зависимой (дыхательный комплекс II, сукцинатдегидрогеназа) энергопродукции. Однако такая адаптивная реакция, по-видимому, может быть благоприятной

лишь кратковременно, поскольку в условиях стресс-реакции экспрессия *LAS5* подавлена (Padmalayam et al., 2009), а активность α -кетоглутаратдегидрогеназы быстро ингибируется про-оксидантами (Tretter, Adam-Vizi, 2005; McLain et al., 2011).

При угрожающих жизни состояниях, при истощающих физических нагрузках, то есть в условиях длительного метаболического стресса, *SIRT4*-зависимое ингибирование пируватдегидрогеназной активности митохондрий становится, по сути дела, необратимым вследствие отсутствия возможности синтеза *de novo* липоевой кислоты как кофактора дигидролипоилтрансацилазы (E2) ПДК. В этой ситуации при угрожающих жизни состояниях назначение липоевой кислоты эффективно предотвращает/купирует митохондриальную дисфункцию (Vanasco et al., 2008; Nicolson, 2014; Petronilho et al., 2016). Таким образом, значимым элементом фармакологической стратегии профилактики/купирования митохондриальной дисфункции при длительных стресс-индуцирующих воздействиях (истощающих мышечных нагрузках) может быть использование фармакологических средств (липовая кислота), стимулирующих экспрессию *LAS5* (Padmalayam, 2012; Padmalayam et al., 2012).

Биологическая целесообразность стресс-индуцированных реакций организма зависит от их направленности на сохранение и оптимизацию энергопродукции в жизненно важных органах и тканях (Nesse et al., 2016). Наиболее выражены эти реакции при тяжелых формах гипоксии, кровопотере и сепсисе (Hart et al., 1989), когда уровни адреналина и норадреналина в плазме крови пациентов могут увеличиваться в 50 и 10 раз соответственно (Chernow et al., 1982). Такая динамика уровней катехоламинов сопровождается метаболическим перепрограммированием организма, проявляющимся:

- гипергликемией (McCowan et al., 2001; Dungan et al., 2009; Bar-Or et al., 2019);

- гиперлактатемией (Garcia-Alvarez et al., 2014; Kaukonen et al., 2014; Brooks, 2020);

- лактат-зависимым, рецептор-опосредованным (*GPR81*) ингибированием липолиза в жировых клетках и соответствующим снижением уровня свободных жирных кислот в плазме крови (Cai et al., 2008; Ge et al., 2008; Liu, 2008; Ahmed et al., 2010; Bergersen, 2015);

- пируват-зависимым увеличением в матриксе митохондрий уровней малонил-*CoA* и ацетил-*CoA*, ингибирующих соответственно транспорт в митохондрии жирных кислот (в виде ацил-*CoA*) (McGarry et al., 1977; Saddik et al., 1993) и активность β -кетотиолазы – скорость-лимитирующего энзима β -окисления жирных кислот (Brooks, 2020).

Представленные данные со всей очевидностью свидетельствуют о том, что в условиях острого стресса метаболические процессы в организме перепрограммируются на преимущественное окисление глюкозы. Об этом, в частности, свидетельствует динамика величины дыхательного коэффициента, который под влиянием стресс-индуцирующих факторов может возрастать до предельных величин (McGregor et al., 1994; Patkova et al., 2018; Griffiths et al., 2019). И именно углеводы обеспечивают выносливость во время длительной мышечной активности (Hawley, Leckey, 2015).

Дыхательный коэффициент – это отношение объема диоксида углерода, выделившегося при дыхании, к объему кислорода, потребленного в процессе дыхания. Величина дыхательного коэффициента при окислении жиров и углеводов составляет 0.7 и 1.0 соответственно (Prentice et al., 2013). Но каким преимуществом, с точки зрения оптимизации энергопродукции, отличается утилизация углеводов от β -окисления жирных кислот? Почему организму в условиях стресса, когда лимитирующим фактором чаще всего становится кислород, выгоднее переключаться на окисление углеводов?

Для получения ответа на эти вопросы следует обратить внимание на стехиометрию митохондриального окислительного фосфорилирования (Leverve et al., 2007). Стехиометрия синтеза АТФ в отношении потребления O_2 выше при окислении углеводов и ниже при β -окислении жирных кислот. На моль АТФ, синтезируемого при окислении липидов, расходуется на 10–13% больше молей кислорода (Hinkle et al., 1991; Brand, 2005; Mookerjee et al., 2017).

Помимо митохондрий, в качестве значимых потребителей кислорода в клетках млекопитающих выступают монооксигеназы эндоплазматического ретикулаума и энзимы пероксисом, обеспечивающие гидроксилирование липофильных ксенобиотиков и окисление длинноцепочечных разветвленных жирных кислот соответственно (Gordeziani et al., 2016; Islinger et al., 2018). О масштабе немитохондриального потребления кислорода можно судить, исходя из того, что при физиологических условиях до 20–30% кислорода, потребляемого печенью, утилизируется в пероксисомах и монооксигеназной системой микросом, а выделяемая энергия рассеивается в виде тепла (De Duve, Baudhuin, 1966; Reddy, Mannaerts, 1994; Legakis et al., 2002).

Цитохром *c*-оксидаза митохондрий обладает высокой степенью сродства к кислороду – K_m (константа Михаэлиса) энзима к молекулярному кислороду менее 1 мкМ/л (Krab et al., 2011), тогда как аффинность различных изоформ цитохрома P450 к молекулярному кислороду значительно

ниже — $K_m = 4\text{--}5$ мкМ/л (Estabrook et al., 1968; Ullrich et al., 1968). Поэтому в условиях даже умеренной гипоксии монооксигеназная система микросом не может эффективно конкурировать с цитохром *c*-оксидазой митохондрий за кислород — метаболическая активность многих (большинства) изоформ цитохрома P450 снижается, то есть в условиях гипоксии потребление кислорода монооксигеназами подавлено (Fradette, Du Souich, 2004; Gong et al., 2017; Zhou et al., 2018).

В отличие от монооксигеназ эндоплазматического ретикулама пероксисомальные оксидазы, по-видимому, способны эффективно конкурировать с цитохром *c*-оксидазой митохондрий за кислород. Здесь следует обратить внимание на амфетамин. Амфетамин — синтетический психостимулятор и антидепрессант фенэтиламинового ряда — в низких и умеренных дозах увеличивает физическую выносливость людей и животных (Weiss, Laties, 1962; Wyndham et al., 1971; Gerald, 1978). Механизмы реализации эффектов амфетамина (увеличение физической выносливости) остаются неизвестными (Wan et al., 2017). Вместе с тем, описано, что амфетамин замедляет наступление утомления крыс, нивелируя вызванное мышечной активностью повышение температуры тела вследствие увеличения тепловыделения (Mogozova et al., 2016). Но эти экспериментальные данные можно интерпретировать и как следствие ингибирования пероксисомального β -окисления длинноцепочечных и разветвленных жирных кислот, когда прекращается потребление кислорода в пероксисомах и рассеивание энергии в виде тепла. Кроме того, амфетамин увеличивает активность Na^+/K^+ -АТФаз (Angel et al., 1985; Zugno et al., 2009). Эти фармакологические эффекты амфетамина вполне удовлетворительно объясняют его способность увеличивать физическую выносливость человека и животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исторически повышение уровня лактата в биосредах организма, к сожалению, интерпретировали неудачно — как неблагоприятный метаболический фактор. Но пришло время нового понимания биологии лактата — как ключевого фактора метаболического перепрограммирования организма в условиях стресса/интенсивной физической нагрузки. Аэробно/анаэробно продуцируемый лактат выполняет как минимум три функции, представляя собой:

— метаболит, минимизирующий в условиях острого стресса потребление кислорода и оптимизирующий энергопродукцию в процессе митохондриального окислительного фосфорилирования;

— главный глюконеогенный предшественник и интермедиат, обеспечивающий энергопродукцию в клетках ЦНС, миокарда, печени, почек;

— сигнальную субстанцию, обеспечивающую посредством редокс-регуляции, лактирования и рецептор-опосредованного ингибирования липолиза в жировой ткани β -окисление жирных кислот в митохондриях и пероксисомах, увеличение устойчивости к стресс-индуцирующим воздействиям и ускорение репарации повреждений.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность за помощь в подготовке рисунков статьи к. х. н., доценту И.В. Лагоде.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Рахманов Р.С., Пискарев Ю.Г., Блинова Т.В. и др.* Оценка витаминно-минеральной обеспеченности организма при физических и нервно-эмоциональных нагрузках // ЗНиСО. 2016. № 4 (277). С. 11–15.
- Тарасов Е.А., Блинов Д.В., Зимовина У.В., Сандакова Е.А.* Дефицит магния и стресс: вопросы взаимосвязи, тесты для диагностики и подходы к терапии // Терапевт. архив. 2015. Т. 87. № 9. С. 114–122.
- Ahmed K.* Biological roles and therapeutic potential of hydroxyl-carboxylic acid receptors // Front. Endocrinol. 2011. V. 2. Art. 51.
- Ahmed K., Tunaru S., Tang C. et al.* An autocrine lactate loop mediates insulin-dependent inhibition of lipolysis through GPR81 // Cell Metab. 2010. V. 11. Iss. 4. P. 311–319.
- Ahmed M., Azizi-Namini P., Yan A.T., Keith M.* Thiamin deficiency and heart failure: the current knowledge and gaps in literature // Heart Gail. Rev. 2015. V. 20. Iss. 1. P. 1–11.
- Ali Y.F., Desouki O.S., Selim N.S., Ereiba K.M.* Assessment of the role of α -lipoic acid against the oxidative stress of induced iron overload // J. Radiat. Res. Appl. Sci. 2015. V. 8. Iss. 1. P. 26–35.
- Ali R.M., Khairy M.A., Mansour D.Y.* Effect of alpha-lipoic acid on acute lung injury and acute kidney injury in major postpartum hemorrhage // Ains Shams J. Anaesthesiol. 2016. V. 9. Iss. 2. P. 219–224.

- Allen D.G., Trajanovska S. The multiple roles of phosphate in muscle fatigue // *Front. Physiol.* 2012. V. 3. Art. 463.
- Allen H., Backhouse S.H., Hull J.H., Price O.J. Anti-doping policy, therapeutic use exemption and medication use in athletes with asthma: a narrative review and critical appraisal of current regulations // *Sports Med.* 2019. V. 49. Iss. 5. P. 659–668.
- Andersen L.W., Liu X., Peng T.J. et al. Pyruvate dehydrogenase activity and quantity decreases after coronary artery bypass grafting: a prospective observational study // *Shock.* 2015. V. 43. Iss. 3. P. 250–254.
- Angel I., Hauger R.L., Luu M.D. et al. Glucostatic regulation of (+)-[³H]amphetamine binding in the hypothalamus: correlation with Na⁺,K⁺-ATPase activity // *PNAS USA.* 1985. V. 82. № 18. P. 6320–6324.
- Araki T. Ueber die Bildung von Milchsäure und Glycose im Organismus bei Sauerstoffmangel // *Z. Physiol. Chem.* 1891a. B. 15. S. 335–370.
- Araki T. Ueber die Bildung von Milchsäure und Glycose im Organismus bei Sauerstoffmangel. Zweite Mittheilung: Ueber die Wirkung von Morphium, Amylnitrite, Cocain // *Z. Physiol. Chem.* 1891b. B. 15. S. 546–561.
- Araki T. Ueber die Bildung von Milchsäure und Glycose im Organismus bei Sauerstoffmangel. Dritte Mittheilung // *Z. Physiol. Chem.* 1892. B. 16. S. 453–459.
- Attaluri P., Castillo A., Edriss H., Nugent K. Thiamine deficiency: an important consideration in critically ill patients // *Am. J. Med. Sci.* 2018. V. 356. Iss. 4. P. 382–390.
- Barbiroli B., Medori R., Tritschler H.J. et al. Lipoic (thiolic) acid increases brain energy availability and skeletal muscle performance as shown by *in vivo* 31P-MRS in a patient with mitochondrial cytopathy // *J. Neurol.* 1995. V. 242. Iss. 7. P. 472–477.
- Bar-Or D., Rael L.T., Madayag R.M. et al. Stress hyperglycemia in critically ill patients: insight into possible molecular pathways // *Front. Med.* 2019. V. 6. Art. 54.
- Barr D.P., Himwich H.E., Green R.P. Studies in the physiology of muscular exercise. I. Changes in acid-base equilibrium following short periods of vigorous muscular exercise // *J. Biol. Chem.* 1923. V. 55. P. 495–523.
- Barr D.P., Himwich H.E. Studies in the physiology of muscular exercise. II. Comparison of arterial and venous blood following vigorous exercise // *J. Biol. Chem.* 1923a. V. 55. P. 525–537.
- Barr D.P., Himwich H.E. Studies in the physiology of muscular exercise. III. Development and duration of changes in acid-base equilibrium // *J. Biol. Chem.* 1923b. V. 55. P. 539–555.
- Barreto R.E., Volpato G.L. Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2006. V. 39. № 12. P. 1605–1612.
- Bassett D.R., Howley E.T. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance // *Med. Sci. Sports Exerc.* 2000. V. 32. Iss. 1. P. 70–84.
- Baumgart E., Fahimi H.D., Stich A., Völkl A. L-lactate dehydrogenase A4- and A3B isoforms are bona fide peroxisomal enzymes in rat liver. Evidence for involvement in intraperoxisomal NADH reoxidation // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 7. P. 3846–3855.
- Benninga H. Scheele discovers lactic acid // A history of lactic acid making: a chapter in the history of biotechnology. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, 1990. P. 7–9.
- Berger J.M., Singh P., Khirmian L. et al. Mediation of the acute stress response by the skeleton // *Cell. Metab.* 2019. V. 30. Iss. 5. P. 890–902.
- Bergersen L.H. Lactate transport and signaling in the brain: potential therapeutic targets and roles in body–brain interaction // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2015. V. 35. Iss. 2. P. 176–185.
- Bergström J., Hermansen L., Hultman E., Saltin B. Diet, muscle glycogen and physical performance // *Acta Physiol. Scand.* 1967. V. 71. Iss. 2–3. P. 140–150.
- Bers D.M., Despa S. Na/K-ATPase – an integral player in the adrenergic fight-or-flight response // *Tr. Cardiovasc. Med.* 2009. V. 19. Iss. 4. P. 111–118.
- Beta-2 adrenergic agonists / *LiverTox: Clinical and research information on drug-induced liver injury.* Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017. PMID 31643996.
- Betsinger C.N., Cristea I.M. Mitochondrial function, metabolic regulation, and human disease viewed through the prism of Sirtuin 4 (SIRT4) functions // *J. Proteom. Res.* 2019. V. 18. № 5. P. 1929–1938.
- Bibert S., Roy S., Schaer D. et al. Phosphorylation of phospholemmann (FXD1) by protein kinase A and C modulates distinct Na,K-ATPase isozymes // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 1. P. 476–486.
- Bohl C.H., Volpe S.L. Magnesium and exercise // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2002. V. 42. Iss. 6. P. 533–563.
- Bou Chebl R., El Khuri C., Shami A. et al. Serum lactate is an independent predictor of hospital mortality in critically ill patients in the emergency department: a retrospective study // *Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med.* 2017. V. 25. № 1. Art. 69.
- Brand M.D. The efficiency and plasticity of mitochondrial energy transduction // *Biochem. Soc. Trans.* 2005. V. 33. Pt. 5. P. 897–904.
- Brooks G.A. Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research // *Med. Sci. Sports Exerc.* 1985. V. 17. Iss. 1. P. 22–31.
- Brooks G.A. The lactate shuttle during exercise and recovery // *Med. Sci. Sports Exerc.* 1986a. V. 18. Iss. 3. P. 360–368.
- Brooks G.A. Lactate production under fully aerobic conditions: the lactate shuttle during rest and exercise // *Fed. Proc.* 1986b. V. 45. № 13. P. 2924–2929.
- Brooks G.A. Lactate shuttles in nature // *Biochem. Soc. Trans.* 2002. V. 30. Iss. 2. P. 258–264.
- Brooks G.A. Cell–cell and intracellular lactate shuttles // *J. Physiol.* 2009. V. 587. Iss. 23. P. 5591–5600.
- Brooks G.A. The science and translation of lactate shuttle theory // *Cell Metab.* 2018. V. 27. Iss. 4. P. 757–785.
- Brooks G.A. Lactate as a fulcrum of metabolism // *Redox Biol.* 2020. V. 35. Art. 101454.
- Brown S.E., Ross M.F., Sanjuan-Pla A. et al. Targeting lipoic acid to mitochondria: synthesis and characterization of a triphenylphosphonium-conjugated alpha-lipoic derivative // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. V. 42. Iss. 12. P. 1766–1780.

- Caddell J.L.* Magnesium deficiency promotes muscle weakness, contributing to the risk of sudden death (SIDS) in infants sleeping prone // *Magnes. Res.* 2001. V. 14. № 1–2. P. 39–50.
- Cahill G.F.Jr.* Clinical and biochemical aspects of lactic acidosis // *JAMA.* 1977. V. 237. № 10. P. 1010.
- Cai T.Q., Ren N., Jin L. et al.* Role of GPR81 in lactate-mediated reduction of adipose lipolysis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. V. 377. Iss. 3. P. 987–991.
- Camiolo G., Tibulla D., Giallongo C. et al.* α -Lipoic acid reduces iron-induced toxicity and oxidative stress in a model of iron overload // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 3. Art. 609.
- Cerović O., Golubović V., Špec-Marn A. et al.* Relationship between injury severity and lactate levels in severely injured patients // *Intens. Care Med.* 2003. V. 29. Iss. 8. P. 1300–1305.
- Chandel N., Budinger G.R., Kemp R.A., Schumacker P.T.* Inhibition of cytochrome-*c* oxidase activity during prolonged hypoxia // *Am. J. Physiol.* 1995. V. 268. Iss. 1. P. L918–L925.
- Chen H.Y., Cheng F.C., Pan H.C. et al.* Magnesium enhances exercise performance via increasing glucose availability in the blood, muscle, and brain during exercise // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 1. Art. e85486.
- Chernow B., Rainey T.G., Lake C.R.* Endogenous and exogenous catecholamines in critical care medicine // *Crit. Care. Med.* 1982. V. 10. Iss. 6. P. 409–416.
- Cheung J.Y., Zhang X.Q., Song J. et al.* Phospholemman: a novel cardiac stress protein // *Clin. Transl. Sci.* 2010. V. 3. Iss. 4. P. 189–196.
- Cheung J.Y., Zhang X.Q., Song J. et al.* Coordinated regulation of cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger and $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ by phospholemman (FXVD1) // Sodium calcium exchange: a growing spectrum of pathophysiological implication / Ed. L. Annunziato. Luxembourg: Springer, 2013. P. 175–190.
- Choi S.K., Baek S.H., Choi S.W.* The effects of endurance training and thiamine supplementation on antifatigue during exercise // *J. Exerc. Nutr. Biochem.* 2013. V. 17. № 4. P. 189–198.
- Churchill E.N., Murriel C.I., Chen C.H. et al.* Reperfusion-induced translocation of deltaPKC to cardiac mitochondria prevents pyruvate dehydrogenase reactivation // *Circ. Res.* 2005. V. 97. № 1. P. 78–85.
- Clausen S.W.* Anhydremic acidosis due to lactic acid // *Am. J. Dis. Child.* 1925. V. 29. № 6. P. 761–766.
- Cohen R.D., Woods H.F.* Clinical and biochemical aspects of lactic acidosis. L.: Blackwell Sci. Publ., 1976. 276 p.
- Connett R.J., Gayeski T.E., Honig C.R.* Lactate efflux is unrelated to intracellular pO_2 in a working red muscle *in situ* // *J. Appl. Physiol.* 1986. V. 61. Iss. 2. P. 402–408.
- Cordova A., Escanero J.F., Gimenez M.* Magnesium distribution in rat after maximal exercise in air and under hypoxic conditions // *Magnes. Res.* 1992. V. 5. № 1. P. 23–27.
- Cori C.F., Cori G.T.* Glycogen formation in the liver from d- and l-lactic acid // *J. Biol. Chem.* 1929. V. 81. № 2. P. 389–403.
- Cori G.T., Cori C.F.* Changes in hexose phosphate, glycogen, and lactic acid during contraction and recovery of mammalian muscle // *J. Biol. Chem.* 1933. V. 99. № 2. P. 493–505.
- Costa N.A., Dorna M.S., Gut A.L. et al.* Serum thiamin concentration is negatively correlated with lactate levels in survivors of septic shock // *Crit. Care.* 2013. V. 17. Suppl. 3. Abstr. P55.
- Cronan J.E.* Assembly of lipoic acid on its cognate enzymes: an extraordinary and essential biosynthetic pathway // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2016. V. 80. № 2. P. 429–450.
- Cronan J.E., Fearnley I.M., Walker J.E.* Mammalian mitochondria contain a soluble acyl carrier protein // *FEBS Lett.* 2005. V. 579. № 21. P. 4892–4896.
- Davenport A.P., Alexander S.P., Sharman J.L. et al.* International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXVIII. G protein-coupled receptor list: recommendations for new pairing with cognate ligands // *Pharmacol. Rev.* 2013. V. 65. № 3. P. 967–986.
- Davis J.A.* Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research // *Med. Sci. Sports Exerc.* 1985. V. 17. № 1. P. 6–21.
- De Carvalho Cunha V.N., Dos Santos Rosa T., Sales M.M. et al.* Training performed above lactate threshold decreases p53 and shelterin expression in mice // *Int. J. Sport. Med.* 2018. V. 39. Iss. 9. P. 704–711.
- De Castro Abrantes H., Briquet M., Schmuziger C. et al.* The lactate receptor HCAR1 modulates neuronal network activity through the activation of G_α and $\text{G}_{\beta\gamma}$ subunits // *J. Neurosci.* 2019. V. 39. № 23. P. 4422–4433.
- De Duve C., Baudhuin P.* Peroxisomes (microbodies and related particles) // *Physiol. Rev.* 1966. V. 46. Iss. 2. P. 323–357.
- De Paoli F.V., Overgaard K., Pedersen T.H., Nielsen O.B.* Additive protective effects of the addition of lactic acid and adrenaline on excitability and force in isolated rat skeletal muscle depressed by elevated extracellular K^+ // *J. Physiol.* 2007. V. 581. Pt. 2. P. 829–839.
- Delcher H.K., Shipp J.C.* Effect of pH, pCO_2 and bicarbonate on metabolism of glucose by perfused rat heart // *Biochim. Biophys. Acta.* 1966. V. 121. Iss. 2. P. 250–260.
- Despa S., Tucker A.L., Bers D.M.* Phospholemman-mediated activation of Na/K -ATPase limits $[\text{Na}]_i$ and inotropic state during β -adrenergic stimulation in mouse ventricular myocytes // *Circulation.* 2008. V. 117. № 145. P. 1849–1855.
- Donnino M.W., Carney E., Cocchi M.N. et al.* Thiamine deficiency in critically ill patients with sepsis // *J. Crit. Care.* 2010. V. 25. Iss. 4. P. 576–581.
- Donovan C.M., Brooks G.A.* Endurance training affects lactate clearance, not lactate production // *Am. J. Physiol.* 1983. V. 244. № 1. P. E83–E92.
- Du Bois-Reymond E.H.* Über die Angeblich Saure Reaction des Muskelfleisches // *J. Prakt. Chem.* 1859. B. 77. S. 206–244.
- Dungan K.M., Braithwaite S.S., Preiser J.C.* Stress hyperglycaemia // *Lancet.* 2009. V. 373. № 9677. P. 1798–1807.
- Engelhardt W.A., Ljubimowa M.N.* Myosine and adenosine-triphosphatase // *Nature.* 1939. V. 144. Iss. 3650. P. 668–669.

- Estabrook R.W., Hildebrandt A., Remmer H. et al.* The role of cytochrome P-450 in microsomal mixed function oxidation reactions // *Biochimie des Sauerstoffs* / Eds B. Hess, H. Staudinger. Berlin: Springer-Verlag, 1968. S. 142–177.
- Evans P.R., Farrants G.W., Hudson P.J.* Phosphofructokinase: structure and control // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1981. V. 293. Iss. 1063. P. 53–62.
- Ferguson B.S., Rogatzki M.J., Goodwin M.L. et al.* Lactate metabolism: historical context, prior misinterpretations, and current understanding // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2018. V. 118. Iss. 4. P. 691–728.
- Fletcher W.M.* Lactic acid in amphibian muscle // *J. Physiol.* 1907. V. 35. Iss. 4. P. 247–309.
- Fradette C., Du Souich P.* Effect of hypoxia on cytochrome P450 activity and expression // *Curr. Drug Metab.* 2004. V. 5. Iss. 3. P. 257–271.
- Fukuma H., Nakada T., Shimada T. et al.* Prehospital lactate improves prediction of the need immediate interventions for hemorrhage after trauma // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. Art. 13755.
- Galbo H., Holst J.J., Christensen N.J.* Glucagon and plasma catecholamine responses to graded and prolonged exercise in man // *J. Appl. Physiol.* 1975. V. 38. Iss. 1. P. 70–76.
- Gangolf M., Czerniecki J., Radermecker M. et al.* Thiamine status in humans and content of phosphorylated thiamine derivatives in biopsies and cultured cells // *PLoS One.* 2010. V. 5. Iss. 10. Art. e13616.
- Garcia-Alvarez M., Marik P., Bellomo R.* Stress hyperlactaemia: present understanding and controversy // *Lancet Diab. Endocrinol.* 2014. V. 2. Iss. 4. P. 339–347.
- Ge H., Weiszmann J., Reagan J.D. et al.* Elucidation of signaling and functional activities of an orphan GPCR, GPR81 // *J. Lipid Res.* 2008. V. 49. № 4. P. 797–803.
- Gerald M.C.* Effects of (+)-amphetamine on the treadmill endurance performance of rats // *Neuropharmacology.* 1978. V. 17. Iss. 9. P. 703–704.
- Ghaffar T., Irshad M., Anwar Z. et al.* Recent trends in lactic acid biotechnology: a brief review on production to purification // *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 2014. V. 7. № 2. P. 222–229.
- Ghani Q.P., Wagner S., Becker H.D. et al.* Regulatory role of lactate in wound repair // *Meth. Enzymol.* 2004. V. 381. P. 565–575.
- Giacalone M., Martinelli R., Abramo A. et al.* Rapid reversal of severe lactic acidosis after thiamine administration in critically ill adults: a report of 3 cases // *Nutr. Clin. Pract.* 2015. V. 30. Iss. 1. P. 104–110.
- Gladden L.B.* Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium // *J. Physiol.* 2004. V. 558. Iss. 1. P. 5–30.
- Goldhammer A.R., Paradies H.H.* Phosphofructokinase: structure and function // *Curr. Top. Cell Regul.* 1979. V. 15. P. 109–141.
- Gong W., Xu P., Guo S. et al.* Effect of hypoxia on the pharmacokinetics and metabolism of zaleplon as a probe of CYP3A1/2 activity // *RSC Adv.* 2017. V. 7. № 41. P. 25414–25421.
- Goraca A., Huk-Kolega H., Piechota A. et al.* Lipoic acid – biological activity and therapeutic potential // *Pharmacol. Rep.* 2011. V. 63. № 4. P. 849–858.
- Gordeziani M.S., Varazi T.G., Pruidze M.V.* Structural-functional organization of cytochrome P450 containing monooxygenase and some aspects of modeling // *Ann. Agrar. Sci.* 2016. V. 14. № 2. P. 82–94.
- Griffiths A., Shannon O., Matu J. et al.* Response: commentary on the effects of hypoxia on energy substrate use during exercise // *J. Int. Soc. Sport. Nutr.* 2019. V. 16. Art. 61.
- Groussard C., Morel I., Chevanne M. et al.* Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an *in vitro* study // *J. App. Physiol.* 2000. V. 89. Iss. 1. P. 169–175.
- Gudiksen A., Schwartz C.L., Bertholdt L. et al.* Lack of skeletal muscle IL-6 affects pyruvate dehydrogenase activity at rest and during prolonged exercise // *PLoS One.* 2016. V. 11. Iss. 6. P. e0156460.
- Halestrap A.P., Price N.T.* The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation // *Biochem. J.* 1999. V. 343. Pt. 2. P. 281–299.
- Halestrap A.P., Meredith D.* The SLC16 gene family – from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond // *Pflügers Arch.* 2004. V. 447. № 5. P. 619–628.
- Halmagyi D.F., Irving M.H., Gillett D.J., Varga D.* Effect of adrenergic blockade on consequences of sustained epinephrine infusion // *J. Appl. Physiol.* 1967. V. 23. Iss. 2. P. 171–177.
- Halmagyi D.F., Kennedy M., Varga D.* Combined adrenergic receptor blockade and circulating catecholamines in hemorrhagic shock // *Eur. Surg. Res.* 1971. V. 3. № 6. P. 378–388.
- Han F., Bossuyt J., Despa S. et al.* Phospholemman phosphorylation mediates the protein kinase C-dependent effects on Na⁺/K⁺ pump function in cardiac myocytes // *Circ. Res.* 2006. V. 99. № 12. P. 1376–1383.
- Han Y., Zhou S., Coetzee S., Chen A.* SIRT4 and its roles in energy and redox metabolism in health, disease and during exercise // *Front. Physiol.* 2019. V. 10. Art. 1006.
- Hart B.B., Stanford G.G., Ziegler M.G. et al.* Catecholamines: study of interspecies variation // *Crit. Care Med.* 1989. V. 17. № 11. P. 1203–1222.
- Hashimoto T., Brooks G.A.* Mitochondrial lactate oxidation complex and an adaptive role for lactate production // *Med. Sci. Sport. Exerc.* 2008. V. 40. Iss. 3. P. 486–494.
- Hashimoto T., Hussien R., Brooks G.A.* Colocalization of MCT1, CD147, and LDH in mitochondrial inner membrane of L6 muscle cells: evidence of a mitochondrial lactate oxidation complex // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006. V. 290. Iss. 6. P. E1237–E1244.
- Hashimoto T., Hussien R., Oommen S. et al.* Lactate sensitive transcription factor network in L6 cells: activation of MCT1 and mitochondrial biogenesis // *FASEB J.* 2007. V. 21. Iss. 10. P. 2602–2612.
- Hawley J.A., Leckey J.J.* Carbohydrate dependence during prolonged, intense endurance exercise // *Sports Med.* 2015. V. 45 (Suppl. 1). P. S5–S12.
- Hermann R., Mungo J., Cnota P.J., Ziegler D.* Enantiomer-selective pharmacokinetics, oral bioavailability, and sex

- effects of various alpha-lipoic acid dosage forms // *Clin. Pharmacol.* 2014. V. 6. P. 195–204.
- Hermansen L., Hultman E., Saltin B.* Muscle glycogen during prolonged severe exercise // *Acta Physiol. Scand.* 1967. V. 71. № 2–3. P. 129–139.
- Hill A.V.* The revolution in muscle physiology // *Physiol. Rev.* 1932. V. 12. Iss. 1. P. 56–67.
- Hill A.V., Meyerhof O.* Über die Vorgänge bei der Muskelkontraktion // *Ergeb. der Physiol.* 1923. B. 22. S. 299–327.
- Hill A.V., Long C.N.H., Lupton H.* Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilization of oxygen. Parts I–III // *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1924a. V. 96. Iss. 679. P. 438–475.
- Hill A.V., Long C.N.H., Lupton H.* Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilization of oxygen. Parts IV–VI // *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1924b. V. 97. Iss. 681. P. 84–138.
- Hill A.V., Long C.N.H., Lupton H.* Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilization of oxygen. Parts VII–VIII // *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1924c. V. 97. Iss. 682. P. 155–176.
- Hinkle P.C., Kumar M.A., Resetar A., Harris D.L.* Mechanistic stoichiometry of mitochondrial oxidative phosphorylation // *Biochemistry.* 1991. V. 30. Iss. 14. P. 3576–3582.
- Ho L., Titus A.S., Banerjee K.K. et al.* SIRT4 regulates ATP homeostasis and mediates a retrograde signaling via AMPK // *Aging.* 2013. V. 5. № 11. P. 835–849.
- Holwerda S.W., Restaino R.M., Fadel P.J.* Adrenergic and non-adrenergic control of active skeletal muscle blood flow: implications for blood pressure regulation during exercise // *Auton. Neurosci.* 2015. V. 188. P. 24–31.
- Homsher E.* Muscle enthalpy production and its relationship to actomyosin ATPase // *Ann. Rev. Physiol.* 1987. V. 49. P. 673–690.
- Hoque R., Farooq A., Ghani A. et al.* Lactate reduces liver and pancreatic injury in Toll-like receptor- and inflammasome-mediated inflammation via GPR81-mediated suppression of innate immunity // *Gastroenterology.* 2014. V. 146. Iss. 7. P. 1763–1774.
- Horton T.J., Pagliassotti M.J., Hobbs K., Hill J.O.* Fuel metabolism in men and women during and after long-duration exercise // *J. Appl. Physiol.* 1985. V. 85. Iss. 5. P. 1823–1832.
- Houssay B.A.* Carl F. and Gerty T. Cori // *Biochim. Biophys. Acta.* 1956. V. 20. P. 11–16.
[https://doi.org/10.1016/0006-3002\(56\)90255-4](https://doi.org/10.1016/0006-3002(56)90255-4)
- Hsu E., Bajaj T.* Beta 2 agonists // *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing,* 2021. PMID 31194406.
- Huang C.L., Kuo E.* Mechanism of hypokalemia in magnesium deficiency // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. V. 18. Iss. 10. P. 2649–2652.
- Hunt T.K., Aslam R.S., Beckert S. et al.* Aerobically derived lactate stimulates revascularization and tissue repair via redox mechanisms // *Antioxid. Redox Signal.* 2007. V. 9. Iss. 8. P. 1115–1124.
- Huxley A.F.* Muscle structure and theories of contraction // *Prog. Biophys. Biophys. Chem.* 1957. V. 7. P. 255–318.
- Huxley H.E.* The mechanism of muscular contraction // *Science.* 1969. V. 164. Iss. 3886. P. 1356–1365.
- Huxley A.F., Simmons R.M.* Proposed mechanism of force generation in striated muscle // *Nature.* 1971. V. 233. № 5321. P. 533–538.
- Islinger M., Voelkl A., Fahimi H.D., Schrader M.* The peroxisome: an update on mysteries 2.0 // *Histochem. Cell. Biol.* 2018. V. 150. Iss. 5. P. 443–471.
- James J.H., Fang C.H., Schrantz S.J. et al.* Linkage of aerobic glycolysis to sodium-potassium transport in rat skeletal muscle. Implications for increased muscle lactate production in sepsis // *J. Clin. Invest.* 1996. V. 98. Iss. 10. P. 2388–2397.
- James J.H., Luchette F.A., McCarter F.D., Fischer J.E.* Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis // *Lancet.* 1999a. V. 354. Iss. 9177. P. 505–508.
- James J.H., Wagner K.R., King J.K. et al.* Stimulation of both aerobic glycolysis and Na⁺-K⁺-ATPase activity in skeletal muscle by epinephrine or amylin // *Am. J. Physiol.* 1999b. V. 277. Iss. 1. P. E176–E186.
- Jenkins C.M., Yang J., Sims H.F., Gross R.W.* Reversible high affinity inhibition of phosphofructokinase-1 by acyl-CoA: a mechanism integrating glycolytic flux with lipid metabolism // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. № 14. P. 11937–11950.
- Jiang B.* Aerobic glycolysis and high level of lactate in cancer metabolism and microenvironment // *Gen. Dis.* 2017. V. 4. Iss. 1. P. 25–27.
- Jiang Y., Cronan J.E.* Expression cloning and demonstration of *Enterococcus faecalis* lipoamidase (pyruvate dehydrogenase inactivase) as a Ser-Ser-Lys triad amidohydrolase // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 3. P. 2244–2256.
- Joborn H., Akerström G., Ljunghall S.* Effects of exogenous catecholamines and exercise on plasma magnesium concentrations // *Clin. Endocrinol.* 1985. V. 23. Iss. 3. P. 219–226.
- Jones W., Li X., Qu Z.C. et al.* Uptake, recycling, and antioxidant actions of alpha-lipoic acid in endothelial cells // *Free Radic. Biol. Med.* 2002. V. 33. Iss. 1. P. 83–93.
- Jordan S.W., Cronan J.E.* A new metabolic link. The acyl carrier protein of lipid synthesis donates lipoic acid to the pyruvate dehydrogenase complex in *Escherichia coli* and mitochondria // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. № 29. P. 17903–17906.
- Jourdain P., Rothenfusser K., Ben-Adiba C. et al.* Dual action of L-lactate on the activity of NR2B-containing NMDA receptors: from potentiation to neuroprotection // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. Art. 13472.
- Kaminskas E.* The pH-dependence of sugar-transport and glycolysis in cultured Ehrlich ascites-tumour cells // *Biochem. J.* 1978. V. 174. Iss. 2. P. 453–459.
- Kass L.S., Poeira F.* The effect of acute vs chronic magnesium supplementation on exercise and recovery on resistance exercise, blood pressure and total peripheral resistance on normotensive adults // *J. Int. Soc. Sport. Nutr.* 2015. V. 12. Art. 19.
- Kaukonen K.M., Bailey M., Egi M. et al.* Stress hyperlactatemia modifies the relationship between stress hyperglycemia and outcome: a retrospective observational study // *Crit. Care Med.* 2014. V. 42. Iss. 6. P. 1379–1385.

- Kemper W.F., Lindstedt S.L., Hartzler L.K. et al.* Shaking up glycolysis: sustained, high lactate flux during aerobic rattling // PNAS USA. 2001. V. 98. № 2. P. 723–728.
- Kim H.J., Son Y.K., An W.S.* Effect of sodium bicarbonate administration on mortality in patients with lactic acidosis: a retrospective analysis // PLoS One. 2013. V. 8. Iss. 6. P. e65283.
- Kompanje E.J.O., Jansen T.C., van der Hoven B., Bakker J.* The first demonstration of lactic acid in human blood in shock by Johann Joseph Scherer (1814–1869) in January 1843 // Intens. Care Med. 2007. V. 33. Iss. 11. P. 1967–1971.
- Korotchkina L., Sidhu S., Patel M.S.* R-lipoic acid inhibits mammalian pyruvate dehydrogenase kinase // Free Radic. Res. 2004. V. 38. Iss. 10. P. 1083–1092.
- Kozlov A.V., Gille L., Staniek K., Nohl H.* Dihydrolipoic acid maintains ubiquinone in the antioxidant active form by two-electron reduction of ubiquinone and one-electron reduction of ubisemiquinone // Arch. Biochem. Biophys. 1999. V. 363. Iss. 1. P. 148–154.
- Krab K., Kempe H., Wikström M.* Explaining the enigmatic K_M for oxygen in cytochrome *c* oxidase: a kinetic model // Biochim. Biophys. Acta. 2011. V. 1807. Iss. 3. P. 348–358.
- Kramer K., Packer L.* R-alpha lipoic acid // Nutraceuticals in health and disease prevention / Eds K. Kramer, P.P. Hoppe, L. Packer. N.Y.: Marcel Dekker Inc., 2001. P. 129–164.
- Latham T., Mackay L., Sproul D. et al.* Lactate, a product of glycolytic metabolism, inhibits histone deacetylase activity and promotes changes in gene expression // Nucl. Acids Res. 2012. V. 40. № 11. P. 4794–4803.
- Laurent G., German N.J., Saha A.K. et al.* SIRT4 coordinates the balance between lipid synthesis and catabolism by repressing malonyl CoA decarboxylase // Mol. Cell. 2013. V. 50. Iss. 5. P. 686–698.
- Lauritzen K.H., Morland C., Puchades M. et al.* Lactate receptor sites link neurotransmission, neurovascular coupling, and brain energy metabolism // Cereb. Cortex. 2014. V. 24. № 10. P. 2784–2795.
- Leavesley H.B., Li L., Prabhakaran K. et al.* Interaction of cyanide and nitric oxide with cytochrome *c* oxidase: implications for acute cyanide toxicity // Toxicol. Sci. 2008. V. 101. Iss. 1. P. 101–111.
- Legakis J.E., Koepke J.I., Jedeszko C. et al.* Peroxisome senescence in human fibroblasts // Mol. Biol. Cell. 2002. V. 13. № 12. P. 4243–4255.
- Lemire J., Mailloux R.J., Appanna V.D.* Mitochondrial lactate dehydrogenase is involved in oxidative-energy metabolism in human astrocytoma cells (CCF-STTG1) // PLoS One. 2008. V. 3. Iss. 2. P. e1550.
- Lerner R.K., Pessach I., Rubinstein M., Paret G.* Lactic acidosis as presenting symptom of thiamine deficiency in children with hematologic malignancy // J. Pediatr. Intens. Care. 2017. V. 6. № 2. P. 132–135.
- Leverve X., Batandier C., Fontaine E.* Choosing the right substrate // Novartis Found Symp. 2007. V. 280. P. 108–121.
- Levrault J., Ciebiera J.P., Chave S. et al.* Mild hyperlactatemia in stable septic patients is due to impaired lactate clearance rather than overproduction // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1998. V. 157. Iss. 4. P. 1021–1026.
- Levy B., Gibot S., Franck P. et al.* Relation between muscle Na^+K^+ ATPase activity and raised lactate concentration in septic shock: a prospective study // Lancet. 2005. V. 365. Iss. 9462. P. 871–875.
- Levy B., Mansart A., Montemont C. et al.* Myocardial lactate deprivation is associated with decreased cardiovascular performance, decreased myocardial energetics, and early death in endotoxic shock // Intens. Care Med. 2007. V. 33. Iss. 3. P. 495–502.
- Levy B., Desebbles O., Montemont C., Gibot S.* Increased aerobic glycolysis through beta2 stimulation is a common mechanism involved in lactate formation during shock states // Shock. 2008. V. 30. Iss. 4. P. 417–421.
- Li G., Gao L., Jia J. et al.* α -Lipoic acid prolongs survival and attenuates acute kidney injury in a rat model of sepsis // Exp. Pharmacol. Physiol. 2014. V. 41. Iss. 7. P. 459–468.
- Li J., Wynn R.M., Machius M. et al.* Cross-talk between thiamin diphosphate binding and phosphorylation loop conformation in human branched-chain alpha-keto acid decarboxylase/dehydrogenase // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. № 31. P. 32968–32978.
- Liberti M.V., Locasale J.W.* Histone lactylation: a new role for glucose metabolism // Tr. Biochem. Sci. 2020. V. 45. Iss. 3. P. 179–182.
- Liddell M.J., Daniel A.M., MacLean L.D., Shizgal H.M.* The role of stress hormones in the catabolic metabolism of shock // Surg. Gynecol. Obstet. 1979. V. 149. № 6. P. 822–830.
- Liu J.* The effects and mechanisms of mitochondrial nutrient alpha-lipoic acid on improving age-associated mitochondrial and cognitive dysfunction: an overview // Neurochem. Res. 2008. V. 33. Iss. 1. P. 194–203.
- Liu C., Wu J., Zhu J. et al.* Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81 // J. Biol. Chem. 2009. V. 284. № 5. P. 2811–2822.
- Liu M., Quek L.E., Sultani G., Turner N.* Epithelial-mesenchymal transition induction is associated with augmented glucose uptake and lactate production in pancreatic ductal adenocarcinoma // Canc. Metab. 2016. V. 4. Art. 19.
- Lodge J.K., Packer L.* Natural sources of lipoic acid in plant and animal tissues // Antioxidant food supplements in human health / Eds L. Packer, M. Hiramatsu, T. Yoshikawa. San Diego: Academic Press, 1999. P. 121–134.
- MacRae H.S., Dennis S.C., Bosch A.N., Noakes T.D.* Effects of training on lactate production and removal during progressive exercise in humans // J. Appl. Physiol. 1992. V. 72. Iss. 5. P. 1649–1656.
- Madias N.E.* Lactic acidosis // Kidney Int. 1986. V. 29. Iss. 3. P. 752–774.
- Manore M.M.* Effect of physical activity on thiamine, riboflavin, and vitamin B-6 requirements // Am. J. Clin. Nutr. 2000. V. 72. Iss. 2. P. 598S–606S.
- Manzanares W., Hardy G.* Thiamine supplementation in the critically ill // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 2011. V. 14. Iss. 6. P. 610–617.
- Margaria R., Edwards H.T., Dill D.B.* The possible mechanism of contracting and paying the oxygen debt and the role of lactic acid in muscular contraction // Am. J. Physiol. 1933. V. 106. № 3. P. 689–715.

- Margineanu M.B., Mahmood H., Fiumelli H., Magistretti P.J.* L-lactate regulates the expression of synaptic plasticity and neuroprotection genes in cortical neurons: a transcriptome analysis // *Front. Mol. Neurosci.* 2018. V. 11. Art. 375.
- Marik P.E., Bellomo R.* Lactate clearance as a target of therapy in sepsis: a flawed paradigm // *Crit. Care.* 2013a. V. 1. № 1. Art. 3.
- Marik P.E., Bellomo R.* Stress hyperglycemia: an essential survival response! // *Crit. Care.* 2013b. V. 17. № 2. Art. 305.
- Marliss E.B., Vranic M.* Intense exercise has unique effects on both insulin release and its roles in glucoregulation: implications for diabetes // *Diabetes.* 2002. V. 51. Suppl. 1. P. S271–S283.
- Martin E., Rosenthal R.E., Fiskum G.* Pyruvate dehydrogenase complex: metabolic link to ischemic brain injury and target of oxidative stress // *J. Neurosci. Res.* 2005. V. 79. Iss. 1–2. P. 240–247.
- Masuda H., Masuda T., Hatta H.* Effect of thiamin (vitamin B₁) on carbohydrate metabolism at rest and during exercise // *J. Phys. Fitness Sports.* 2015. V. 4. Iss. 4. P. 337–341.
- Mathias R.A., Greco T.M., Oberstein A. et al.* Sirtuin 4 is a lipamidase regulating pyruvate dehydrogenase complex activity // *Cell.* 2014. V. 159. Iss. 7. P. 1615–1625.
- Mathias R.A., Greco T.M., Cristea I.M.* Identification of Sirtuin4 (SIRT4) protein interactions: uncovering candidate acyl-modified mitochondrial substrates and enzymatic regulators // *Meth. Mol. Biol.* 2016. V. 1436. P. 213–239.
- Matsuo T., Daishaku S., Sadzuka Y.* Lactic acid promotes cell survival by blocking autophagy of B16F10 mouse melanoma cells under glucose deprivation and hypoxic conditions // *Biol. Pharm. Bull.* 2019. V. 42. Iss. 5. P. 837–839.
- Mazzeo R.S., Brooks G.A., Schoeller D.A., Budinger T.F.* Disposal of [1–13C]lactate in humans during rest and exercise // *J. Appl. Physiol.* 1986. V. 60. Iss. 1. P. 232–241.
- McCarter F.D., James J.H., Luchette F.A. et al.* Adrenergic blockade reduces skeletal muscle glycolysis and Na(+), K(+)-ATPase activity during hemorrhage // *J. Surg. Res.* 2001. V. 99. Iss. 2. P. 235–244.
- McCarter F.D., Nierman S.R., James J.H. et al.* Role of skeletal muscle Na⁺-K⁺ ATPase activity in increased lactate production in subacute sepsis // *Life Sci.* 2002. V. 70. Iss. 16. P. 1875–1888.
- McClelland G.B., Khanna S., Gonzalez G.F. et al.* Peroxisomal membrane monocarboxylate transporters: evidence for a redox shuttle system? // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 304. Iss. 1. P. 130–135.
- McCowen K.C., Malhotra A., Bistrain B.R.* Stress-induced hyperglycemia // *Crit. Care Clin.* 2001. V. 17. Iss. 1. P. 107–124.
- McCullagh K.J., Juel C., O'Brien M., Bonen A.* Chronic muscle stimulation increases lactate transport in rat skeletal muscle // *Mol. Cell. Biochem.* 1996. V. 156. Iss. 1. P. 51–57.
- McGarry J.D., Mannaerts G.P., Foster D.W.* A possible role for malonyl-CoA in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis // *J. Clin. Invest.* 1977. V. 60. № 1. P. 265–270.
- McGregor I.S., Lee A.M., Westbrook R.F.* Stress-induced changes in respiratory quotient, energy expenditure and locomotor activity in rats: effects of midazolam // *Psychopharmacology.* 1994. V. 116. Iss. 4. P. 475–482.
- McKenna M.J., Bangbo J., Renaud J.M.* Muscle K⁺, Na⁺, and Cl⁻ disturbances and Na⁺-K⁺ pump inactivation: implications for fatigue // *J. Appl. Physiol.* 2008. V. 104. Iss. 1. P. 288–295.
- McLain A.L., Szweda P.A., Szweda L.I.* α-Ketoglutarate dehydrogenase: a mitochondrial redox sensor // *Free Radic. Res.* 2011. V. 45. Iss. 1. P. 29–36.
- Mera P., Laue K., Ferron M. et al.* Osteocalcin signaling in myofibers is necessary and sufficient for optimum adaptation to exercise // *Cell. Metab.* 2016. V. 23. № 6. P. 1078–1092.
- Metzger J.M., Moss R.L.* Effects of tension and stiffness due to reduced pH in mammalian fast- and slow-twitch skinned skeletal muscle fibres // *J. Physiol.* 1990. V. 428. Iss. 1. P. 737–750.
- Meyerhof O.* Die Energieumwandlungen im Muskel. I. Über die Beziehungen der Milchsäure zur Wärmebildung und Arbeitsleistung des Muskels in der Anaerobiose // *Pflügers Arch. Physiol. Mensch. Tiere.* 1920a. B. 182. S. 232–283.
- Meyerhof O.* Über die Energieumwandlungen im Muskel. II. Das Schicksal der Milchsäure in der Erholungsperiode des Muskels // *Pflügers Arch. Physiol. Mensch. Tiere.* 1920b. B. 182. S. 284–317.
- Meyerhof O.* Die Energieumwandlungen im Muskel. III. Kohlehydrat- und Milchsäureumsatz im Froschmuskel // *Pflügers Arch. Physiol. Mensch. Tiere.* 1920c. B. 185. S. 11–32.
- Meyerhof O.* Die Energieumwandlungen im Muskel. IV. Mitteilung. Über die Milchsäurebildung in der Zerschneidung Muskulatur // *Pflügers Arch. Physiol. Mensch. Tiere.* 1921. B. 188. S. 114–160.
- Meyerhof O.* The chemistry of muscular contraction // *Lancet.* 1930. V. 216. № 5600. P. 1415–1422.
- Meyerhof O.* Intermediate carbohydrate metabolism // A symposium on respiratory enzymes. Madison: Univ. Wisconsin Press, 1942. P. 3–15.
- Milne J.L., Shi D., Rosenthal P.B. et al.* Molecular architecture and mechanism of an icosahedral pyruvate dehydrogenase complex: a multifunctional catalytic machine // *EMBO J.* 2002. V. 21. № 21. P. 5587–5598.
- Miranda-Gonçalves V., Lameirinhas A., Macedo-Silva C. et al.* Lactate increases renal cell carcinoma aggressiveness through Sirtuin 1-dependent epithelial-mesenchymal transition axis regulation // *Cells.* 2020. V. 9. Iss. 4. Art. 1053.
- Mitchell J.H., Blomqvist G.* Maximal oxygen uptake // *N. Engl. J. Med.* 1971. V. 284. № 18. P. 1018–1022.
- Mookerjee S.A., Gerencser A.A., Nicholls D.G., Brand M.D.* Quantifying intracellular rates of glycolytic and oxidative ATP production and consumption using extracellular flux measurements // *J. Biol. Chem.* 2017. V. 292. № 17. P. 7189–7207.
- Morikawa T., Yasuno R., Wada H.* Do mammalian cells synthesize lipoic acid? Identification of a mouse cDNA encoding a lipoic acid synthase located in mitochondria // *FEBS Lett.* 2001. V. 498. Iss. 1. P. 16–21.

- Morland C., Lauritzen K.H., Puchades M. et al.* The lactate receptor, G-protein-coupled receptor 81/hydroxycarboxylic acid receptor 1: expression and action in brain // *J. Neurosci. Res.* 2015. V. 93. Iss. 7. P. 1045–1055.
- Morozova E., Yoo Y., Behrouzvaziri A. et al.* Amphetamine enhances endurance by increasing heat dissipation // *Physiol. Rep.* 2016. V. 4. Iss. 17. P. e12955.
- Murphy M.P.* How mitochondria produce reactive oxygen species // *Biochem. J.* 2009. V. 417. Iss. 1. P. 1–13.
- Nelson C.R., Debold E.P., Fitts R.H.* Phosphate and acidosis act synergistically to depress peak power in rat muscle fibers // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2014. V. 307. Iss. 10. P. 939–950.
- Nesse R.M., Bhatnagar S., Ellis B.* Evolutionary origins and functions of the stress response system // *Stress: concepts, cognition, emotion, and behavior.* Ch. 11 / Ed. G. Fink. L.: Academic Press, 2016. P. 95–101.
- Nichol A.D., Egi M., Pettita V. et al.* Relative hyperlactatemia and hospital mortality in critically ill patients: a retrospective multi-centre study // *Crit. Care.* 2010. V. 14. № 1. Art. R25.
- Nicolson G.L.* Mitochondrial dysfunction and chronic diseases: treatment with natural supplements // *Integr. Med. (Encinitas).* 2014. V. 14. № 4. P. 35–43.
- Nielsen F.H., Lukaski H.C.* Update on the relationship between magnesium and exercise // *Magnes. Res.* 2006. V. 19. № 3. P. 180–189.
- Nielsen O.B., de Paoli F., Overgaard K.* Protective effects of lactic acid on force production in rat skeletal muscle // *J. Physiol.* 2001. V. 536. Iss. 1. P. 161–166.
- Nijakowski F.* Assays of some vitamins of the B complex group in human blood in relation to muscular effort // *Acta Physiol. Pol.* 1966. V. 17. P. 397–404.
- Nirupama R., Devaki M., Yajurvedi H.N.* Chronic stress and carbohydrate metabolism: persistent changes and slow return to normalcy in male albino rats // *Stress.* 2012. V. 15. Iss. 3. P. 262–271.
- Nuzzo E., Berg K.M., Andersen L.W. et al.* Pyruvate dehydrogenase activity is decreased in the peripheral blood mononuclear cells of patients with sepsis. A prospective observational trial // *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015. V. 12. Iss. 11. P. 1662–1666.
- Ohno Y., Ando K., Ito T. et al.* Lactate stimulates a potential for hypertrophy and regeneration of mouse skeletal muscle // *Nutrients.* 2019. V. 11. Iss. 4. Art. 869.
- Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J.* Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant // *Free Radic. Biol. Med.* 1995. V. 19. Iss. 2. P. 227–250.
- Padmalayam I.* Targeting mitochondrial oxidative stress through lipoic acid synthase: a novel strategy to manage diabetic cardiovascular disease // *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.* 2012. V. 10. Iss. 3. P. 223–233.
- Padmalayam I., Hasham S., Saxena U., Pillarisetti S.* Lipoic acid synthase (LASY): a novel role in inflammation, mitochondrial function, and insulin resistance // *Diabetes.* 2009. V. 58. Iss. 3. P. 600–608.
- Padmalayam I., Hamm R., Reddy D.S. et al.* Identification of a pharmacological inducer of lipoic acid synthase that impacts mitochondrial function: metabolic benefits and body weight loss without changes in caloric intake // *J. Diab. Metab.* 2012. Art. S11:002.
- Parsikia A., Bones K., Kaplan M. et al.* The predictive value of initial serum lactate in trauma patients // *Shock.* 2014. V. 42. № 3. P. 199–204.
- Pate E., Bhimani M., Franks-Skiba K., Cooke R.* Reduced effect of pH on skinned rabbit psoas muscle mechanics at high temperatures: implications for fatigue // *J. Physiol.* 1995. V. 486. Iss. 3. P. 689–694.
- Patel M.S., Nemeria N.S., Furey W., Jordan F.* The pyruvate dehydrogenase complexes: structure-based function and regulation // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. № 24. P. 16615–16623.
- Patkova A., Joskova V., Havel E. et al.* Prognostic value of respiratory quotient in severe polytrauma patients with nutritional support // *Nutrition.* 2018. V. 49. P. 90–95.
- Pedersen T.H., Clausen T., Nielsen O.B.* Loss of force induced by high extracellular $[K^+]$ in rat muscle: effect of temperature, lactic acid and β_2 -agonist // *J. Physiol.* 2003. V. 551. Iss. 1. P. 227–286.
- Pekovich S.R., Martin P.R., Singleton C.K.* Thiamine deficiency decreases steady-state transketolase and pyruvate dehydrogenase but not α -ketoglutarate dehydrogenase mRNA levels in three human cell types // *J. Nutr.* 1998. V. 128. Iss. 4. P. 683–687.
- Petronilho F., Florentino D., Danielski L.G. et al.* Alpha-lipoic acid attenuates oxidative damage in organs after sepsis // *Inflammation.* 2016. V. 39. Iss. 1. P. 357–365.
- Philp A., Macdonald A.L., Watt P.W.* Lactate – a signal coordinating cell and systemic function // *J. Exp. Biol.* 2005. V. 208. Iss. 24. P. 4561–4575.
- Pi M., Xu F., Ye R. et al.* Role of GPRC6A in regulating hepatic energy metabolism in mice // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. Art. 7216.
- Pilchova I., Klacanova K., Tatarkova Z. et al.* The involvement of Mg^{2+} in regulation of cellular and mitochondrial functions // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017. V. 2017. Art. ID 6797460.
- Porporato P.E., Payen V.L., De Saedeleer C.J. et al.* Lactate stimulates angiogenesis and accelerates the healing of superficial and ischemic wounds in mice // *Angiogenesis.* 2012. V. 15. Iss. 4. P. 581–592.
- Prentice R.L., Neuhaus M.L., Tinker L.F. et al.* An exploratory study of respiratory quotient calibration and association with postmenopausal breast cancer // *Canc. Epidemiol. Biomark. Prev.* 2013. V. 22. Iss. 12. P. 2374–2383.
- Qvisth V., Hagström-Toft E., Enoksson S., Bolinder J.* Catecholamine regulation of local lactate production *in vivo* in skeletal muscle and adipose tissue: role of β -adrenoceptor subtypes // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008. V. 93. Iss. 1. P. 240–246.
- Ratter J.M., Rooijackers H.M.M., Hooiveld G.J. et al.* *In vitro* and *in vivo* effects of lactate on metabolism and cytokine production of human primary PBMCs and monocytes // *Front. Immunol.* 2018. V. 9. Art. 2564.
- Reddy J.K., Mannaerts G.P.* Peroxisomal lipid metabolism // *Ann. Rev. Nutr.* 1994. V. 14. P. 343–370.
- Reed L.J.* The chemistry and function of lipoic acid // *Adv. Enzymol. Relat. Subj. Biochem.* 1957. V. 18. P. 319–347.
- Reed L.J.* From lipoic acid to multi-enzyme complex // *Protein Sci.* 1998. V. 7. Iss. 1. P. 220–224.

- Reed L.J., DeBusk B.G., Gunsalus I.C., Hornberger C.S.Jr. Crystalline alpha-lipoic acid; a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase // *Science*. 1951. V. 114. Iss. 2952. P. 93–94.
- Regueira T., Djafarzadeh S., Brandt S. et al. Oxygen transport and mitochondrial function in porcine septic shock, cardiogenic shock, and hypoxaemia // *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2012. V. 56. Iss. 7. P. 846–859.
- Rhodes A., Evans L.E., Alhazzani W. et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 // *Intens. Care Med.* 2017. V. 43. Iss. 3. P. 304–377.
- Ripcke J., Zarse K., Ristow M., Birringer M. Small-molecule targeting of the mitochondrial compartment with an endogenously cleaved reversible tag // *ChemBioChem*. 2009. V. 10. Iss. 10. P. 1689–1696.
- Roberts R.A. Exercise-induced metabolic acidosis: where do the protons come from? // *Sportscience*. 2001. V. 5. № 2. P. 1–20.
- Roberts R.A., Ghiasvand F., Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004. V. 287. Iss. 3. P. R502–R516.
- Rooney K., Trayhurn P. Lactate and the GPR81 receptor in metabolic regulation: implications for adipose tissue function and fatty acid utilization by muscle during exercise // *Br. J. Nutr.* 2011. V. 106. Iss. 9. P. 1310–1316.
- Saddik M., Gamble J., Witters L.A., Lopaschuk G.D. Acetyl-CoA carboxylase regulation of fatty acid oxidation in the heart // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. № 34. P. 25836–25845.
- San-Millán I., Julian C.G., Matarazzo C. et al. Is lactate an oncometabolite? Evidence supporting a role for lactate in the regulation of transcriptional activity of cancer-related genes in MCF7 breast cancer cells // *Front. Oncol.* 2019. V. 9. Art. 1536.
- Santos N., Pereira-Nunes A., Baltazar F., Granja S. Lactate as regulator of cancer inflammation and immunity // *Immunometabolism*. 2019. V. 1. P. e190015.
- Sarti P., Arese M., Bacchi A. et al. Nitric oxide and mitochondrial complex IV // *IUBMB Life*. 2003. V. 55. Iss. 10–11. P. 605–611.
- Sarti P., Forte E., Giuffrè A. et al. The chemical interplay between nitric oxide and mitochondrial cytochrome *c* oxidase: reactions, effectors and pathophysiology // *Int. J. Cell. Biol.* 2012. V. 2012. Art. ID 571067.
- Sepp M., Sokolova N., Jugai S. et al. Tight coupling of Na⁺/K⁺-ATPase with glycolysis demonstrated in permeabilized rat cardiomyocytes // *PLoS One*. 2014. V. 9. Iss. 6. P. e99413.
- Sheeran F.L., Angerosa J., Liaw N.Y. et al. Adaptations in protein expression and regulated activity of pyruvate dehydrogenase multienzyme complex in human systolic heart failure // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2019. V. 2019. Art. 4532592.
- Shepherd P.R., Kahn B.B. Glucose transporters and insulin action – implications for insulin resistance and diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* 1999. V. 341. № 4. P. 248–257.
- Simoni R.D., Hill R.L., Vaughan M. Carbohydrate metabolism: glycogen phosphorylase and the work of Carl F. and Gerty T. Cori. 1928–1943 // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. № 29. Art. 18e.
- Smith A.R., Shenvi S.V., Widlansky M. et al. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* 2004. V. 11. Iss. 9. P. 1135–1146.
- Snell E.E., Strong F.M., Peterson W.H. Growth factor for bacteria: fractionation and properties of an accessory factor for lactic acid bacteria // *Biochem. J.* 1937. V. XXXI. Iss. 10. P. 1789–1799.
- Soeters M.R., Soeters P.B. The evolutionary benefit of insulin resistance // *Clin. Nutr.* 2012. V. 31. Iss. 6. P. 1002–1007.
- Soria M., Gonzalez-Haro C., Anson M.A. et al. Variations in serum magnesium and hormonal levels during incremental exercise // *Magnes. Res.* 2014. V. 27. № 4. P. 155–164.
- Stackhouse S.K., Reisman D.S., Binder-Macleod S.A. Challenging the role of pH in skeletal muscle fatigue // *Phys. Ther.* 2001. V. 81. № 12. P. 1897–1903.
- Suh J.H., Moreau R., Heath S.H., Hagen T.M. Dietary supplementation with (R)- α -lipoic acid reverses the age-related accumulation of iron and depletion of antioxidants in the rat cerebral cortex // *Redox Rep.* 2005. V. 10. № 1. P. 52–60.
- Sundberg C.W., Fitts R.H. Bioenergetic basis of skeletal muscle fatigue // *Curr. Opin. Physiol.* 2019. V. 10. P. 118–127.
- Suzuki M., Itokawa Y. Effects of thiamine supplementation on exercise-induced fatigue // *Metab. Brain Dis.* 1996. V. 11. Iss. 1. P. 95–106.
- Szent-Györgyi A. Free-energy relations and contraction of actomyosin // *Biol. Bull.* 1949. V. 96. № 2. P. 140–161.
- Szent-Györgyi A. Lost in the twentieth century // *Ann. Rev. Biochem.* 1963. V. 32. P. 1–15.
- Takahashi H., Alves C.R.R., Stanford K.I. et al. TGF- β 2 is an exercise-induced adipokine that regulates glucose and fatty acid metabolism // *Nat. Metab.* 2019. V. 1. № 2. P. 291–303.
- Tangseefa P., Martin S.K., Fitter S. et al. Osteocalcin-dependent regulation of glucose metabolism and fertility: skeletal implications for the development of insulin resistance // *J. Cell. Physiol.* 2018. V. 233. Iss. 5. P. 3769–3783.
- Tao Y., Huang C., Huang Y. et al. SIRT4 suppresses inflammatory responses in human umbilical vein endothelial cells // *Cardiovasc. Toxicol.* 2015. V. 15. Iss. 3. P. 217–223.
- Tao Y., Yu S., Chao M. et al. SIRT4 suppresses the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway and attenuates HUVEC injury induced by oxLDL // *Mol. Med. Rep.* 2019. V. 19. № 6. P. 4973–4979.
- Tauffmanberger A., Fiumelli H., Almoustafa S., Magistretti P.J. Lactate and pyruvate promote oxidative stress resistance through hermetic ROS signaling // *Cell Death Dis.* 2019. V. 10. № 9. Art. 653.
- Teichert J., Hermann R., Ruus P., Preiss R. Plasma kinetics, metabolism, and urinary excretion of alpha-lipoic acid following oral administration in healthy volunteers // *J. Clin. Pharmacol.* 2003. V. 43. Iss. 11. P. 1257–1267.

- Thomas G.D., Segal S.S. Neural control of muscle blood flow during exercise // *J. Appl. Physiol.* 2004. V. 97. Iss. 2. P. 731–738.
- Tretter L., Adam-Vizi V. Alpha-ketoglutarate dehydrogenase: a target and generator of oxidative stress // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2005. V. 360. Iss. 1464. P. 2335–2345.
- Tsukamoto S., Shibasaki A., Naka A. et al. Lactate promotes myotube hypertrophy via a pathway involving MyoD *in vitro* and enhances muscle regeneration *in vivo* // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. Iss. 11. Art. 3649.
- Uchida R., Okamoto H., Ikuta N. et al. Enantioselective pharmacokinetics of α -lipoic acid in rats // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. V. 16. Iss. 9. P. 22781–22794.
- Ui M. A role of phosphofructokinase in pH-dependent regulation of glycolysis // *Biochim. Biophys. Acta.* 1966. V. 124. Iss. 2. P. 310–322.
- Ullrich V., Cohen B., Cooper D.Y., Estabrook R.W. Reactions of hemoprotein P-450 // *Structure and function of cytochromes* / Eds K. Okunuki, M.D. Kamen, I. Sekuzu. Tokyo: Univ. Tokyo Press, 1968. P. 649–655.
- Valenti D., de Bari L., Atlante A., Passarella S. L-lactate transport into rat heart mitochondria and reconstruction of the L-lactate/pyruvate shuttle // *Biochem. J.* 2002. V. 364. Iss. 1. P. 101–104.
- Vanasco V., Cimolai M.C., Evelson P., Alvarez S. The oxidative stress and the mitochondrial dysfunction caused by endotoxemia are prevented by α -lipoic acid // *Free Radic. Res.* 2008. V. 42. Iss. 9. P. 815–823.
- Vary T.C., Siegel J.H., Nakatani T. et al. Effect of sepsis on activity of pyruvate dehydrogenase complex in skeletal muscle and liver // *Am. J. Physiol.* 1986. V. 250. Iss. 6. Pt. 1. P. E634–E640.
- Vary T.C., Hazen S.A., Maish G., Cooney R.N. TNF binding protein prevents hyperlactatemia and inactivation of PGH complex in skeletal muscle during sepsis // *J. Surg. Res.* 1998. V. 80. Iss. 1. P. 44–51.
- Veronese N., Berton L., Carraro S. et al. Effect of oral magnesium supplementation on physical performance in healthy elderly women involved in a weekly exercise program: a randomized controlled trial // *Am. J. Clin. Nutr.* 2014. V. 100. Iss. 3. P. 974–981.
- Vijaykrishnan S., Callow P., Nutley M.A. et al. Variation in the organization and subunit composition of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex E2/E3BP core assembly // *Biochem. J.* 2011. V. 437. Iss. 3. P. 565–574.
- von Liebig J. Recherches de chimie animale // *CR Hebdom. Séances Acad. Sci.* 1847. V. 24. P. 69–73.
- von Muralt A. The development of muscle-chemistry, a lesson in neurophysiology // *Biochim. Biophys. Acta.* 1950. V. 4. Iss. 1–3. P. 126–129.
- Wagner W., Ciszewski W.M., Kania K.D. L- and D-lactate enhance DNA repair and modulate the resistance of cervical carcinoma cells to anticancer drugs *via* histone deacetylase inhibition and hydroxycarboxylic acid receptor 1 activation // *Cell. Commun. Signal.* 2015. V. 13. Art. 36.
- Wagner W., Kania K.D., Ciszewski W.M. Stimulation of lactate receptor (HCAR1) affects cellular DNA repair capacity // *DNA Repair.* 2017. V. 52. P. 49–58.
- Wan J.J., Qin Z., Wang P.Y. et al. Muscle fatigue: general understanding and treatment // *Exp. Mol. Med.* 2017. V. 49. № 10. P. e384.
- Wasserman K. The anaerobic threshold measurement in exercise testing // *Clin. Chest. Med.* 1984. V. 5. Iss. 1. P. 77–88.
- Wasserman K., McIlroy M.B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise // *Am. J. Cardiol.* 1964. V. 14. Iss. 6. P. 844–852.
- Wasserman K., Whipp B.J., Koil S.N., Beaver W.L. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise // *J. Appl. Physiol.* 1973. V. 35. № 2. P. 236–243.
- Weiss B., Laties V.G. Enhancement of human performance by caffeine and the amphetamines // *Pharmacol. Rev.* 1962. V. 14. Iss. 1. P. 1–36.
- Whyte K.F., Addis G.J., Whitesmith R., Reid J.L. Adrenergic control of plasma magnesium in man // *Clin. Sci.* 1987. V. 72. Iss. 1. P. 135–138.
- Wilson M.C., Jackson V.N., Heddle C. et al. Lactic acid efflux from white skeletal muscle is catalyzed by the monocarboxylate transporter isoform MCT3 // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. № 26. P. 15920–15926.
- Wislicenus J. Über die Isomeren Milchsäuren // *Annalen der Chemie und Pharmacie.* 1873a. B. CLXVI. S. 1–64.
- Wislicenus J. Über die Optisch-Aktive Milchsäure der Fleischflüssigkeit, die Paramilchsäure (Zweite Abhandlung) // *Annalen der Chemie und Pharmacie.* 1873b. B. CLXVI. S. 302–346.
- Wong J., Choi S.Y.C., Liu R. et al. Potential therapies for infectious diseases based on targeting immune evasion mechanisms that pathogens have in common with cancer cells // *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2019. V. 9. Art. 25.
- Wutrich Y., Barraud D., Conrad M. et al. Early increase in arterial lactate concentration under epinephrine infusion is associated with a better prognosis during shock // *Shock.* 2010. V. 34. Iss. 1. P. 4–9.
- Wyndham C.H., Rogers G.G., Benade A.J., Strydom N.B. Physiological effects of the amphetamines during exercise // *S. Afr. Med. J.* 1971. V. XLV. № 10. P. 247–252.
- Young A., Oldford C., Mailloux R.J. Lactate dehydrogenase supports oxidation in mitochondria isolated from different mouse tissues // *Redox Biol.* 2020. V. 28. Art. 101339.
- Zakharchenko M.V., Zakharchenko A.V., Khunderyakova N.V. et al. Burst of succinate dehydrogenase and α -ketoglutarate dehydrogenase activity in concert with the expression of genes coding for respiratory chain proteins underlies short-term beneficial physiological stress in mitochondria // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2013. V. 45. Iss. 1. P. 190–200.
- Zhang Y., Xun P., Wang R. et al. Can magnesium enhance exercise performance? // *Nutrients.* 2017. V. 9. № 9. Art. 946.

- Zhang D., Tang Z., Huang H. et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation // *Nature*. 2019. V. 574. № 7779. P. 575–580.
- Zhou X., Nian Y., Qiao Y. et al. Hypoxia plays a key role in the pharmacokinetic changes of drugs at high altitude // *Curr. Drug Metab.* 2018. V. 19. № 11. P. 960–969.
- Zilva J.F. The origin of the acidosis in hyperlactataemia // *Ann. Clin. Biochem.* 1978. V. 15. Iss. 1. P. 40–43.
- Zoch M.L., Clemens T.L., Riddle R.C. New insights into the biology of osteocalcin // *Bone*. 2016. V. 82. P. 42–49.
- Zouhal H., Jacob C., Delamarche P., Gratas-Delamarche A. Catecholamines and the effects of exercise, training and gender // *Sport. Med.* 2008. V. 38. Iss. 5. P. 401–423.
- Zugno A.I., Valvassori S.S., Scherer E.B. et al. Na⁺,K⁺-ATPase activity in an animal model of mania // *J. Neural Transm.* 2009. V. 116. Iss. 4. P. 431–436.

Lactic Acid: Dynamics of Ideas about the Lactate Biology

S. V. Chepur^{1,*}, N. N. Pluzhnikov¹, O. V. Chubar¹, I. V. Fateev¹, L. S. Bakulina²,
I. V. Litvinenko³, and A. I. Shirjaeva¹

¹*State Scientific-Research Testing Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia*

²*Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia*

³*Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia*

*e-mail: gniiivm_2@mil.ru

An increase in the level of lactate in the biological environment of the body is often interpreted as an unfavorable metabolic factor, indicating hypoxia of tissues, violation of their perfusion. At the same time, an increase in lactate production was also observed in normoxic conditions, which gave rise to a reassessment of its role as a key factor in the metabolic reprogramming of the body in conditions of stress/intense physical activity. Lactic acid is produced in the body under both anaerobic and aerobic conditions and cannot be considered as an unambiguous marker of hypoxia. Lactate is considered as an important energy metabolite and an intermediate of carbohydrate metabolism, as well as a signaling substance that regulates lipolysis and β -oxidation of fatty acids, providing increased resistance to stress-inducing effects and accelerating damage repair. β 2-adrenomimetics, amphetamines, and pyruvate dehydrogenase complex cofactors optimize energy production by affecting lactate metabolism during stressful physical exertion, and increase resistance to them.

Keywords: lactate, physical endurance, regulation of energy metabolism

УДК 615.276.2/.4.015.44

ОПИОИДИНДУЦИРОВАННЫЙ АПОПТОЗ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

© 2021 г. С. В. Гейн^{1, 2, *}

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов – филиал Пермского федерального исследовательского центра
Уральского отделения РАН, Пермь, Россия

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

*e-mail: gein@iegm.ru

Поступила в редакцию 18.12.2020 г.

После доработки 23.12.2020 г.

Принята к публикации 23.12.2020 г.

Лиганды опиоидных рецепторов – важные факторы регуляции иммунных реакций. Известно, что опиоидные пептиды секретируются в кровь при стрессе. Помимо этого, они продуцируются в очагах воспаления клетками иммунной системы и оказывают антиноцицептивное и иммунорегуляторное влияние по паракринному и эндокринному типу через взаимодействие с экспрессированными на иммуноцитах опиоидными рецепторами. Многие виды стресса (ограничение подвижности, переохлаждение, социальное напряжение) вызывают налоксонзависимое угнетение функций иммунной системы, что проявляется в виде снижения пролиферативной активности лимфоцитов, угнетения синтеза цитокинов, продукции антител, микробицидного потенциала. Таким образом, опиоиды вовлечены в реакцию иммунной системы на стресс и могут вызывать иммуносупрессию, а один из возможных механизмов ее реализации – апоптоз. Помимо этого, лиганды опиоидных рецепторов непептидной природы (морфин и его производные) широко используются в качестве анальгетиков в клинической практике для лечения целого ряда патологических состояний. В работе систематизированы данные о влиянии лигандов опиоидных рецепторов пептидной и непептидной природы на апоптоз клеток адаптивного и врожденного иммунитета, проанализированы возможные молекулярные механизмы их апоптогенного воздействия.

Ключевые слова: апоптоз, опиоидные пептиды, морфин, стресс, лимфоциты, макрофаги

DOI: 10.31857/S0042132421030066

ВВЕДЕНИЕ

Адаптация организма к стрессу координируется нервной и эндокринной системами. Быстрая (в течение секунд) регуляция осуществляется с помощью передачи сигнала по нервным волокнам. За медленную (в течение часов) гуморальную регуляцию ответственна гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система. Одними из регуляторов последней традиционно считаются эндогенные опиоидные пептиды (эндорфины, динорфины, энкефалины). Они синтезируются в ЦНС (гипоталамус, гипофиз), секретируются при стрессе в кровь и оказывают влияние по паракринному и эндокринному типу, передавая сигналы как в месте выработки, так и через системный кровоток.

Однако опиоидные пептиды секретируются не только в ЦНС. В очагах воспаления под воздействием провоспалительных цитокинов клетки иммунной системы продуцируют опиоидные пептиды, которые модулируют иммунный ответ

через взаимодействие с экспрессированными на иммуноцитах опиоидными рецепторами (Bodnar, 2018). Вследствие этого характер влияния опиоидных пептидов на функции клеток иммунной системы во многом зависит от ряда факторов, в частности: микроокружения, концентрации пептидов и их состава в очаге воспаления. Поэтому неудивительно, что некоторые авторы склонны считать эндогенные опиоиды своего рода цитокинами, направленность эффектов которых довольно трудно спрогнозировать (Smith, 2008). Известно, что многие виды стресса (ограничение подвижности, переохлаждение, социальное напряжение) вызывают угнетение функций иммунной системы, что проявляется в виде снижения пролиферативной активности лимфоцитов, угнетения синтеза цитокинов (Гейн и др., 2012), продукции антител, микробицидного потенциала, причем данные эффекты могут нивелироваться блокадой опиоидных рецепторов (Гейн, Шаравьева, 2018). Следовательно, опиоидные пептиды вовлечены в реакцию иммунной системы на

стресс и могут вызывать иммуносупрессию, а один из возможных механизмов ее реализации — апоптоз.

Исследования предшествующих двадцати лет показали, что сигналы с опиоидных рецепторов, расположенных на клетках иммунной системы, могут подготовить их к гибели и инициировать апоптоз. Так, воздействие опиоидов повышает экспрессию рецепторов смерти CD95 (Yin et al., 2000) и белка p53 (транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл, активирующийся при повреждении ДНК) (Tsuji-kawa et al., 2009); оно также увеличивает соотношение Bax/Bcl-2 (Singhal et al., 1999, 2001), что ассоциировано с активацией запускающих и эффекторных каспаз в лимфоцитах. В запуске апоптоза клеток макрофагального ряда могут быть задействованы иные рецепторы, например TLR9, TLR2 (Li et al., 2014), а также NO (Frenklakh et al., 2006). Следует отметить, что большинство работ по опиоидиндуцированному апоптозу клеток иммунной системы посвящены эффектам морфина. Этот факт косвенно отражает практические аспекты темы, связанные с иммуносупрессивным действием опиоидных анальгетиков и иммунодефицитными состояниями у наркозависимых пациентов. В настоящем обзоре нами обобщены данные о способности опиоидов регулировать апоптоз клеток иммунной системы.

СТРЕСС

Стресс — основной физиологический процесс, в контексте которого рассматриваются функции опиоидных пептидов. Наиболее выраженное угнетающее влияние на функции лимфоцитов оказывают модели длительного стрессорного воздействия. Так, в модели хронического стресса (иммобилизация животных по 12 ч в день в течение двух дней) частота апоптоза спленоцитов повышалась с 10 до 35–40%. Причем стрессиндуцированному апоптозу в равной степени были подвержены все основные субпопуляции клеток: CD4⁺-, CD8⁺- и CD19⁺-спленоциты (Wang et al., 2002).

Гибель спленоцитов при стрессе реализуется через Fas-зависимый механизм, на клетках увеличивается экспрессия CD95 (Wang et al., 2002), а нокаут гена *CD95* и блокада белков CD95 и CD95L устраняют негативное влияние хронического стресса на количество ядросодержащих клеток селезенки. Наконец, инкубация спленоцитов мышей, подвергшихся хроническому стрессу, с CD95L⁺ L-клетками приводит к апоптозу лимфоцитов. Все это свидетельствует о том, что стресс повышает чувствительность спленоцитов к Fas-зависимому апоптозу, и для его реализации необходим контакт функционально измененных клеток с CD95L. Неселективные антагонисты опиоидных рецепторов налоксон и налтрексон предотвраща-

ют увеличение числа CD95⁺-спленоцитов и их гибель (Yin et al., 2000), что напрямую указывает на участие опиоидных пептидов в индукции Fas-зависимого апоптоза при стрессе.

Сигнал к изменению функционального состояния, описанного выше, при хроническом стрессе спленоциты получают через μ -опиоидные рецепторы MOR (μ -opioid receptor) и, как ни удивительно, TLR9. Используя одну и ту же экспериментальную модель иммобилизационного стресса, разные авторские коллективы показали, что нокаут генов как *MOR*, так и *TLR9* защищает спленоциты от стрессиндуцированного апоптоза, а также сохраняет их способность к секреции IL-2 (Wang et al., 2002; Li et al., 2014). Кроме того, нокаут гена *MOR* предотвращает повышение экспрессии CD95, сохраняет уровень пролиферации и способность к секреции IFN γ (Wang et al., 2002). А выключение TLR9 отменяет повышение секреции IL-4, MCP-1 и провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6 (Li et al., 2014). Результаты этих исследований хорошо согласуются между собой не только в плане общих находок. Они иллюстрируют, что блокада как *MOR*, так и *TLR9* предотвращает стрессиндуцированную Th2-поляризацию адаптивного иммунитета. Учитывая способность *MOR* формировать гетеромерные структуры с другими рецепторами (Ugur et al., 2018), можно предположить, что модулирующее влияние хронического стресса на функции лимфоцитов, в том числе повышение чувствительности к апоптозу, вызвано совместной работой *TLR9* и *MOR*.

Возможно, Fas-зависимый механизм — не единственный механизм управления апоптозом при стрессе. Кортикостероиды, синтезируемые местно и проникающие из системного кровотока, также могут вносить свой вклад в этот процесс. Было показано, что при хроническом стрессе CD4⁺-спленоциты мышей в 3 раза усиливают экспрессию цитохрома P450_{ssc}, который необходим для синтеза стероидных гормонов (Li et al., 2014). Нокаут гена *TLR9* снижает интенсивность этой реакции. Подобные события происходят и на системном уровне. Нокаут генов *MOR* (Wang et al., 2002) или *TLR9* (Li et al., 2014) не позволяет уровню кортикостерона достигнуть значений, характерных для контрольной группы животных в модели хронического стресса. В полной мере заблокировать стрессиндуцированную выработку кортикостерона удалось только при введении налтрексона — неселективного блокатора опиоидных рецепторов (Wang et al., 2002). Следовательно, на синтез стероидов влияют не только *MOR*. Действительно, введение агонистов κ -, но не δ -опиоидных рецепторов мышам с нокаутом *MOR* повышало концентрацию кортикостерона в крови животных (Roy et al., 2001). Эти факты наводят на мысль, что опиоидные пептиды, дей-

ствуя через μ -, κ -рецепторы и *TLR9*, опосредованно управляют стероидиндуцированным апоптозом, регулируя выработку кортикостерона как местно в тканях, так и на системном уровне (Leis et al., 2019).

АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ

In vivo

Влияние морфина на количество ядросодержащих клеток лимфоидных органов изучалось в ряде работ, которые использовали одну и ту же экспериментальную модель – морфинизацию мышей путем подкожного вшивания капсулы с 75 мг морфина. Такой подход обеспечивал поддержание концентрации морфина в организме животных в течение как минимум трех недель на фармакологически значимом уровне: 4.3×10^{-6} М – в первые сутки, 1.75×10^{-6} М – к концу первой и 0.22×10^{-6} М – к концу второй недели и в течение третьей (Bryant et al., 1988b; Zhang et al., 2011). Оказалось, что введение морфина *in vivo* вызывает снижение численности различных субпопуляций лимфоцитов в первичных и вторичных органах иммунной системы. Так, в костном мозге изменения затрагивают в основном предшественников В-лимфоцитов. Через неделю после введения морфиновой капсулы субпопуляция про/пре-В-лимфоцитов (B220⁺IgM⁻) сокращается в 8 раз, незрелых В-клеток (B220^{lo}IgM⁺) – в 4 раза, зрелых – в 2 раза. Следует отметить, что на фоне фармакологически значимых концентраций морфина происходит восстановление численности клеток, в том числе за счет пролиферации. Через неделю к исходному уровню возвращается доля про/пре-В-лимфоцитов, затем незрелых и, наконец, зрелых В-клеток (Zhang et al., 2011). Таким образом, введение морфина *in vivo* сначала вызывает снижение численности предшественников В-лимфоцитов костного мозга, однако в дальнейшем не препятствует ее восстановлению.

Из всех органов иммунной системы отрицательное влияние морфина более всего отражается на тимусе, так как признаки атрофии органа серьезно затрагивают даже его вес. Падение веса тимуса начинается в день установки морфиновой капсулы, достигает 70% на 2–4 сутки, после чего следует медленное восстановление веса органа в течение месяца. Динамика изменения веса тимуса коррелирует с падением общего числа тимоцитов, которое, однако, более выражено, чем изменение веса, и достигает 95% на четвертые сутки морфинизации (Bryant et al., 1988a; Arora et al., 1990; Sei et al., 1991; Freier et al., 1993; Fuchs et al., 1993; Zhang et al., 2011). Среди тимоцитов наиболее чувствительными к введению морфина оказались:

1) самая многочисленная субпопуляция дубль-позитивных клеток (DP), численность которых снижается в 13 раз (Sei et al., 1991; Freier et al., 1993; Fuchs et al., 1993; Zhang et al., 2011);

2) дубль-негативные (DN) предшественники на стадиях DN3L и DN4, экспрессирующие TCR (T-cell receptor) (Zhang et al., 2011);

3) однопозитивные (SP) CD8⁺ и CD4⁺-клетки, численность которых падает с 40–50 до 2% (Zhang et al., 2011).

Процентное содержание субпопуляций восстанавливается через полторы недели (Sei et al., 1991), а общая численность клеток – к концу третьей недели – за счет деления DN1-, DN2-, TCR β +DN3E- и DP-предшественников вышеупомянутых популяций. То есть имеет место гибель клеток, для развития которых необходимо поступление сигнала через TCR (Zhang et al., 2011).

Воздействие морфина *in vivo* блокирует пролиферацию тимоцитов, поскольку уменьшается доля DN4, находящихся в одной из стадий клеточного цикла (Zhang et al., 2011). Гибель тимоцитов осуществляется путем апоптоза, так как уже через сутки после имплантации капсулы с морфином в ткани органа увеличивается количество ДНК с признаками фрагментации (Freier et al., 1993). При этом максимальная интенсивность фрагментации ДНК наблюдается через 12 ч после имплантации, а сокращение числа клеток – на вторые сутки (Fuchs et al., 1993).

Перечисленные выше изменения: атрофия органа, снижение числа клеток, особенно DP, и апоптоз тимоцитов действительно вызваны влиянием морфина, так как неселективные блокаторы опиоидных рецепторов (налексон, налтрексон) дозозависимо препятствуют их развитию (Sei et al., 1991; Freier et al., 1993; Fuchs et al., 1993). Однако было показано, что адреналэктомия предотвращала опустошение пула DP-тимоцитов (Sei et al., 1991), введение антагонистов глюкокортикоидных рецепторов препятствовало появлению фрагментации ДНК в ткани тимуса (Fuchs et al., 1993), а однократная инъекция дексаметазона имитировала влияние морфина на соотношение субпопуляций тимоцитов (Sei et al., 1991). Из чего следует, что морфин *in vivo* вызывает апоптоз тимоцитов опосредованно через усиление секреции глюкокортикоидов.

Глубина поражения ткани селезенки на фоне введения морфина оказалась менее выраженной, а восстановление органа занимало меньше времени, чем у тимуса (Bryant et al., 1987, 1988a,b; Arora et al., 1990).

Механизм действия морфина через стимуляцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и повышение выработки глюкокортикоидов, которые становятся непосредственной причиной гибели клеток, заслуживает особого внимания.

Установка капсулы с морфином через несколько часов вызывает пятикратное налтрексон-зависимое повышение уровня кортикостерона (Aroga et al., 1990; Zhang et al., 2011), который достигает пиковых значений к 1–2 суткам (Sei et al., 1991) и к концу недели возвращается к дооперационному уровню (Zhang et al., 2011). Введение морфина также вызывает дозозависимый (Bryant et al., 1987) ответ в виде гипертрофии надпочечников. Увеличение объема ткани начинается в день установки капсулы с морфином, достигает пика на третий день, после чего возвращается к норме (Bryant et al., 1987, 1988a).

Группа авторов (Zhang et al., 2011) также обращает внимание на то, что восстановление численности клеток в лимфоидных органах происходит в присутствии в организме животных фармакологически значимых концентраций морфина. Из этого следует, что до определенной концентрации морфин (и, возможно, другие μ -опиоидные агонисты) при системном введении не вызывает стимуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и, как следствие, атрофии лимфоидных органов и апоптоз лимфоцитов. Возможно, поэтому усугубление признаков апоптоза спленоцитов в виде фрагментации ДНК (Singhal et al., 1997), а также длительное (в течение месяца) снижение количества CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов селезенки (Cheng et al., 2006) наблюдали в экспериментальных моделях, предполагавших ежедневные интраперитонеальные инъекции морфина. Если предыдущий вывод в отношении механизма влияния морфина верен, при таком режиме дозирования, вероятно, происходит хроническая стимуляция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В свою очередь это индуцирует апоптоз спленоцитов и предотвращает восстановление численности клеток, в отличие от модели морфиновой капсулы.

In vitro

В системе *in vitro* мы имеем несколько иную картину. Показано, что совместная инкубация мононуклеаров периферической крови человека с 10^{-4} – 10^{-8} М морфина за 24–48 ч не вызывает их апоптоза. Она также не меняет интенсивности экспрессии молекул, участвующих в реализации апоптоза: фосфатидилсерина, Fas, Bcl-2 и каспазы-3. Следовательно, *in vitro* морфин не повышает готовность лимфоцитов периферической крови к апоптозу и не является его индуктором (Ohara et al., 2005).

Как было описано ранее, при введении морфина *in vivo* наблюдаются атрофические изменения в лимфоидных органах. Однако, если тимоциты тех же животных инкубировать с морфином *in vitro*, гибели клеток не наблюдается. Так, инку-

бация тимоцитов с морфином в довольно широком диапазоне концентраций (10^{-4} – 10^{-8} М) в течение нескольких часов (3–18) не привела к появлению признаков фрагментации ДНК. Тогда как инкубация тех же клеток с глюкокортикоидами вызывает мощный прирост фрагментов ДНК (Freier et al., 1993; Fuchs et al., 1993), появление которых можно предотвратить внесением блокаторов глюкокортикоидных рецепторов, но не налоксона (Fuchs et al., 1993). Подобные результаты получены в другом исследовании, где совместной инкубации с морфином подвергали дольки фетального тимуса мышей. Протокол исследования предполагал имитацию *in vitro* условий, существующих *in vivo* при имплантации лабораторным животным капсулы с морфином, а именно воздействии 10^{-6} М морфина в течение 7 дней. Вновь инкубация *in vitro* не отразилась ни на количестве тимоцитов в культуре, ни на пропорции DN-, DP- и SP-timoцитов (Zhang et al., 2011).

Другой группой авторов, напротив, были обнаружены протективные свойства морфина, которые выражались в задержке развития апоптоза, вызванного актиномицином D по отношению к лимфоцитарным SEM \times 174 (Т- и В-лимфобластная клеточная линия) клеткам человека, эффект морфина нивелировался налоксоном. Инкубация с морфином 10^{-8} М не вызывала фрагментации ДНК, не отражалась на численности клеток и не вызывала активации p53. Авторы предполагают (Suzuki et al., 2003), что морфин может инактивировать p53, что в свою очередь уменьшает соотношение Bax/Bcl-2. Возможно, большое значение имеет природа индуктора апоптоза и наличие дополнительных активационных сигналов.

При этом отдельные литературные источники указывают на присутствие у опиоидов прямого апоптоз-индуцирующего действия *in vitro*. Так, показано, что инкубация CD3⁺ Т-лимфоцитов периферической крови человека с 10^{-5} М морфина налоксон-зависимо повышает экспрессию mRNA генов p53 и ddb2 (damage-specific DNA binding protein 2 – протеин, специфически связывающий поврежденную ДНК) и способствует повреждению ДНК (Tsujikawa et al., 2009). Также морфин активировал экспрессию JNK, ATF-2 (специфический субстрат для JNK и p38 MAPK), ослаблял экспрессию ERK, активировал каспазы-3, -8, -9, -10, экспрессию Bax и уменьшал экспрессию Bcl-2, сдвигая баланс Bax/Bcl-2 в сторону апоптоза (Singhal et al., 1999, 2001). Выраженный апоптогенный эффект *in vitro* был выявлен у агониста MOR фентанила, который понижал процент CD4, CD8 и Foxp3-лимфоцитов среди мононуклеаров пуповинной крови, ингибировал пролиферацию и индуцировал апоптоз активированных анти-CD3/28 CD4⁺-клеток (Ma et al., 2017). Также показано, что культивирование мононуклеаров

клеток периферической крови человека в присутствии морфина 10^{-7} – 10^{-8} М вызывает фрагментацию ДНК аналогично тому, как это происходит в присутствии кортизола (Nair et al., 1997).

В отличие от морфина и его производных, данные о влиянии опиоидных пептидов на апоптоз лимфоцитов представлены в единичных публикациях. Показано, что человеческие мононуклеары в присутствии 10^{-8} М β -эндорфина в течение 24 ч повышали захват из культуральной среды спермидина, полиамина, необходимых для упаковки ДНК. Причем этот процесс протекал интенсивнее, чем при воздействии митогена ConA, не сопровождался усилением синтеза белка и ДНК, но приводил к повышению числа клеток в состоянии апоптоза с 6 до 35% (Ientile et al., 1997a). Добавление IL-2 обеспечивало восстановление числа апоптозных клеток до уровня контрольной пробы (Ientile et al., 1997a,b). Авторы полагают, что β -эндорфин действует как неполный митоген, вызывая аккумуляцию полиаминов в клетке и подготавливая переход из G_0 - в G_1 -фазу. Без дополнительных сигналов к делению накопление полиаминов расценивается клеткой как сигнал к апоптозу (Ientile et al., 1997a). Следует также отметить, что в экспериментах с β -эндорфином *in vitro* прямых апоптозиндуцирующих свойств по отношению к клеткам периферической крови человека не обнаружено (Южанинова, Гилёва, 2020).

Мет-энкефалин индуцировал апоптоз опухолевой линии клеток MOLT-4 (человеческие Т-лимфоциты) (Ohmori et al., 2009) и в то же время снимал повышенную экспрессию каспазы-3 в ВИЧ-зараженных лимфоцитах SEM \times 174, таким образом уменьшая их апоптоз (Xu et al., 2006). Помимо этого, мет-энкефалин повышал выживаемость, активность РКС и ERK1/2, базовый уровень кальция в нормальных клетках. То есть на ранних этапах ВИЧ-инфекции, используя Са-РКС-МАРК-каскад, метионин-энкефалин улучшал выживание лимфоцитов (Li et al., 2004).

Таким образом, в системе *in vivo* агонисты опиоидных рецепторов, особенно морфин, оказывают на лимфоциты выраженный апоптогенный эффект, в то время как *in vitro* проанализированные данные далеко не так однозначны. Возможно, большое значение в направленности апоптогенного действия опиоидов *in vitro* имеет природа индуктора и наличие дополнительных активационных сигналов (табл. 1).

ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ

In vivo

Показана способность агонистов MOR запускать апоптоз клеток макрофагального ряда, причем *in vivo* морфин индуцирует апоптоз перитонеальных макрофагов мышей (Singhal et al., 2000;

Bhaskaran et al., 2001; Patel et al., 2003; Li et al., 2015). Показано, что кратковременное и длительное введение мышам морфина вызывает усиление апоптоза макрофагов костного мозга и снижение их способности к миграции (Malik et al., 2002). *In vivo* морфин разрушал защитный барьер слизистой кишечника, способствовал образованию язв и индуцировал NO-зависимый апоптоз клеток слизистой оболочки тонкого и толстого кишечника, а также макрофагов перитонеальной полости (Frenklakh et al., 2006). Помимо этого, морфин снижал дифференцировку моноцитов костного мозга в дендритные клетки, созревание и антигенпрезентирующую активность, экспрессию костимулирующих молекул CD80 и CD86 на дендритных клетках (Chang et al., 2012, 2016). Прямых данных, указывающих на индукцию апоптоза дендритных клеток морфином, нам обнаружить не удалось.

In vitro

Морфин индуцирует апоптоз макрофагов также в системе *in vitro*. Так, *in vitro* морфин вызывает апоптоз в перитонеальных макрофагах мыши, в клетках мышинных макрофагальных линий J774.16 (Singhal et al., 1998, 2000; Bhat et al., 2004) и RAW264.7 (Li et al., 2015) и в моноцитах человека (Singhal et al., 1998; Karasi et al., 2004). В присутствии морфина в макрофагах происходит накопление белков p53, Вах- α и Вах- β , участвующих в запуске апоптоза (Singhal et al., 1998) и уменьшается концентрация антиапоптозного белка Bcl-2 (Karasi et al., 2004). Кроме того, морфин действует синергично с другими индукторами апоптоза, например с белком оболочки ВИЧ gp160 (Karasi et al., 2004). Апоптозиндуцирующий эффект морфина коррелирует с концентрацией (Bhat et al., 2004) и временем воздействия на клетки (12–48 ч). В системе *in vitro* в концентрациях, сопоставимых с таковыми в организме наркопотребителей (выше 10^{-6} М), морфин может вызывать апоптоз до 30–40% всех клеток (Singhal et al., 1998).

По сравнению с морфином, влияние пептидных агонистов μ -рецепторов на апоптоз макрофагов выражено в два раза слабее у β -эндорфина, а у μ -агониста DAGO – практически ничтожно. В отличие от MOR агонисты δ -опиоидных рецепторов DPDPE, DADLE апоптогенным действием вообще не обладают (Singhal et al., 1998).

Существенно, что апоптогенная активность опиоидов распространяется и на резидентные макрофаги в тканях. Так, морфин запускает апоптоз микроглии (Xie et al., 2010), вызывает гибель предшественников микроглии и астроцитов (Hu et al., 2002; Khurdayan et al., 2004). Морфин индуцирует экспрессию TLR9 на микроглии и апоптоз микроглии через активацию MOR, что выражалось в снижении уровня Bcl-2, повышении уров-

Таблица 1. Влияние опиоидов на апоптоз клеток адаптивного иммунитета *in vivo* и *in vitro*

Пептид	Объект	Система	Клеточная популяция	Эффект	Источник
Морфин	Мышь	<i>in vivo</i>	Спленциты	Снижение численности предшественников В-лимфоцитов Снижение количества CD4 ⁺ и CD8 ⁺ Т-лимфоцитов селезенки	Cheng et al., 2006; Zhang et al., 2011
Морфин	Мышь	<i>in vivo</i>	Тимоциты	Снижение численности DN-, DP-, SP-тимоцитов	Sei et al., 1991; Freier et al., 1993; Fuchs et al., 1993; Zhang et al., 2011
	Человек	<i>in vitro</i>		Нет эффекта	
Морфин	Человек	<i>in vitro</i>	Мононуклеары	Нет эффекта	Ohara et al., 2005
Морфин	Человек	<i>in vitro</i>	Клеточная линия СЕМ×174	Задержка развития апоптоза	Suzuki et al., 2003
Морфин	Человек	<i>in vitro</i>	CD3 ⁺ Т-лимфоциты	Усиление экспрессии mRNA генов <i>p53</i> и <i>ddb2</i> , активация каспаз-3, -8, -9, -10; увеличение экспрессии Вах и уменьшение экспрессии Bcl-2	Singhal et al., 1999, 2001
Фентанил	Человек	<i>in vitro</i>	Мононуклеары	Индукция апоптоза активированных CD4-клеток	Ma et al., 2017
Морфин	Человек	<i>in vitro</i>	Мононуклеары	Индукция апоптоза, фрагментация ДНК	Nair et al., 1997
β-эндорфин	Человек	<i>in vitro</i>	Мононуклеары	Усиление апоптоза, накопление спермидина	Ientile et al., 1997a
β-эндорфин	Человек	<i>in vitro</i>	Мононуклеары	Нет эффекта	Южанинова, Гилёва, 2020
Мет-энкефалин	Человек	<i>in vitro</i>	Клеточные линии MOLT-4, СЕМ×174	Индукция апоптоза опухолевой линии MOLT-4 Снижение повышенной экспрессии каспазы-3 в ВИЧ-зараженных лимфоцитах СЕМ×174	Xu et al., 2006; Ohmori et al., 2009

ня Вах, усилении фосфорилирования p38 MAPK и MKK3/6, но только не в TLR9-дефицитных или MOR-дефицитных клетках микроглии (He et al., 2011). В то же время пептидный агонист мет-энкефалин на апоптоз клеток микроглии не влиял (Xu et al., 2016).

При использовании в качестве объекта исследований лейкоцитов собак показано, что морфин, бупренорфин и фентанил ингибировали апоптоз нейтрофилов, причем эффект не зависел от исследуемой концентрации (Declue et al., 2014; Monibi et al., 2015). Пептидные агонисты μ-рецепторов эндоморфины 1 и 2 задерживали апоптоз нейтрофилов перитонеальной полости крыс, ингибитор фосфоинозитид-3-киназного пути снимал эту задержку (Azuma et al., 2002). В то же время ЭМ-1 и ЭМ-2 понижали экспрессию Bcl-2 протеина и усиливали экспрессию Вах, Fas и FasL в клетках опухолевой линии HL-60, таким образом индуцируя апоптоз в клетках HL-60 за счет активации Bcl-2–Вах- и Fas–FasL-путей (Lin et al., 2004). β-эндорфин вызывает значительное увели-

чение числа апоптоза нейтрофилов человека за 12 ч культивирования в концентрациях 10⁻⁸ и 10⁻¹⁰ М (Sułowska et al., 2002). Мет-энкефалин и β-эндорфин налоксон-независимо усиливали апоптоз неактивированных и инкубированных с TNF-α нейтрофилов *in vitro* (Sułowska et al., 2003). Ноцицептин/орфанин FQ *in vitro* вызывал апоптоз клеток линии миелоидной хронической лейкемии (K562/ADM), повышал уровень Fas/FasL и увеличивал процент апоптозных клеток (Li et al., 2008) (табл. 2).

Возникает вопрос: какие факторы могут быть посредниками в запуске морфин-опосредованных процессов апоптоза клеток врожденного иммунитета? В этом смысле важно, что морфин стимулирует синтез и секрецию оксида азота. Так, было показано, что наличие NO в культуральной среде макрофагов вызывает запуск апоптоза в этих клетках (Messmer et al., 1996; Singhal et al., 1998), а морфин повышает экспрессию mRNA-индуцибельной NO-синтазы (iNOS) (Kapasi et al., 2004) и, следовательно, увеличивает концентра-

Таблица 2. Влияние опиоидов на апоптоз клеток врожденного иммунитета *in vivo* и *in vitro*

Пептид	Объект	Система	Клеточная популяция	Эффект	Источник
Морфин	Мышь	<i>in vivo</i>	Макрофаги	Усиление апоптоза макрофагов костного мозга	Malik et al., 2002; Frenklakh et al., 2006
Морфин	Мышь	<i>in vivo</i>	Перитонеальные макрофаги	Усиление апоптоза	Singhal et al., 2000; Patel et al., 2003; Li et al., 2015
Морфин	Мышь	<i>in vitro</i>	Клеточные линии J774.16 и RAW264.7	Усиление апоптоза	Singhal et al., 1998, 2000; Bhat et al., 2004
Морфин	Человек	<i>in vitro</i>	Моноциты	Накопление белков p53, Вах- α и Вах- β Уменьшение концентрации белка Bcl-2	Singhal et al., 1998; Kapasi et al., 2004
β -эндорфин, DAGO	Человек	<i>in vitro</i>	Моноциты	Слабое апоптогенное действие	Singhal et al., 1998
DPDPE, DADLE	Человек	<i>in vitro</i>	Моноциты	Нет эффекта	Singhal et al., 1998
Морфин	Человек	<i>in vitro</i>	Микроглия, астроциты	Индукция апоптоза	Hu et al., 2002; Khurdayan et al., 2004; Xie et al., 2010
Морфин, бупренорфин, фентанил	Собака	<i>in vitro</i>	Нейтрофилы	Ингибирование апоптоза	Declue et al., 2014; Monibi et al., 2015
ЭМ-1, -2	Человек	<i>in vitro</i>	Нейтрофилы	Ингибирование апоптоза	Azuma et al., 2002
β -эндорфин	Человек	<i>in vitro</i>	Нейтрофилы	Усиление апоптоза	Sułowska et al., 2002
Ноцицептин/орфанин FQ	Человек	<i>in vitro</i>	Клеточная линия K562/ADM	Усиление апоптоза	Li et al., 2008
ЭМ-1, -2	Человек	<i>in vitro</i>	Клеточная линия HL-60	Усиление апоптоза	Lin et al., 2004

цию NO в культуральной среде J774.16 макрофагов (Singhal et al., 1998). Усиление образования NO под воздействием морфина достигает максимума через один час после начала воздействия и прямо зависит от концентрации (Bhat et al., 2004).

Ингибиторы NO-синтазы подавляют морфининдуцированную продукцию NO (Bhat et al., 2004) и апоптоз макрофагов и J774.16 клеток (Singhal et al., 1998; Kapasi et al., 2004). Также в запуске апоптоза морфином участвуют радикалы кислорода. Например, *in vitro* морфин дозозависимо повышал продукцию супероксиданиона, которая достигала максимума в течение одного часа культивирования. Положительно на морфининдуцированное образование супероксиданиона влияло повышение концентрации внутриклеточного кальция. Культивирование макрофагов в присутствии антиоксидантов (ингибитор NADPH-оксидазы дифенилениодония хлорид, аскорбиновая кислота, N-ацетил-L-цистеин, супероксиддисмутаза, каталаза, диметилтиомочевина) или хелатора внутриклеточного кальция угнетало морфининдуцированный апоптоз (Bhat et al., 2004; Kapasi et al., 2004). Наконец, введение мышам морфина после инъекций антиоксидантов (NAC) уменьшало ча-

стоту апоптоза перитонеальных макрофагов (Bhat et al., 2004).

Существенно, что морфин может опосредовать свои эффекты через активацию продукции TGF- β . В фармакологических концентрациях (10^{-8} и 10^{-6} М) он повышает содержание цитокина в цитоплазме J774 и перитонеальных макрофагах, а также в цитоплазме макрофагов мышей, которым морфин вводили парентерально. Внесение антител к TGF- β в культуру J774 нивелирует морфининдуцированную секрецию NO (Bhat et al., 2004), экспрессию Вах и частично угнетает апоптоз макрофагов и J774-клеток (Singhal et al., 2000). Повышение концентрации цитоплазматического кальция усиливает морфининдуцированный апоптоз J774-клеток, тогда как ее понижение восстанавливает жизнеспособность клеток (Bhat et al., 2004).

Помимо выше перечисленного, морфин может запускать апоптотические процессы через контроль экспрессии микроРНК. Так, морфин в высокой концентрации (10^{-5} М) усиливает экспрессию микроРНК-338-3р, которая вызывает деградацию мРНК гена *SOX4*, продукт которого ингибирует экспрессию каспазы-3 (Weng, Wang,

2016). Другим примером посттранскрипционной регуляции генов морфином является ингибирование экспрессии микроРНК-873. Результатом является апоптоз RAW264.7-клеток и перитонеальных макрофагов мышей (Li et al., 2015).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лиганды опиоидных рецепторов оказывают выраженное влияние на функции ряда органов и систем, в том числе на иммунную систему. Во многих работах показано, что опиоиды могут индуцировать иммуносупрессию, и апоптоз может быть одним из механизмов ее реализации. Лиганды опиоидных рецепторов модулируют апоптоз клеток иммунной системы, и наиболее выраженным апоптогенным действием обладают низкомолекулярные агонисты μ -рецептора (морфин и его производные), в меньшей степени — μ -агонисты пептидной природы (β -эндорфин, эндоморфины); агонисты других типов опиоидных рецепторов (δ , κ) апоптогенного действия в отношении клеток иммунной системы практически не проявляют. При этом в системах *in vitro* и *in vivo* имеют место существенные различия в характере эффектов. В системе *in vivo* морфин оказывает выраженное влияние на апоптоз лимфоцитов, опосредованное путем изменения динамики секреции гормонов гипоталамо-гипофизарной оси, а также индуцирует апоптоз клеток моноцитарно-макрофагального ряда. В то же время в системе *in vitro* представленные данные далеко не так однозначны. Существенные расхождения результатов *in vitro* могут объясняться различиями в выборе объекта исследования, экспериментальной модели, наличием активационных сигналов, а также природой лиганда. Таким образом, апоптоз может быть эффективным механизмом модуляции иммунных реакций опиоидами, однако точные механизмы апоптогенных эффектов лигандов опиоидных рецепторов еще предстоит выяснить.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Поисково-аналитическая работа по подготовке рукописи проведена в рамках государственного задания, номер государственной регистрации темы № АААА-А19-119112290007-7.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, о которых следует сообщить.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гейн С.В., Баева Т.А., Небогатиков В.О. Влияние β -эндорфина на пролиферативную и секреторную активность спленоцитов *in vivo* // Иммунология. 2012. Т. 33. № 2. С. 102–103.
- Гейн С.В., Шаравьёва И.Л. Иммуномодулирующие эффекты холодового стресса // Успехи соврем. биол. 2018. Т. 138. № 3. С. 243–250.
- Южанинова С.В., Гилёва С.Г. Влияние бета-эндорфина и динорфина А на апоптоз лимфоцитов периферической крови человека *in vitro* // Рос. иммунол. журн. 2020. Т. 23. № 2. С. 67–72.
- Arora P.K., Fride E., Petitto J. et al. Morphine-induced immune alterations *in vivo* // Cell Immunol. 1990. V. 126. № 2. P. 343–53.
- Azuma Y., Ohura K., Wang P.-L., Shinohara M. Endomorphins delay constitutive apoptosis and alter the innate host defense functions of neutrophils // Immunol. Lett. 2002. V. 81. № 1. P. 31–40.
- Bhaskaran M., Reddy K., Sharma S. et al. Morphine-induced degradation of the host defense barrier: role of macrophage injury // J. Infect. Dis. 2001. V. 184. № 12. P. 1524–1531.
- Bhat R.S., Bhaskaran M., Mongia A. et al. Morphine-induced macrophage apoptosis: oxidative stress and strategies for modulation // J. Leukoc. Biol. 2004. V. 75. № 6. P. 1131–1138.
- Bodnar R.J. Endogenous opiates and behavior: 2016 // Peptides. 2018. V. 101. P. 167–212.
- Bryant H.U., Bernton E.W., Holaday J.W. Immunosuppressive effects of chronic morphine treatment in mice // Life Sci. 1987. V. 41. № 14. P. 1731–1738.
- Bryant H.U., Bernton E.W., Holaday J.W. Morphine pellet-induced immunomodulation in mice: temporal relationships // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1988a. V. 245. № 3. P. 913–920.
- Bryant H.U., Yoburn B.C., Inturrisi C.E. et al. Morphine-induced immunomodulation is not related to serum morphine concentrations // Eur. J. Pharmacol. 1988b. V. 149. № 1–2. P. 165–169.
- Chang M., Chen Y., Huang C. et al. The influences of morphine on dendritic cell-mediated immunity // Canc. Res. 2012. V. 72. № 8. P. 5401.
- Chang M., Chen Y., Chiang Y. et al. Anti-CD40 antibody and toll-like receptor 3 ligand restore dendritic cell-mediated anti-tumor immunity suppressed by morphine // Am. J. Canc. Res. 2016. V. 6. № 2. P. 157–172.
- Cheng W.F., Chen L.K., Chen C.A. et al. Chimeric DNA vaccine reverses morphine-induced immunosuppression and tumorigenesis // Mol. Ther. 2006. V. 13. № 1. P. 203–210.
- Declue A.E., Yu D.H., Prochnow S. et al. Effects of opioids on phagocytic function, oxidative burst capacity, cytokine production and apoptosis in canine leukocytes // Vet. J. 2014. V. 200. № 2. P. 270–275.

- Freier D.O., Fuchs B.A. Morphine-induced alterations in thymocyte subpopulations of B6C3F1 mice // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1993. V. 265. № 1. P. 81–88.
- Frenklakh L., Bhat R.S., Bhaskaran M. et al. Morphine-induced degradation of the host defense barrier role of intestinal mucosal injury // *Dig. Dis. Sci.* 2006. V. 51. № 2. P. 318–325.
- Fuchs B.A., Pruett S.B. Morphine induces apoptosis in murine thymocytes *in vivo* but not *in vitro*: involvement of both opiate and glucocorticoid receptors // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1993. V. 266. № 1. P. 417–423.
- He L., Li H., Chen L. et al. Toll-like receptor 9 is required for opioid-induced microglia apoptosis // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 4. P. e18190.
- Hu S., Sheng W.S., Lokensgard J.R., Peterson P.K. Morphine induces apoptosis of human microglia and neurons // *Neuropharmacology*. 2002. V. 42. № 6. P. 829–836.
- Ientile R., Ginoprelli T., Cannavò G. et al. Effect of beta-endorphin on cell growth and cell death in human peripheral blood lymphocytes // *J. Neuroimmunol.* 1997a. V. 80. № 1–2. P. 87–92.
- Ientile R., Ginoprelli T., Cannavò G. et al. Beta-endorphin enhances polyamine transport in human lymphocytes // *Life Sci.* 1997b. V. 60. № 18. P. 1545–1551.
- Kapasi A.A., Coscia S.A., Pandya M.P., Singhal P.C. Morphine modulates HIV-1 gp160-induced murine macrophage and human monocyte apoptosis by disparate ways // *J. Neuroimmunol.* 2004. V. 148. № 1–2. P. 86–96.
- Khurdayan V.K., Buch S., El-Hage N. et al. Preferential vulnerability of astroglia and glial precursors to combined opioid and HIV-1 Tat exposure *in vitro* // *Eur. J. Neurosci.* 2004. V. 19. № 12. P. 3171–3182.
- Leis K., Mazur E., Jabłńska M.J. et al. Endocrine systems of the skin // *Adv. Dermatol. Allergol.* 2019. V. XXXVI. № 5. P. 519–523.
- Li H., Zhao J., Chen M. et al. Toll-like receptor 9 is required for chronic stress-induced immune suppression // *Neuroimmunomodulation*. 2014. V. 21. № 1. P. 1–7.
- Li M.C., Yu J.H., Yu S.S. et al. MicroRNA-873 inhibits morphine-induced macrophage apoptosis by elevating A20 expression // *Pain Med.* 2015. V. 16. № 10. P. 1993–1999.
- Li P.F., Hao Y.S., Zhang F.X. et al. Signaling pathway involved in methionine enkephalin-promoted survival of lymphocytes infected by simian immunodeficiency virus in the early stage *in vitro* // *Int. Immunopharmacol.* 2004. V. 4. № 1. P. 79–90.
- Li Z., Zhou L., Zhang B. et al. Effect and mechanism of nociceptin/orphanin FQ reversing multi-drug resistance in K562/ADM cell // *Pharmazie*. 2008. V. 63. № 9. P. 676–685.
- Lin X., Chen Q., Xue L.Y. et al. Endomorphins, endogenous opioid peptides, induce apoptosis in human leukemia HL-60 cells // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2004. V. 82. № 11. P. 1018–1025.
- Ma K., Ma P., Lu H. et al. Fentanyl suppresses the survival of CD4⁺ T cells isolated from human umbilical cord blood through inhibition of IKKs-mediated NF-κB activation // *Scand. J. Immunol.* 2017. V. 85. № 5. P. 343–349.
- Malik A.A., Radhakrishnan N., Reddy K. et al. Morphine-induced macrophage apoptosis modulates migration of macrophages: use of *in vitro* model of urinary tract infection // *J. Endourol.* 2002. V. 16. № 8. P. 605–610.
- Messmer U.K., Reed U.K., Brüne B. Bcl-2 protects macrophages from nitric oxide-induced apoptosis // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 33. P. 20192–20197.
- Monibi F.A., Dodam J.R., Axiak-Bechtel S.M. et al. Morphine and buprenorphine do not alter leukocyte cytokine production capacity, early apoptosis, or neutrophil phagocytic function in healthy dogs // *Res. Vet. Sci.* 2015. V. 99. P. 70–76.
- Nair M.P., Schwartz S.A., Polasani R. et al. Immunoregulatory effects of morphine on human lymphocytes // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1997. V. 4. № 2. P. 127–132.
- Ohara T., Itoh T., Takahashi M. Immunosuppression by morphine-induced lymphocyte apoptosis: is it a real issue? // *Anesth. Analg.* 2005. V. 101. № 4. P. 1117–1122.
- Ohmori H., Fujii K., Sasahira T. et al. Methionine-enkephalin secreted by human colorectal cancer cells suppresses T lymphocytes // *Canc. Sci.* 2009. V. 100. № 3. P. 497–502.
- Patel K., Bhaskaran M., Dani D. et al. Role of heme oxygenase-1 in morphine-modulated apoptosis and migration of macrophages // *J. Infect. Dis.* 2003. V. 187. № 1. P. 47–54.
- Roy S., Wang J.H., Balasubramanian S. et al. Role of hypothalamic-pituitary axis in morphine-induced alteration in thymic cell distribution using mu-opioid receptor knockout mice // *J. Neuroimmunol.* 2001. V. 116. № 2. P. 147–155.
- Sei Y., Yoshimoto K., McIntyre T. et al. Morphine-induced thymic hypoplasia is glucocorticoid-dependent // *J. Immunol.* 1991. V. 146. № 1. P. 194–198.
- Singhal P.C., Reddy K., Franki N. et al. Morphine induces splenocyte apoptosis and enhanced mRNA expression of cathepsin-B // *Inflammation*. 1997. V. 21. № 6. P. 609–617.
- Singhal P.C., Sharma P., Kapasi A.A. et al. Morphine enhances macrophage apoptosis // *J. Immunol.* 1998. V. 160. № 4. P. 1886–1893.
- Singhal P.C., Kapasi A.A., Reddy K. et al. Morphine promotes apoptosis in Jurkat cells // *J. Leukoc. Biol.* 1999. V. 66. № 4. P. 650–658.
- Singhal P.C., Kapasi A.A., Franki N., Reddy K. Morphine-induced macrophage apoptosis: the role of transforming growth factor-beta // *Immunology*. 2000. V. 100. № 1. P. 57–62.
- Singhal P., Kapasi A., Reddy K., Franki N. Opiates promote T cell apoptosis through JNK and caspase pathway // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2001. V. 493. P. 127–135.
- Smith E.M. Neuropeptides as signal molecules in common with leukocytes and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis // *Brain Behav. Immun.* 2008. V. 22. № 1. P. 3–14.
- Sułowska Z., Majewska E., Krawczyk K. et al. Influence of opioid peptides on human neutrophil apoptosis and activation *in vitro* // *Mediat. Inflamm.* 2002. V. 11. № 4. P. 245–250.
- Sułowska Z., Majewska E., Tchórzewski H., Klink M. Effect of exogenous opioid peptides on TNF-alpha-induced human neutrophil apoptosis *in vitro* // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*. 2003. V. 51. № 4. P. 267–272.

- Suzuki S., Chuang L.F., Doi R.H., Chuang R.Y. Morphine suppresses lymphocyte apoptosis by blocking p53-mediated death signaling // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 308. № 4. P. 802–808.
- Tsujikawa H., Shoda T., Mizota T., Fukuda K. Morphine induces DNA damage and p53 activation in CD3⁺ T cells // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. V. 1790. № 8. P. 793–799.
- Ugur M., Derouiche L., Massotte D. Heteromerization modulates mu opioid receptor functional properties *in vivo* // *Front. Pharmacol.* 2018. V. 9. P. 1–10.
- Wang J., Charboneau R., Barke R.A. et al. Mu-opioid receptor mediates chronic restraint stress-induced lymphocyte apoptosis // *J. Immunol.* 2002. V. 169. № 7. P. 3630–3636.
- Weng H.L., Wang M.J. Effects of microRNA-338-3p on morphine induced apoptosis and its underlying mechanisms // *Mol. Med. Rep.* 2016. V. 14. № 3. P. 2085–2092.
- Xie N., Li H., Wei D. et al. Glycogen synthase kinase-3 and p38 MAPK are required for opioid-induced microglia apoptosis // *Neuropharmacology.* 2010. V. 59. № 6. P. 444–451.
- Xu J., Xin S., Li H. et al. Involvement of caspase-3 pathway in anti-apoptotic action of methionine enkephalin on CEM×174 cells in prolonged infection with simian immunodeficiency virus *in vitro* // *Cell Biol. Int.* 2006. V. 30. № 2. P. 114–121.
- Xu X., Gao Y., Wen L. et al. Methionine enkephalin regulates microglia polarization and function // *Int. Immunopharmacol.* 2016. V. 40. P. 90–97.
- Yin D., Tuthill D., Mufson R.A., Shi Y. Chronic restraint stress promotes lymphocyte apoptosis by modulating CD95 expression // *J. Exp. Med.* 2000. V. 191 (8). P. 1423–1428.
- Zhang E.Y., Xiong J., Parker B.L. et al. Depletion and recovery of lymphoid subsets following morphine administration // *Br. J. Pharmacol.* 2011. V. 164. № 7. P. 1829–1844.

Opioid-Induced Apoptosis of Immune System Cells

S. V. Gein^{a, b, *}

^a*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms – Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia*

^b*Perm State University, Perm, Russia*

**e-mail: gein@iegm.ru*

Opioid receptor ligands are important factors in the regulation of immune responses. It is known that opioid peptides are secreted into the blood under stress. In addition, they are produced in inflammation foci by cells of the immune system and have antinociceptive and immunoregulatory effects of the paracrine and endocrine type through interaction with opioid receptors expressed on immunocytes. Many types of stress (restraint, hypothermia, social stress) cause naloxone-dependent suppression of the immune system, which manifests itself in the form of a decrease in the proliferative activity of lymphocytes, suppression of cytokine synthesis, antibody production, and microbicidal potential. Thus, opioids are involved in the response of the immune system to stress and can induce immunosuppression, and one of the possible mechanisms of its implementation is apoptosis. In addition, ligands of non-peptide opioid receptors (morphine and its derivatives) are widely used as analgesics in clinical practice for the treatment of a number of pathological conditions. The work systematizes data on the effect of ligands of opioid receptors of peptide and non-peptide nature on apoptosis of cells of adaptive and innate immunity, analyzes the possible molecular mechanisms of their apoptogenic effects.

Keywords: apoptosis, opioid peptides, morphine, stress, lymphocytes, macrophages

УДК 616.9-08-071(076.5)

ПРОТИВОРЕЧИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ. ПОЛЕЗНЫЕ И ВРЕДНЫЕ СВОЙСТВА ИММУНОТЕРАПИИ

© 2021 г. В. М. Земсков¹, *, А. М. Земсков², В. В. Нейманн³,
К. Н. Пронько⁴, В. А. Земскова², В. С. Демидова¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского, Москва, Россия

²Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

³VRFD SA, Lugano, TICINO, Switzerland

⁴Facecontrol Systems, Moscow, Russia

*e-mail: arturrego@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.11.2020 г.

После доработки 05.11.2020 г.

Принята к публикации 05.11.2020 г.

На основании данных литературы и собственных исследований представлена информация о позитивных и побочных эффектах иммунотропных препаратов вакцин, сывороток, иммунных глобулинов, иммуносупрессоров и модуляторов, способов оптимизации применения, профилактики осложнений.

Ключевые слова: вакцины, сыворотки, цитостатики, иммуномодуляторы

DOI: 10.31857/S0042132421020101

ВВЕДЕНИЕ

Проблема иммунотропных препаратов в настоящее время является важнейшим аспектом клинической иммунологии. К сожалению, применение этих препаратов нередко осуществляется не только специалистами иммунологами, но и врачами других медицинских специальностей, которые не всегда правильно ориентированы по их применению, тем более мало знакомы с их “вредным” эффектом. Задача данного сообщения состоит в обсуждении различных аспектов действия иммунотропных препаратов с целью помочь не только иммунологам, но и врачам других специальностей не делать ошибок при назначении иммунотерапии, а еще лучше, чтобы они предоставили эту возможность только клиническим иммунологам.

ВАКЦИНЫ И АНАТОКСИНЫ

Вакцины и анатоксины представлены живыми, убитыми корпускулярными, химическими, синтетическими фрагментами микроорганизмов, нейтрализованными токсинами бактерий и т.д. Через несколько суток или недель после вакцинации они моделируют инфекционную патологию без клинических проявлений с формированием активного иммунитета.

Достижением вакцинологии является создание эффективных профилактических препаратов против 26 инфекций. В принципе любая вакци-

нация с одной стороны является протезированием (подготовкой) иммунной системы к встрече с инфекционным агентом, а с другой – иммунокорректирующим воздействием, поскольку у больных индуцируются или стимулируются специфические и неспецифические иммунные защитные реакции против конкретных антигенов (Петров, Хаитов, 2011; Ющук, 2014).

Патогенные эффекты вакцин

Побочное действие (реактогенность) проявляется в индукции невыраженных морфофункциональных изменений, не связанных с формированием иммунитета, к которым относятся недомогание, небольшое повышение температуры, неярко выраженные местные реакции и др.

Поствакцинальные (прививочные) реакции – это слабые, средние или сильные клинические и лабораторные признаки нестойких патологических изменений в организме, связанные с вакцинацией, обуславливающей накопление анамнестических, аутоагрессивных антител, медиаторов аллергии, дисбаланс тромбоцитов, лейкоцитов и эозинофилов, лимфоцитов, сывороточную болезнь, нефропатии, поражения нервной системы.

Поствакцинальные осложнения представляют собой клинические проявления стойких патологических изменений, связанных с вакцинацией. К ним относятся общие, обусловленные лихорадкой, головной болью, тошнотой и рвотой, и местные изменения, проявляющиеся при паренте-

ральном введении в виде отека, гиперемии, инфильтратов, регионарного лимфаденита, при аэрозольном применении — в катаральных явлениях со стороны верхних дыхательных путей, конъюнктивите, а при энтеральном — в тошноте, рвоте и болях в животе.

При иммунизации убитыми, химическими вакцинами и анатоксинами осложнения однотипны, тогда как при введении живых бактериальных и вирусных препаратов они «специфичны».

Вакцинальный инцидент представляет собой развитие поствакцинальных осложнений в результате нарушений регламента изготовления вакцин, их хранения, введения пациентам.

Иммунотропная патология — это обострение хронических инфекций, индукция аутоиммунных реакций, мультипотентное анамнестическое антителиобразование. Причем в состоянии толерантности к причинному антигену возможна индукция иммуносупрессии, анафилактического шока, высвобождение эндогенных иммуностимуляторов, обострение предрасположенной аллергии. Сюда же можно отнести выброс медиаторов при проявлениях псевдоаллергии, неспецифическую рефрактерную фазу (ОРВИ), антигемию с формированием иммунологического паралича, дисбаланс кровяных ростков.

Клинические последствия прививочной аллергии проявляются в поражении кожи у 85% пациентов, лихорадке через 2–4–8–16 дней — у 70% привитых, гиперплазии лимфоузлов — у 25%, поражении суставов — у 20%, аллергическом шоке и отеке Квинке — в течение 1–7 ч после введения препаратов (Шамшева и др., 2011; Вакцины ..., 2014).

Принципы оптимизации прививок

К принципам оптимизации прививок, которые крайне важны в прививочной практике и целесообразны в реализации, относятся: 1) совершенствование вакцинных препаратов, состоящее в очистке от балластных примесей, использовании депонаторов, адъювантов, модуляторов. Создание синтетических вакцин и реализация нетрадиционных методов введения — аэрозольного, перорального, безыгольного инъекторного, проведение дробной иммунизации малыми дозами; 2) соблюдение противопоказаний при сильных общих и местных реакциях на прививку, злокачественных новообразованиях, болезнях крови, ЦНС, аутоиммунных поражениях, коллагенозах, иммуносупрессиях, афебрильных судорогах, первичных иммунодефицитах для живых вакцин и также при аллергических реакциях на аминокислоты, яичный белок и др. К этому списку также относятся острые инфекционные заболевания длительностью до 30 сут, приступы бронхиальной астмы до 6 мес., масса тела ребенка при рождении менее 2000 грамм, острые лихорадочные и обострения хронических заболеваний, иммуносупрессорная терапия длительностью до 6 мес.,

введение сывороточных препаратов, к которым относятся иммуноглобулины, плазма крови не ранее чем через 3–6 мес.; 3) необходимость соблюдения других обязательных условий: а) холодных цепей хранения, б) учет гундимунитета, в) использование оптимальных доз вакцин, поскольку малые дозы вызывают алергизацию, а большие — иммунологический паралич, г) соблюдение регламентированной кратности вакцинации; д) учет возраста прививаемых, поскольку новорожденные, дети первых месяцев жизни, пожилые люди являются как правило низкорекрактгенными, е) высокие титры материнских IgG и IgA антител могут нейтрализовать вакцинальные антигены у ребенка, ж) учет проводимого лечения кортикостероидами, цитостатиками, антигистаминными препаратами, перенесение больших операций, подавляющих вакцинальный иммунитет; 4) следует помнить, что: а) патология беременности, родовые травмы, внутри- и ранние постнатальные инфекции, аллергические осложнения являются ограничителями прививок, б) у инертных особей используют большие дозы антигенов, вводимые через короткие интервалы, а у высокореактивных — соответственно малые с удлиненными интервалами, в) при недостаточности Т-системы иммунитета противовирусные вакцины могут вызвать персистенцию возбудителей и образование иммунных комплексов. Очень важно, что лиц с агаммаглобулинемией (болезнь Брутона — вариант первичного гуморального иммунодефицита, вызванный мутациями в гене, кодирующем тирозинкиназу Брутона) не подвергают активной иммунизации антибактериальными вакцинами, анатоксинами, однако эффективность антивирусных вакцин у таких лиц удовлетворительна, у пациентов с комбинированными Т- и В-иммунодефицитами вакцинация противопоказана, а у детей с гипо- и дисиммуноглобулинемией необходима предварительная заместительная иммуноотерапия иммуноглобулинами, причем у детей с дефектом макрофагальной системы эффект вакцин с Т-зависимыми антигенами ослаблен (Руководство ..., 2005; Кишкун, 2009; Энциклопедия ..., 2013; Земсков и др., 2015, 2016).

СЫВОРОТОЧНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Существенно отметить, что плазма крови, сыворотки и иммунные глобулины через несколько минут после внутривенного или через несколько часов после парентерального введения обуславливают пассивную оперативную профилактику инфекций, иммунозамещение или лечебный эффект (Земсков и др., 2007, 2016, 2017).

Побочные реакции и осложнения

При введении сывороточных препаратов возможны побочные реакции и осложнения: 1) головная боль, головокружения, мигрени, тошнота, рвота, боль в животе, диарея, повышение/пони-

жение АД, тахикардия, цианоз, одышка, сдавление/боль в груди. Редко отмечают гипотонию, коллапс, потерю сознания, гипертермию, озноб, потливость, миалгию, некроз почечных канальцев; 2) с нативными препаратами полностью не исключен перенос “шприцевых инфекций”, к которым относятся: сифилис, малярия, гепатиты, ВИЧ/СПИД. Кроме того, временное повышение антител в крови может вызвать ложно позитивные результаты серологических методов исследования, причем в интервале от нескольких часов до дней могут проявиться и бесследно исчезнуть признаки асептического менингита; 3) возможна индукция аллергических реакций вплоть до анафилактического шока; 4) введение препаратов на протяжении 1.5–3 мес. ослабляет эффективность живых вирусных вакцин против кори, краснухи, эпидемического паротита, полиомиелита, ветряной оспы. Те же явления могут происходить при одновременном введении убитых вакцин или анатоксинов с антисыворотками; 5) описаны феномены индукции эндокринных нарушений при введении мальчикам в возрасте до 3 лет больших доз плацентарного гамма-глобулина, содержащего значительные концентрации женских половых гормонов, а также невынашивание плода у женщин, получивших в младенчестве в возрасте до 3 лет большие дозы сывороточных препаратов, превышающих по объему 3–6 мл; 6) теоретически возможно при перегрузке организма антителами в ситуации обезвоживания и снижения детоксицирующей функции печени, кахексии и др. состояний подавление формирования активного иммунитета против возбудителей при острых инфекционных процессах, индукция токсических шоков в результате массового распада микроорганизмов с высвобождением эндотоксинов; 7) “сывороточная болезнь” возникает при введении в организм противостолбнячных, противогриппозных, противовирусных, противоботулинических, антирабических, противогангренозных и др. сывороток, иммуноглобулинов, вакцин, анатоксинов и т.д. В основе патологии лежит образование иммунных комплексов и их отложение в стенках сосудов, стимулирующих систему комплемента, активные факторы которой и обуславливают патологическую клинику. При первом введении сыворотки симптомы появляются на 7–15 день, при повторном – реакция может развиваться мгновенно или через несколько дней даже на небольшое количество антигена в виде анафилактической формы сывороточной болезни.

Принципы оптимизации пассивной профилактики и иммунотерапии

Важно, что сахарный диабет, хроническая почечная недостаточность, беременность и период лактации являются противопоказаниями для назначения сывороточных препаратов. Лицам с системными заболеваниями крови, соединительной ткани, гломерулонефритом и др. лечение

осуществляют на фоне базовой терапии, а для исключения аллергических реакций используют метод Безредко, когда за 30 мин до внутримышечного или внутривенного введения сывороточного препарата делают внутрикожную пробу путем инъекции 0.1 мл разведенного 1 : 100 сывороточного средства и только при полном отсутствии реакции вводят остальную дозу, причем существенно отметить, что эффективность антигистаминных препаратов в этом случае низкая. Наличие первичных иммунодефицитов с полной неспособностью к образованию каких-либо классов иммунных глобулинов является исключением для этого метода лечения. Причем предпочтительным является проведение пассивной иммунотерапии угрожаемым контингентам, к которым относятся дети с незрелой иммунной системой, хронические ослабленные больные, старики с высокой степенью утраты иммунной компетентности за счет истощения лимита “наивных” лимфоцитов, состояния при затянувшихся вирусных инфекциях с вероятностью развития бактериальных осложнений. Очень важно, что традиционно применяемая схема пассивной иммунотерапии, состоящая в дробном введении с интервалом в 1–5 дней нежелательна, поскольку возможна индукция антителообразования против препарата с нейтрализацией его эффекта. Предпочтительно ведение больших доз препаратов, но ограниченное число раз, составляющее 2–3 с интервалом 12–48 ч. Напомним, что более рациональным представляется инъекция препаратов в остром периоде инфекционного заболевания, а не в стадии ремиссии или выздоровления.

ИММУНОСУПРЕССОРНАЯ ТЕРАПИЯ

Иммуносупрессорная терапия подразумевает использование иммуносупрессоров, кортикостероидов и цитостатиков для целенаправленного подавления иммунных реакций у больных в онкологической практике, в трансплантологии для торможения реакций отторжения пересаженных органов и для лечения тяжелых аллергических и аутоиммунных заболеваний (Земсков и др., 2016, 2017).

Побочные действия иммуносупрессоров

Побочные действия иммуносупрессоров проявляются в следующем:

- 1) Нарушение функции костного мозга, причем в первую очередь повреждаются клетки с высокой митотической активностью, к которым относятся гемопоэтические, половые и др. клетки.
- 2) Расстройство желудочно-кишечного тракта, тошнота, рвота, нарушение функции желудка, также могут быть желудочно-кишечные кровотечения, например, при применении метотрексата.
- 3) Предрасположенность к инфекциям. Существенно, что в основе расстройств лежит повре-

ждение кожного и кожно-слизистого барьера, подавление лимфатических защитных механизмов в виде лейкопении, снижении интенсивности фагоцитоза, угнетении воспалительных процессов, блокировании иммунных механизмов.

4) Аллергические реакции. Они развиваются после применения антилимфоцитарной сыворотки и некоторых других препаратов. Чаще проявляются в виде кожных поражений, эозинофилии и лекарственной лихорадки.

5) Канцерогенный эффект. Помимо основного действия, иммуносупрессорные препараты блокируют механизмы, обеспечивающие элиминацию бластных клеток. Такие клетки, уже прошедшие процесс дифференцировки, не контролируются организмом и могут быть причиной формирования опухолей. Особенно часто эти процессы протекают у больных с “трансплантрованными” опухолями.

6) Нарушение репродуктивной функции и тератогенные эффекты. При назначении алкилирующих соединений существует опасность бесплодия как у женщин, так и у мужчин в 10–70% случаев. При приеме этих препаратов необходимо избегать беременность даже через 6 мес. после прекращения курса лечения.

7) Остановка роста у детей.

8) Действие на иммунную систему. Клеточный тип сенсibilизации значительно легче поддается супрессии, чем гуморальный, а синтез IgG более чувствителен, чем IgM. Меркаптопурин ингибирует прежде всего Т-зависимые, тогда как циклофосфан и азатиоприн – В-зависимые реакции, Т-супрессоры.

9) Прочие побочные эффекты. Алкилирующие производные индуцируют нарушения сперматогенеза, аменорею, легочные фиброзы. Миелосан – гиперпигментацию, потерю массы тела, циклофосфамид – выпадение волос, геморрагические циститы. Антиметаболиты обуславливают нарушение функции печени, а алкалоиды барвинка – нейротоксическое действие, атаксию, моторные нарушения.

10) Побочные эффекты кортикостероидов: эндокринные – ожирение, кушингоидный синдром, стероидный диабет, подавление функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, снижение секреции инсулина, гормона роста, кальцитонина, лютеинизирующего гормона; метаболические – отрицательный азотистый и кальциевый баланс, дефицит витамина Д; инфекционные – вторичный иммунодефицит, снижение антиинфекционной резистентности, бактерицидной активности лейкоцитов, обострение хронических болезней, конкретно, туберкулеза; репродуктивные – бесплодие, расстройства менструального цикла, нарушение формирования плода, подавление функции гипофизарно-надпочечниковой системы новорожденных, замедление созревания скелета, задержка роста детей; действие на системы органов: пищеварительную – пептиче-

ская язва, желудочно-кишечные кровотечения, панкреатит, жировая дистрофия печени; ЦНС – изменения настроения в виде возбуждения/депрессии, психозы; сердечно-сосудистую – нарушения свертывающей системы крови, тромбэмболии, миокардиодистрофия, артериальная гипертензия, отеки; другие – субкапсулярная катаракта, глаукома, истончение кожи, пурпуры, облысение, атрофии, псевдоревматизм, остеопороз, разрушение позвонков, асептический некроз; действие на медикаменты – ослабление активности антидиабетических, гипотензивных, наркотических, антикоагулянтных, химиотерапевтических препаратов и усиление бронхолитиков, иммуносупрессоров, сердечных гликозидов, индометацина.

Принципы оптимизации иммуносупрессорной терапии

Для оптимизации иммуносупрессорной терапии необходимы следующие показания:

1) Подтвержденный диагноз аутоиммунного заболевания; прогрессирующее течение; неблагоприятный прогноз; ситуация, когда другие терапевтические возможности исчерпаны; резистентность к глюкокортикоидам (ГКС); противопоказания к ГКС, например, спленэктомия; развитие опасных для жизни осложнений аутоиммунных заболеваний – кровотечение, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура; преклонный возраст.

2) Учет противопоказаний: наличие инфекции, поскольку она может выйти из-под контроля; предстоящая операция, например, трансплантация почек; недостаточная функция костного мозга, поскольку опасен цитостатический эффект иммуносупрессоров; снижение функции почек и печени; беременность или желание иметь ребенка; грубые нарушения в иммунной системе.

3) Лечение начинают с больших доз. После достижения желаемого эффекта переходят на поддерживающий курс, составляющий 1/2–1/4 начальной дозы.

4) Эффективность лечения оценивают специфическими для каждой нозоформы параметрами и сроками введения. Например, для иммуносупрессорных антибиотиков он измеряется 3 днями, ферментов, алкалоидов – десятью, алкилирующих производных – 10–14 днями, для цитостатиков – 10–60 сут. Как правило, продолжительность иммуносупрессорной терапии составляет минимум 3 недели, хотя возможны исключения из этого правила, например, метотрексат не следует применять свыше 4 недель.

5) При обострении иммунных процессов дозы препаратов увеличивают.

6) Почти все иммуносупрессорные средства применяют в комплексе с гормонами. Для профилактики побочного действия последних пациентам дополнительно назначают гипотензивные,

мочегонные, антибактериальные средства, препараты калия. С учетом циркадного ритма эндогенных ГКС рекомендуется введение суточной дозы экзогенных ГКС в утренние часы, либо 2/3 дозы утром, а 1/3 дозы — днем. Возможно интермиттирующее назначение, при котором дозу препарата, предназначенную на два дня, назначают в однократном приеме через день.

7) Синдром отмены состоит в том, что отменить кортикостероиды после короткого 5–10-дневного цикла можно сразу. Если лечение проводилось несколько недель или месяцев, делают это постепенно, последовательно снижая потребление гормонов на 25–50% в день в течение нескольких суток. Последующее снижение должно быть еще более медленным, составляя по 2.5 мг препарата через 2–3 дня.

8) Иммуносупрессоры в зависимости от характера действия объединены в три группы. Первая — препараты для подавления иммунных реакций, их используют непосредственно перед введением антигена (миелосан, кортикостероиды, митомицин С, прокарбазин), вторая (антагонисты пурина, пиримидина, фолиевой кислоты, алкалоиды барвинка, актиномицин) состоит из средств, эффективных при введении через 1–2 дня после антигена, и третья (циклофосфан, антилимфоцитарная сыворотка, прокарбазин, производные иприта, митокломин, его аналоги, ионизирующее облучение) представляет собой медикаменты, активные как до, так и после введения антигенов.

9) Альтернативная иммунотерапия, состоящая из комбинации супрессоров и стимуляторов иммунитета (Земсков и др., 2016, 2017). Существенно, что эффективными комбинациями являются сочетания циклофосфана, кортикостероидов, облучения, антибиотиков с нуклеинатом натрия, деринатом, изопринозином, тимомиметиками имунофаном, тактивинном, тимогеном, миелопидом, циклофероном, галавитом, суперлимфом.

ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ

Иммуномодуляторы представляют собой лекарственные средства, стимулирующие исходно сниженные и подавляющие изначально активированные иммунные показатели (Инфекционные ..., 2013; Энциклопедия ..., 2013; Брико и др., 2013; Брико, Покровский, 2015; Земсков и др., 2017).

Побочные эффекты иммуномодуляторов

Цитокины, интерфероны, хотя и являются естественными регуляторами иммунной системы, далеко не безвредны. Особенно опасно введение их новорожденным детям. В модельных условиях показана индукция этими препаратами гломерулонефрита, очаговых некрозов и жировой дистрофии печени, лейкопении, тромбоцитопении,

синдрома протекания капилляров, гипертонии, аритмии, отеков, цианозов, подавление образования адреналина и др.

Левамизол индуцирует лейко- и лимфопении, поражение почек, расстройства зрения, аллергию. Лабораторным критерием прекращения лечения является остановка прироста Т-клеток. Если после приема первых 300 мг препарата не произошло увеличение количества Т-клеток, то дальнейшая терапия не целесообразна. Причем обязательно еженедельное определение количества лейкоцитов и лимфоцитов у больных.

Миелопид. При передозировке препарата (более 12 мг внутривенно) возможны головокружение, подташнивание, подъем температуры. При подкожном использовании возможна местная реакция, но она не носит аллергического характера. Применение миелопида противопоказано беременным при наличии резус-конфликта.

Нуклеинат натрия. Экспериментально показана его способность утяжелять острые бактериальные инфекции, когда препарат в оптимальной концентрации оказывается в организме на одной территории с возбудителем. Поэтому для профилактики лицам с острыми инфекциями желательна его комбинация с антибактериальными препаратами.

Полисахаридные препараты индуцируют у больных головную боль, артралгию, миалгию, повышение температуры до 39–40°C, невралгические расстройства.

Тимусные производные. У 20–30% пациентов после их введения возникают кратковременные гипертермические реакции, покраснение в месте инъекции. В нативных препаратах могут обнаруживаться неучтенные ростовые факторы, что служит противопоказанием для их использования беременными женщинами. Применение модуляторов рекомендуется в вечерние часы.

Гемодез при инфузии с повышенной скоростью вызывает гипертонию, тахикардию, затруднение дыхания. Противопоказан при инсультах, нефритах, сердечной декомпенсации и для новорожденных.

Другие препараты. Метилурацил может индуцировать аллергию, головные боли и головокружение, а оротат калия и пентоксил — аллергические реакции и дерматозы. Трихопол (метронидазол) противопоказан беременным, при заболеваниях ЦНС, вызывает тошноту, рвоту, головные боли, крапивницу, лейкопению.

Энтеральные сорбенты при передозировке нарушают процессы всасывания, у здоровых людей вызывают транзиторную лимфопению, авитаминозы, связывают ферменты, лекарственные препараты, тормозят перистальтику кишечника, увеличивают выход азота с фекалиями.

Низкоинтенсивное лазерное излучение изменяет морфологический состав периферической крови, вызывая ретикулез, эозинофилез, базофилез, нейтрофилез, лимфоцитоз, ускорение выхода клеток крови из депо.

Плазмаферез через 3–4 сеанса обуславливает “иммунную нишу”, проявляющуюся во временном выраженном подавлении иммунной реактивности, что устраняется при дополнительном назначении больным фармакологических иммунокорректоров.

Принципы оптимизации применения иммуномодуляторов

Оценка иммунного статуса и наличия иммунопатологических синдромов у больного характеризуется рядом ключевых моментов:

1) Совмещение мишеней иммуномодулятора с сигнальными тестами патологии у пациента (формула мишеней иммунокоррекции (ФМИ) с формулой расстройств иммунной системы (ФРИС));

2) Учет клинического использования иммуномодулятора в лечении заболеваний другими исследователями;

3) Соблюдение регламента введения, показаний и противопоказаний препарата;

4) Применение модулятора не самостоятельное, а на фоне традиционного лечения заболеваний;

5) Моноиммуномодуляторы назначают больным при низкой эффективности традиционного лечения и затяжном течении заболеваний, атипичных температурных реакциях, 2–3 степени дефицита иммунных параметров, слабой нормализации рутинных лабораторных показателей;

6) Комбинацию иммуномодуляторов рекомендуют при разнонаправленной иммунопатологии, при хроническом более 3 месяцев рецидивирующем течении заболевания, выраженном синдроме интоксикации с обменными нарушениями, вторичными осложнениями, например, глистной инвазией и др., безуспешном использовании моноиммуномодуляторов в течение месяца;

7) Альтернативную иммунотерапию, представляющую сочетание супрессоров и стимуляторов иммунитета, используют у больных со стимуляцией 2–3 степени по трем–четырем параметрам иммунного статуса, при высоких титрах аутоантител против антигенов внутренних органов и наличии диагностированных аутоиммунных заболеваний;

8) Комплексную, при более трех воздействиях, иммунотерапию применяют при наличии у пациента поливалентных метаболических, иммунных расстройств, низкой активности комбинированной двухкомпонентной коррекции;

9) Активную и пассивную адьювантную иммунотерапию, состоящую в одновременном назначении больным вакцин, сывороточных препаратов и модуляторов, назначают при затянувшемся хроническом течении инфекции с низкой активностью традиционного лечения;

10) Немедикаментозная иммунотерапия, как например, низкоинтенсивное лазерное излучение, плазмаферез, сорбционные методы, спленоперфузия, УФО, магнитотерапия, акупунктура, показана при недостаточной активности фармакологической иммунокоррекции в течение месяца и непереносимости модуляторов, отягощении патологического процесса;

11) Введение нуклеиновых препаратов, например, нуклеината натрия, дерината, ридостина, изопринозина эффективно при сочетании иммунных и регенеративно-дистрофических расстройств;

12) Сочетание системных и региональных иммуномодуляторов антиинфекционной защиты, к которым можно отнести тимомиметики, миелопептиды с суперлимфом, вифероном и др., оптимально при поражениях систем органов, сообщающихся с внешней средой;

13) Назначение больному вспомогательных биологически активных соединений. К ним относятся вещества, нормализующие процессы окислительного фосфорилирования – рибофлавин, никотинамид, активизирующие процессы гликолиза и пентозофосфатного цикла – тиамин и рибоксин, ускоряющие окисление свободных жирных кислот – пантотенат и карнитин, повышающие цикл трикарбоновых кислот и эффективность сопряжения гликолиза – биотин, тиамин и липоат. Здесь же можно указать различные антиоксиданты: токоферол, нафтохиноны, аскорбиновую кислоту, β-каротин, ретинол и полиненасыщенные аминокислоты: селен, фосфолипиды эссенциале и липостабил, энергизаторы менадион и рибоксин и др. (Земсков и др., 2016, 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании данных литературы и собственных исследований представлена информация о позитивных и побочных эффектах иммуностропных препаратов, вакцин, сывороток, иммунных глобулинов, иммуносупрессоров и модуляторов, способов оптимизации применения и профилактики осложнений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнялась в рамках Программы плановых исследований НИР в Национальном медицинском исследовательском центре хирургии им. А.В. Вишневского (Москва) и в Воронежском госу-

дарственном медицинском университете им. Н.Н. Бурденко.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Разрешения от каждого из включенных в исследование участников и информированное добровольное согласие не требуются, поскольку пациенты подвергались исследованиям в плане оказания медицинской помощи, предусмотренной Минздравом России в условиях стационарного лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Брико Н.И., Зуева Л.П., Покровский В.И. и др.* Эпидемиология. Т. 2. М.: Мед. информ. агентство, 2013. 656 с.
- Брико Н.И., Покровский В.И.* Эпидемиология. Учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 368 с.
- Вакцины и вакцинация. Национальное руководство / Ред. В.В. Зверев, Р.М. Хаитов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 636 с.
- Земсков А.М., Есауленко И.Э., Черешнев В.А., Земсков В.М. и др.* Иммунология. Электронный учебник для студентов институтов и факультетов высшего медицинского образования с приложениями. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 265 авт. л.
- Земсков А.М., Есауленко И.Э., Черешнев В.А., Земсков В.М. и др.* Курс лекций по клинической иммунофизиологии. Воронеж: Ритм, 2017. 1048 с.
- Земсков А.М., Земсков В.М., Земскова В.А. и др.* Настольная книга клинического иммунолога "Теоретические, практические и прикладные аспекты клинической иммунологии на современном этапе". М.: Триада-Х, 2015. 704 с.
- Земсков А.М., Земсков В.М., Коротких И.Н. и др.* Иммунные расстройства и их коррекция при гнойно-воспалительных процессах. М.: Триада-Х, 2007. 159 с.
- Инфекционные болезни и эпидемиология. Учебник. 3-е изд., испр. и доп. / Ред. В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 1008 с.
- Кишкун А.А.* Иммунологические исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике. М.: МИА, 2009. 711 с.
- Петров Р.В., Хаитов Р.М.* Иммуногены и вакцины нового поколения. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 608 с.
- Руководство по клинической иммунологии, аллергологии, иммуногенетике и иммунофармакологии: (для врачей общеклинической практики). В 2 томах / Ред. В.И. Покровский. Тверь: Триада-Х, 2005. Т. 1. 517 с., Т. 2. 559 с.
- Шамшева О.В., Корсунский А.А., Учайкин В.Ф.* Вакцинопрофилактика: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 182 с.
- Энциклопедия иммунологии в 5 томах / Ред. А.М. Земсков, В.М. Земсков, В.А. Черешнев. М.: Триада-Х, 2013. 1962 с.
- Юшук Н.Д.* Эпидемиология инфекционных болезней. 3-е изд., перераб. и доп. Учебное пособие / Ред. Н.Д. Юшук и др. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 496 с.

Contradictions to Clinical Immunology. Useful and Harmful Immunotherapy Properties

V. M. Zemskov^{a, *}, A. M. Zemskov^b, V. V. Neymann^c,
K. N. Pron'ko^d, V. A. Zemskova^b, and V. S. Demidova^a

^a*Vishnevsky National Medical Surgery Research Center, Moscow, Russia*

^b*Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia*

^c*VRFD SA, Lugano, TICINO, Switzerland*

^d*Facecontrol Systems, Moscow, Russia*

*e-mail: arturrego@yandex.ru

Based on the literature data and our own research, the information on the positive and side effects of immunotropic preparations of vaccines, serums, immune globulins, immunosuppressors and modulators, ways to optimize their use, and prevent complications is presented.

Keywords: vaccines, serums, cytostatics, immunomodulators

УДК 571.27

ПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ КОРОТКИХ ПЕПТИДОВ НА НЕРВНУЮ СИСТЕМУ НАСЕКОМЫХ

© 2021 г. Н. И. Чалисова^{1, 2, *}, Г. А. Рыжак¹, О. М. Ивко¹

¹Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: ni_chalisova@mail.ru

Поступила в редакцию 07.01.2021 г.

После доработки 08.01.2021 г.

Принята к публикации 08.01.2021 г.

Актуальной задачей современной биологии и медицины является поиск биологически активных веществ, позволяющих направленно корректировать функциональную активность клеток, снижающуюся при различных патологических процессах. В обзоре анализируются нейропротекторные свойства коротких пептидов при исследовании условно-рефлекторной деятельности медоносной пчелы *Apis mellifera* L. Показано стимулирующее действие пептидов EDR, AEDG на кратковременную и долговременную память пчел. В экспериментах на мухах *Drosophila melanogaster* установлено, что пептид EDR нормализует локомоторную активность в модели болезни Паркинсона через уменьшение уровня экспрессии гена *limk 1*, а также восстанавливает краткосрочную память у мутанта *Agnt3*. Выявление стимулирующего влияния пептидов EDR и AEDG на функцию высших отделов центральной нервной системы насекомых создает базу тестирования препаратов для лечения патологических процессов в центральной нервной системе. Параллелизм нейропротекторного действия коротких пептидов у двух групп организмов – млекопитающих и насекомых – свидетельствует о существовании общего, древнейшего в эволюции механизма пептидной регуляции жизнедеятельности организма.

Ключевые слова: нейропротекция, короткие пептиды, насекомые, условный рефлекс

DOI: 10.31857/S0042132421030030

Одно из наиболее приоритетных направлений в современной биологии и медицине – изучение механизмов регулирования многоклеточных систем и сложного равновесного состояния между двумя основными физиологическими процессами – пролиферацией и апоптозом. В Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии разработана технология выделения ряда полипептидных комплексов из различных органов и тканей телят. Эти полипептиды оказывают тканеспецифическое действие, стимулируя клеточную пролиферацию в органотипической культуре соответствующей ткани (Чалисова и др., 2004; Закуцкий и др., 2006; Милютин и др., 2007; Рыжак и др., 2015).

Полипептидный препарат кортексин широко применяется в лечении нарушений функций головного мозга у людей разного возраста (Хавинсон и др., 2012). В основе молекулярного механизма действия кортексина лежит его способность активировать экспрессию генов, отвечающих за синтез нейротрофических факторов – мозговой нейротрофический фактор BDNF (brain-derived neurotrophic factor) и фактор роста нервов NGF (nerve

growth factor) (Хавинсон, Кветной, 2000; Рыжак и др., 2001; Умнов и др., 2014). На основе анализа аминокислотного состава полипептидного комплекса кортексина, выделенного из коры головного мозга, методом УЭЖХ-МС (ультраэффективная жидкостная хроматография-масс-спектрометрия) был выявлен и синтезирован трипептид EDR (Glu-Asp-Arg) (Хавинсон и др., 2012; Рыжак и др., 2015; Чернова и др., 2017; Kraskovskaya et al., 2017).

При анализе аминокислотного состава полипептидного комплекса эпифиза было установлено, что с наибольшей частотой в нем встречаются глутаминовая кислота (Glu), аспарагиновая кислота (Asp), аланин (Ala) и глицин (Gly). Из этих аминокислот был сконструирован и синтезирован тетрапептид AEDG (Ala-Glu-Asp-Gly), который впоследствии был выявлен в полипептидном комплексе эпифиза (Khavinson et al., 2017a). Установлено, что пептид AEDG обладает теми же биологическими эффектами, что и полипептидный комплекс эпифиза, но в меньших концентрациях (Хавинсон и др., 2012; Журкович и др., 2020). Эти пептиды оказывали стимулирующее

влияние на пролиферацию в органотипической культуре тканей головного мозга крыс (Рыжак и др., 2001; Закуцкий и др., 2006; Милютин и др., 2007; Хавинсон и др., 2015а).

Пероральное применение пептида EDR было эффективным для коррекции психоэмоционального состояния у мужчин пожилого возраста, что проявлялось в улучшении нейрофизиологических функций ЦНС и памяти (Балашова и др., 2008).

Выявлена эффективность перорального применения пептида EDR в сочетании с другими короткими пептидами у спортсменов. В проведенном исследовании по изучению влияния пептида EDR в комплексе с короткими пептидами на резервные возможности борцов, гребцов и спортсменов, занимающихся художественной гимнастикой, было установлено, что на фоне применения пептидных биорегуляторов, в том числе EDR, происходит оптимизация функций иммунной системы, показателей сердечно-сосудистой и антиоксидантной систем, увеличение длины теломера (Ивко, Трофимова, 2008). Кроме того, важным результатом применения EDR является повышение экспрессии стресс-протекторного гена белка теплового шока HSPA1A (Хавинсон и др., 2010).

Установлено, что короткие пептиды играют такую же важную роль в передаче биологической информации, как, например, аутокринные гормоны и нейропептиды. Применение достижений фундаментальной науки в медицине привело к пониманию того, что прогресс клинической медицины во многом зависит от медицины молекулярной, то есть от исследований, проводимых на уровне генов и биологически активных молекул (Хавинсон и др., 2004, 2014; Козина и др., 2008; Федореева и др., 2011, 2013). Один высокомолекулярный белок может быть гидролизован различными путями, что приводит к возникновению нескольких коротких пептидов. Этот механизм может производить пептиды с биологическими свойствами, отличными от исходной макромолекулы (Хавинсон, Анисимов, 2003). Короткие пептиды — сигнальные молекулы, способные взаимодействовать с ДНК и гистонами, эпигенетически регулировать экспрессию генов и синтез белков, обеспечивая поддержание гомеостаза клеток, тканей и органов (Петрова, 2011; Fedoreeva et al., 2011; Russo et al., 2012; Khavinson et al., 2016). Установлено, что в диссоциированных культурах клеток коры головного мозга короткий пептид EDR снижал уровень апоптоза, оцениваемого по экспрессии белка p53 (Умнов и др., 2014). Короткие пептиды также стимулируют экспрессию серотонина в клетках коры головного мозга (Хавинсон и др., 2014).

Обнаружено нарушение морфологии дендритов, включая изменение количества шипиков, при развитии нейродегенеративных и психиче-

ских заболеваний. Эти нарушения наблюдаются в головном мозге людей при болезни Альцгеймера (БА) и болезни Хантингтона (БХ) и при моделировании БА и БХ на животных (Ostrovskaya et al., 2007; Zhang et al., 2008; Popugaeva, Bezprozvanny, 2013). Изучено влияние пептида EDR на формирование шипиков в нейронах стриатума в смешанной кортико-стриатной культуре, полученной от мышей линии YAC128 (модель БХ), и в нейронах гиппокампа в культуре, полученной от мышей линии C57BL/6 и линии PS1-M146V-KI (модель БА) (Khavinson et al., 2016; Vanyushin, Khavinson, 2016; Kraskovskaya et al., 2017). Установлено, что пептид EDR оказывал нейропротекторное действие в моделях БХ и БА. При исследовании влияния пептида EDR на количество шипиков в нейронах кортико-стриатной культуры мышей линии YAC128 было установлено, что пептид в концентрации 200 нг/мл достоверно увеличивал количество шипиков на 35%, по сравнению с этим же показателем у мышей с геном мутантного хантингтина человека на 21-е сутки культивирования без добавления пептида.

Механизм действия коротких пептидов показывает возможность взаимодействия пептида EDR с ДНК в растворе (Федореева и др., 2011). При этом пептид EDR оказывает дестабилизирующий эффект на вторичную структуру макромолекулы ДНК и компактизирующее влияние на объем ее молекулярного клубка. Таким образом, в случае контакта пептида EDR с молекулой ДНК в клетке возможно его влияние на функциональные и структурные свойства этой важнейшей биологической макромолекулы. Установлено, что сайт-специфическое взаимодействие пептидов с ДНК приводит к изменению характера экспрессии генов (Федореева и др., 2011; Умнов и др., 2014). Методом молекулярного моделирования были подобраны два предполагаемых сайта связывания для пептида EDR: d(CCTGCC)₂ и d(CCAGC)₂. С обоими сайтами пептид образует стабильные комплексы (Хавинсон и др., 2012; Khavinson et al., 2013). Дальнейшие исследования показали, что короткие пептиды могут не только сайт-специфично связываться с ДНК, но и распознавать их по статусу метилирования (Guryanov et al., 2006; Vanyushin, Khavinson, 2016). Такое специфическое связывание пептидов с ДНК, вероятно, может конкурировать со связыванием ДНК с разными ферментами, например с ДНК-метилтрансферазой. Один из наиболее вероятных механизмов активации генов пептидами — селективное связывание пептидов с промоторными сайтами генов. Таким образом, специфические пептид-ДНК взаимодействия могут эпигенетически контролировать генетические функции клетки.

Однако, чтобы ускорить процесс тестирования препаратов для лечения заболеваний нерв-

ной системы человека, в том числе нейродегенеративных заболеваний, целесообразно использовать простые модельные организмы с кратким жизненным циклом, не подпадающие под законодательные ограничения по защите позвоночных животных (Bonini, Fortini, 2003; Doronkin, Reiter, 2008; Pflieger, Reiter, 2008). В частности, насекомые могут использоваться в качестве модельного объекта изучения влияния пептидов на условно-рефлекторную деятельность вследствие того, что имеется биохимическая и физиологическая общность механизмов формирования памятного следа в нервной системе у позвоночных и беспозвоночных организмов.

Модельным объектом может служить медоносная пчела *Apis mellifera* L. Эти насекомые способны осуществлять высшие формы нервной деятельности: ассоциативное обучение, долговременное хранение в памяти приобретаемого в процессе пищедобывательной деятельности индивидуального опыта. При этом они используют те же рецепторные, сигнальные, трансдукционные механизмы, которые выявляются и у млекопитающих (Лопатина и др., 1997; Bitterman et al., 1983; Menzel, 2014; Asok et al., 2019). У пчелы в головном отделе располагаются парные грибовидные тела, представляющие у этих насекомых высшие отделы ЦНС, которые обеспечивают обонятельное обучение и память при пищевом подкреплении. В экспериментах на пчелах (Хавинсон и др., 2015б) исследовано образование пищевого условного рефлекса вытягивания хоботка на обонятельный раздражитель (методика PER – proboscis extension response conditioning). Был выработан условный рефлекс вытягивания хоботка при однократном сочетании запаха гвоздики с пищевым подкреплением 50%-ным раствором сахарозы. По окончании процедуры обучения исследованы: через 1 мин – кратковременная память и через 180 мин – долговременная память. За 30 мин до обучения пчелам экспериментальной группы дорзально в торакс вводили 2 мкл раствора EDR в ряду концентраций 10^{-11} – 10^{-4} М, а пчелам контрольной группы – 2 мкл физиологического раствора. Введение EDR в эффективной концентрации 10^{-7} М при исходном низком условно-рефлекторном уровне оказывало стимулирующее воздействие на сохранение в памяти выработанного условного рефлекса. Количество пчел, сохраняющих в кратковременной памяти условную реакцию, увеличивалось на 36% по сравнению с контрольной группой. На сохранение в долговременной памяти выработанного рефлекса у пчел с исходно низким условно-рефлекторным уровнем EDR не оказывал влияния. Однако при исходном высоком условно-рефлекторном уровне количество пчел, сохраняющих как в кратковременной, так и в долговременной памяти условно-рефлекторную реакцию, снижалось на 17–35%.

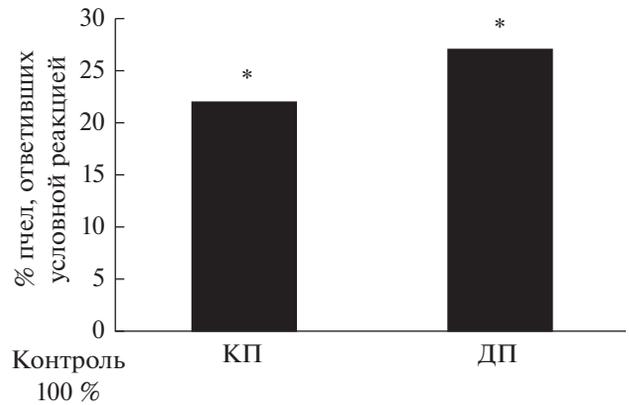


Рис. 1. Влияние инъекций пептида AEDG (10^{-5} М) на сохранение в кратковременной (КП) и долговременной (ДП) памяти выработанного пищевого обонятельного условного рефлекса у пчел. * – $p < 0.01$, по сравнению с контролем.

EDR, обладая выраженной модулирующей способностью, зависящей от исходного условно-рефлекторного фона, оказывается способным поддерживать функциональный баланс в нервной ткани высших отделов ЦНС пчел. Данные о влиянии EDR на когнитивную функцию у насекомых аналогичны данным о стимулирующем влиянии EDR на культуру ткани головного мозга млекопитающих (Рыжак и др., 2015). Таким образом, выявлен параллелизм действия EDR у двух групп организмов – влияние на пролиферативную активность клеток в культуре нервной ткани головного мозга крыс и на когнитивную деятельность медоносной пчелы.

Изучено также влияние тетрапептида AEDG на функциональные характеристики нервной ткани медоносной пчелы *Apis mellifera* L. (Чалисова и др., 2020). У пчел вырабатывался условный рефлекс на обонятельный раздражитель по стандартной методике. Воздействие AEDG в концентрации 10^{-5} М увеличивало сохранение условного рефлекса в кратковременной памяти на 20% и в долговременной памяти – на 27%, по сравнению с контролем (рис. 1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что тетрапептид AEDG влияет стимулирующим образом как на клеточную пролиферацию в подкорковых структурах головного мозга млекопитающих, так и на функцию высших отделов ЦНС, ответственных за когнитивную деятельность.

Нейропротекторное действие EDR было также исследовано у другого вида насекомых – мух *Drosophila melanogaster*. После завершения программы “геном человека” было выяснено, что 75% генов человека и дрозофилы обладают высокой степенью гомологии.

Для создания экспериментальной модели нейродегенеративных заболеваний важно наличие следующих диагностических признаков: 1) дефекты памяти и обучения, проявляющиеся в виде прогрессивной потери памяти; 2) локомоторные дефекты, которые выражены при болезни Паркинсона (БП) и БХ; 3) амилоидоподобные включения в нейронах, локализованные в цитоплазме при БА и БП и в ядре — при БХ. При экспериментах на дрозофилах имеется возможность уже на 5 сутки провести анализ локомоторных нарушений.

В качестве модели БП использовались дрозофилы с деменцией и тельцами Леви — мутант *Agnst3* локуса *agnostic*, несущего дефектный ген для LIM-киназы 1 (*LIMK-1*) — ключевого фермента ремоделирования актина. Для регистрации локомоторного поведения личинок дрозофил использовали автоматизированную установку, позволяющую одновременно регистрировать показатели у 20 мух. Для исследования активности движения осуществляли запись видеосигнала с камеры. В пищевую изюмно-дрожжевую среду экспериментальной группы мух добавляли EDR в наномолярных концентрациях. При действии EDR в 2 раза возрастала общая локомоторная активность личинок мух. При этом способность личинок ориентироваться в пространстве также повышалась в 1.9 раза. Таким образом, EDR модулирует локомоторную активность у дрозофилы *Agnst3* с выраженными симптомами БП. По результатам RealTime PCR-анализа выявлено, что у *Agnst3* изначально повышенные уровни экспрессии *limk1* и *rok* под действием EDR снижаются, причем уровень *limk1* почти возвращается к показателю нормы дикого типа. Полученные данные позволяют предположить, что пептид EDR оказывает свое влияние на локомоторное поведение и память через уменьшение уровня экспрессии *limk1*, а также восстанавливает краткосрочную память у мутанта *Agnst3* (Savvateeva-Popova et al., 2017; Khavinson et al., 2017b).

Необходимо отметить, что в последние десятилетия появился ряд работ о чувствительности человека и животных к ультрамалым концентрациям биологически активных веществ. Эффективность сверхмалых доз биологически активных веществ продемонстрирована в опытах на всевозможных биологических моделях (Бурлакова, 1999; Чалисова и др., 2002). Эти эффекты проявляются при концентрациях в диапазоне от 10^{-11} до 10^{-17} моль/л, то есть они на 4–6 порядков ниже минимальных наблюдаемых констант диссоциации лиганд-рецепторных комплексов, лежащих в диапазоне 10^{-11} – 10^{-10} М (Чалисова и др., 2004). Все эти данные свидетельствуют о том, что для развития эффекта важно не абсолютное количество действующего биологически активного вещества, а необходим сдвиг концентрации, спо-

собствующий развитию эффекта. При усложнении степени организации ткани требуются все меньшие концентрации биологически активных веществ. Поскольку активирующее память действие пептидов EDR и AEDG у пчел выявлено в диапазоне 10^{-10} – 10^{-7} М, а в коре головного мозга крыс — в диапазоне меньших концентраций 10^{-12} – 10^{-11} М, можно также полагать, что по мере усложнения строения и функций нервной ткани, она становится все более чувствительна к малым концентрациям эффективно действующих EDR и AEDG. Таким образом, выявлено, что короткие пептиды эффективны в наномолярных дозах при действии на нервную ткань как млекопитающих, так и насекомых. Создается база для разработки на их основе лекарственных ноотропных препаратов, причем с отсутствием побочных эффектов за счет эффективного действия ультрамалых концентраций.

Выявление стимулирующего влияния пептидов EDR и AEDG на функцию высших отделов ЦНС пчел создает базу тестирования препаратов для лечения патологических процессов в ЦНС. Проведенные исследования влияния пептидов на кратковременную и долговременную память у пчел и мух подчеркивают модулирующие свойства этих коротких пептидов. Так как EDR повышает локомоторную активность у дрозофилы *Agnst3* с выраженными симптомами болезни Паркинсона, это позволяет тестировать препараты для лечения данной патологии, используя модель на мухах.

Параллелизм действия пептидов у двух видов организмов, а также данные об эпигенетических возможностях действия пептидов в ультрамалых концентрациях свидетельствуют о том, что существует единый механизм пептидергической регуляции экспрессии генов и синтеза белков в живой природе (Хавинсон, 2020). Сходство действия пептида EDR на нервную систему млекопитающих и насекомых позволяет предположить существование общего, возможно, древнейшего в эволюции механизма пептидной регуляции жизнедеятельности организмов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Балашова С.Н., Жернаков Г.Л., Дудков А.В. Применение пептидных биорегуляторов у лиц пожилого возраста с нарушениями психоэмоционального

- состояния // Успехи геронтол. 2008. Т. 21. № 3. С. 448–452.
- Бурлакова Е.Е. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности // Рос. хим. журн. 1999. Т. XLIII. № 5. С. 3–11.
- Журкович И.К., Ковров Н.Г., Рыжак Г.А. и др. Идентификация коротких пептидов в составе полипептидных комплексов, выделенных из органов животных // Успехи соврем. биол. 2020. Т. 140. № 2. С. 140–148.
- Закуцкий А.Н., Чалисова Н.И., Рыжак Г.А. и др. Тканеспецифическое влияние биорегуляторных пептидов в органотипической культуре тканей молодых и старых крыс // Успехи геронтол. 2006. № 19. С. 93–96.
- Ивко О.М., Трофимова С.В. Спорт и долголетие. СПб.: Falcon Crest, 2008. 113 с.
- Козина Л.С., Арутюнян А.В., Стволинский С.Л. и др. Оценка биологической активности регуляторных пептидов в модельных экспериментах *in vitro* // Успехи геронтол. 2008. Т. 219. № 1. С. 68–73.
- Лопатина Н.Г., Рыжова И.В., Чеснокова Е.Г. и др. Рецепторы L-глутамата в центральной нервной системе медоносной пчелы *Apis mellifera* и их роль в процессе формирования условного рефлекса и следов памяти // Журн. эвол. биохим. физиол. 1997. Т. 33. № 6. С. 506–512.
- Милютин Ю.П., Козина Л.С., Арутюнян А.А. и др. Влияние пептидных препаратов эпифиза на пролиферативные процессы в органотипической культуре преоптической области гипоталамуса // Успехи геронтол. 2007. Т. 20. № 4. С. 61–63.
- Петрова Е.С. Виментин и глиальный фибриллярный кислый белок в клетках эктопических нейротрансплантатов неокортекса крыс // Морфология. 2011. Т. 139. № 2. С. 22–26.
- Рыжак Г.А., Малинин В.В., Платонова Т.Н. Кортексин и регуляция функций головного мозга. СПб.: Фолиант, 2001. 158 с.
- Рыжак А.П., Чалисова Н.И., Линькова Н.С. и др. Пептидная регуляция клеточного обновления в культурах тканей почек молодых и старых животных // Клет. технол. биол. мед. 2015. № 1. С. 10–14.
- Умнов Р.С., Линькова Н.С., Хавинсон В.Х. Пептиды стимулируют экспрессию сигнальных молекул в культурах клеток нейронов животных разного возраста // Клет. технол. биол. мед. 2014. № 2. С. 123–126.
- Федорева Л.И., Киреев И.И., Хавинсон В.Х. и др. Проникновение коротких флуоресцентно-меченых пептидов в ядро клеток HeLa и специфическое взаимодействие пептидов с дезоксирибонуклеотидами и ДНК *in vitro* // Биохимия. 2011. Т. 76. № 11. С. 1505–1516.
- Федорева Л.И., Смирнова Т.А., Коломийцева Г.Я. и др. Взаимодействие коротких пептидов с FITC-мечеными гистонами пшеницы и их комплексами с дезоксирибонуклеотидами // Биохимия. 2013. Т. 78. № 2. С. 230–242.
- Хавинсон В.Х. Пептиды. Геном. Старение. М.: РАН, 2020. 58 с.
- Хавинсон В.Х., Кветной И.М. Пептидные биорегуляторы ингибируют апоптоз // Бюл. эксп. биол. мед. 2000. Т. 130. № 12. С. 657–659.
- Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. Пептидные биорегуляторы и старение. СПб.: Наука, 2003. 232 с.
- Хавинсон В.Х., Лежава Т.А., Малинин В.В. Влияние коротких пептидов на хроматин в лимфоцитах лиц старческого возраста // Бюл. эксп. биол. мед. 2004. Т. 137. № 1. С. 89–93.
- Хавинсон В.Х., Винер-Усманова И.А., Трофимова С.В. и др. Методика повышения резервных возможностей организма спортсменов высокой квалификации с помощью пептидных биорегуляторов. СПб.: СПбИБГ, 2010. 22 с.
- Хавинсон В.Х., Соловьев А.Ю., Жилинский Д.В. и др. Эпигенетические аспекты пептидной регуляции старения // Успехи геронтол. 2012. Т. 25. № 1. С. 11–16.
- Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Тарновская С.И. и др. Короткие пептиды стимулируют экспрессию серотонина в клетках коры головного мозга // Бюл. эксп. биол. мед. 2014. Т. 157. № 1. С. 89–93.
- Хавинсон В.Х., Лопатина Н.Г., Чалисова Н.И. и др. Влияние трипептида пинеалона на формирование условно-рефлекторной деятельности у медоносной пчелы // Фунд. иссл. 2015а. Т. 2. № 2. С. 491–496.
- Хавинсон В.Х., Чалисова Н.И., Линькова Н.С. и др. Зависимость тканеспецифического действия пептидов от их количественного аминокислотного состава // Фунд. иссл. 2015б. № 2. С. 497–503.
- Чалисова Н.И., Пеннийнен В.А., Ноздрачев А.Д. Стимулирующее действие малых доз ингибирующих веществ в органотипической культуре нервной и лимфоидной ткани // ДАН. 2002. Т. 383. № 2. С. 282–285.
- Чалисова Н.И., Пеннийнен В.А., Комашня А.В. и др. Действие малых доз БАВ на нервную и лимфоидную ткани, исследование методом органотипической культуры // Клин. патофизиол. 2004. № 1. С. 25–29.
- Чалисова Н.И., Лопатина Н.Г., Камышев Н.Г. и др. Стимулирующее влияние тетрапептида AEDG на морфологические и функциональные характеристики нервной ткани // Мол. мед. 2020. Т. 18. № 4. С. 47–54.
- Чернова И.А., Жилинский Д.В., Чалисова Н.И. и др. Выделение пептидов из ткани головного мозга // Хим.-фарм. журнал. 2017. Т. 51. № 6. С. 8–12.
- Asok A., Leroy F., Rayman J.B. et al. Molecular mechanisms of the memory trace // Tr. Neurosci. 2019. V. 42. № 1. P. 14–22.
- Bitterman M.E., Menzel R., Fietz A. et al. Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*) // J. Comp. Psychol. 1983. V. 97. № 2. P. 107–119.
- Bonini N.M., Fortini M.E. Human neurodegenerative disease modeling using *Drosophila* // Ann. Rev. Neurosci. 2003. V. 26. P. 627–656.
- Doronkin S., Reiter L.T. *Drosophila* orthologues to human disease genes: an update on progress // Prog. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol. 2008. V. 82. P. 1–32.

- Fedoreeva L.I., Kireev I.I., Khavinson V.Kh. et al.* Penetration of short fluorescence-labeled peptides into the nucleus in HeLa cells and *in vitro* specific interaction of the peptides with deoxyribooligonucleotides and DNA // *Biochemistry*. 2011. V. 76. № 11. P. 1210–1219.
- Guryanov S.A., Kirilina E.A., Khaidukov S.V. et al.* Fluorescently labeled differentiating myeloepitope-4: specific binding to and penetration into target cells // *Russ. J. Bioorganic. Chem.* 2006. V. 32. P. 517–520.
- Khavinson V.Kh., Soloviev A.Yu., Tarnovskaya S.I. et al.* Mechanism of biological activity of short peptides: cell penetration and epigenetic regulation of gene expression // *Biol. Bull. Rev.* 2013. V. 3. № 6. P. 451–455.
- Khavinson V.Kh., Lin'kova N.S., Tarnovskaya S.I.* Short peptides regulate gene expression // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. V. 162. № 2. P. 288–292.
- Khavinson V.K., Kopylov A.T., Vaskovsky B.V. et al.* Identification of peptide AEDG in the polypeptide complex of the pineal gland // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2017a. V. 164. № 1. P. 41–43.
- Khavinson V.Kh., Linkova N.S., Kukanova E.O. et al.* Neuroprotective effect of EDR peptide in mouse model of Huntington disease // *J. Neurol. Neurosci.* 2017b. V. 8. № 1. P. 1–11.
- Kraskovskaya N.A., Kukanova E.O., Linkova N.S. et al.* Tripeptides restore the number of neuronal spines under conditions of *in vitro* modeled Alzheimer's disease // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2017. V. 163. № 4. P. 550–553.
- Menzel R.* The insect mushroom body, an experience-dependent recording device // *J. Physiol. Apis.* 2014. V. 108. № 2–3. P. 84–95.
- Ostrovskaya R.U., Gruden M.A., Bobkova N.A.* The nootropic and neuroprotective proline-containing dipeptide noopept restores spatial memory and increases immunoreactivity to amyloid in an Alzheimer's disease model // *J. Psychopharmacol.* 2007. V. 6. P. 611–619.
- Pfleger C.M., Reiter L.T.* Recent efforts to model human diseases *in vivo* in *Drosophila* // *Fly (Austin)*. 2008. V. 2. № 3. P. 129–132.
- Popugaeva E., Bezprozvanny I.* Role of endoplasmic reticulum Ca²⁺ signaling in the pathogenesis of Alzheimer disease // *Front. Mol. Neurosci.* 2013. V. 6. P. 1–7.
- Russo L.C., Asega A.F., Castro L.M. et al.* Natural intracellular peptides can modulate the interactions of mouse brain proteins and thimet oligopeptidase with 14-3-3 ϵ and calmodulin // *Proteomics*. 2012. V. 12. № 17. P. 2641–2655.
- Savvateeva-Popova E.V., Zhuravlev A.V., Brázda V. et al.* *Drosophila* model for the analysis of genesis of LIM-kinase 1-dependent Williams–Beuren syndrome cognitive phenotypes: INDELS, transposable elements of the Tc1/mariner superfamily and microRNAs // *Front. Genet.* 2017. V. 8. P. 1–13.
- Vanyushin B.F., Khavinson V.Kh.* Short biologically active peptides as epigenetic modulators of gene activity // *Epigenetics – a different way of looking at genetics* / Eds W. Doerfler, P. Böhm. Switzerland: Springer International Publishing, 2016. P. 69–90.
- Zhang H., Li Q., Graham R.K. et al.* Full length mutant huntingtin is required for altered Ca²⁺ signaling and apoptosis of striatal neurons in the YAC mouse model of Huntington's disease // *Neurobiol. Dis.* 2008. V. 31. P. 80–88.

Protective Effect of Short Peptides on the Insect Nervous System

N. I. Chalisova^{a, b, *}, G. A. Ryzhak^a, and O. M. Ivko^a

^a*Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint Petersburg, Russia*

^b*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia*

*e-mail: ni_chalisova@mail.ru

The actual task of modern biology and medicine is a study of the biologically active substances, which can correct the functional cellular activity, decreasing by the different pathologic processes. The neuroprotective properties of short peptides are analyzed in the review by the study of the conditioned reflex in honey-bee *Apis mellifera* L. EDR, AEDG peptides stimulated their short-term and long-term memory. EDR peptide increases also the locomotor activity in fly *Drosophila melanogaster* with model of Parkinson disease for a decrease of gene *limk1* expression level, and also recovers the short-term memory in *Agnst3* mutant. The discovery of EDR and AEDG peptides stimulating effect on the function of the central nervous system set a base for the quick testing of the preparation for the treatment of the central nervous system pathology. The parallelism of neuroprotective effect in two animal groups – mammalian and insects, suggested about the being of global, possibly most ancient, mechanism of the peptide regulation of organism life activities.

Keywords: neuroprotection, short peptides, insects, conditioned reflex

УДК 576.895.421.2:57.4.3.9

АДАПТИВНЫЕ ЧЕРТЫ БИОЛОГИИ БЛИЗКИХ ВИДОВ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ (НА ПРИМЕРЕ ТАЕЖНОГО *Ixodes persulcatus* Sch. 1930 И ЕВРОПЕЙСКОГО ЛЕСНОГО *Ixodes ricinus* L. 1758)

© 2021 г. Э. И. Коренберг¹ *, М. Б. Сироткин¹ **, Ю. В. Ковалевский¹

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

*e-mail: edkorenberg@yandex.ru

**e-mail: m.sirotkin87@gmail.com

Поступила в редакцию 30.11.2020 г.

После доработки 30.11.2020 г.

Принята к публикации 30.11.2020 г.

Представлен аналитический обзор литературы, позволяющий сравнить адаптивные возможности двух близких видов иксодовых клещей — *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*, основных хозяев и переносчиков наиболее распространенных и эпидемически значимых в Евразии облигатно-трансмиссивных природноочаговых инфекций — иксодовых клещевых боррелиозов и клещевого энцефалита. Рассмотрены исследования о влиянии климатических факторов на численность и распространение этих клещей, о формировании их фундаментальных экологических ниш, которые определяют становление границ их современных ареалов. Охарактеризованы видовые адаптивные черты *I. persulcatus* и *I. ricinus*, их реализация в различных географических условиях (реализованные экологические ниши), предпосылки формирования и изменения области симпатрии. Сделан вывод, что многообразие экосистем, в которых способны обитать клещи сравниваемых видов, ограничивает возможность получения в определенные сроки термальной константы развития, то есть суммы эффективных температур, необходимой для развития яиц, а также для метаморфозов личинок и нимф.

Ключевые слова: таежный клещ, европейский лесной клещ, иксодовые клещи, экологическая ниша, ареал

DOI: 10.31857/S0042132421030078

ВВЕДЕНИЕ

Во внетропической части Северного полушария максимальное значение в качестве основных переносчиков возбудителей наиболее распространенных облигатно-трансмиссивных инфекций человека имеют близкие виды иксодовых клещей: таежный (*Ixodes persulcatus*) и европейский лесной (*Ixodes ricinus*). В ходе многолетних исследований подробно изучены ареалы этих видов, их жизненный цикл, экологические особенности отдельных фаз развития, связь клещей с позвоночными — прокормителями. Циклы развития *I. persulcatus* и *I. ricinus* включают 4 фазы (яйцо, личинка, нимфа, имаго). Совокупность особей определенной фазы развития представляет собой гемипопуляцию, которая специфично реагирует на воздействие абиотических и биотических факторов. Все фазы (кроме яйца) в свою очередь состоят из стадий голодных, питающихся и напитавшихся особей. Общая продолжительность

цикла развития генерации в различных условиях составляет от 3 до 6 лет. Она определяется возможностями перерывов в развитии (диапаузами) при переходе из одной фазы в следующую. Основной сигнальный механизм, вызывающий задержку развития, — реакция клещей на длину дня (продолжительность фотопериода). Различают морфогенетическую и поведенческую диапаузу. Первая приводит к задержке метаморфоза яиц, перелинивания сытых личинок и нимф. Морфогенетическая диапауза у напитавшихся предимаго обоих видов определяется короткодневным световым режимом (около 6 ч). Более продолжительный световой день (18 ч) способствует их бездиапаузному развитию. Поведенческая диапауза возникает у личинок и нимф, и у имаго вскоре после окончания послелинчного доразвития. Она в большей степени определяется реакцией на уменьшение продолжительности дня и проявляется в задержке активации клещей. Продолжи-

тельность насыщения каждой из кровососущих стадий невелика: 3–6 сут у личинок и нимф, 6–10 сут у самок. Остальное время (около 98%) особи каждой генерации этих видов ведут паразитический образ жизни (Алфеев, 1948, 1954; Померанцев, 1950; Белозеров, 1976; Филиппова, 1977; Таежный клещ..., 1985; Алексеев, 1993; Балашов, 1998; Коренберг и др., 2013; Belozerov, 1982; Fujimoto, 1993; Gern, Humair, 2002; Randolph, 2004; Medlock et al., 2013; Gray et al., 2016).

В ожидании прокормителей активизировавшиеся особи основную часть времени проводят на приземной растительности, причем запаса питательных веществ у каждой личинки или нимфы для этого хватает всего на несколько дней, а у самок – примерно на 1.5–2 мес. (Хижинский, 1963; Таежный клещ..., 1985). После насыщения клещи отпадают от прокормителей и обитают в почвенной подстилке в том месте, где это произошло. Они малоподвижны и не могут активно выбирать более благоприятные условия. Биология *I. persulcatus* и *I. ricinus* раскрывает основные черты их приспособления к различным экосистемам. Однако причины, определяющие границы современных ареалов этих видов иксодовых клещей, еще слабо изучены. Абиотические факторы в любой точке ареалов должны удовлетворять потребности каждой фазы развития клещей. Существующие представления об основных параметрах, определяющих распространение *I. persulcatus* и *I. ricinus* (Коренберг, 1979; Таежный клещ..., 1985; Попов, 2016), основаны на характеристиках занимаемой ими территории в целом, а не на потребностях разных этапов жизненного цикла в определенном количестве тепла и влаги.

Успешная адаптация каждого вида к огромному разнообразию экосистем на территории суши во многом определяется его фундаментальной экологической нишей. Это экологическое понятие, которым обозначают абстрактное многомерное пространство, ограниченное совокупностью адаптивных возможностей вида в целом. Оно может быть значительно шире, чем реализованная экологическая ниша, то есть адаптивные черты вида, проявляемые в конкретной экосистеме (Шилов, 1997; Северцов, 2013). По нашим представлениям, климатическая ниша отдельной популяции (Estrada-Peña, Venzal, 2007) – это компонент как фундаментальной, так и реализованной экологической ниши. Накопленные фактические данные позволяют наметить контуры экологических ниш клещей рассматриваемых видов. Их адаптивные возможности с таких позиций в сравнительном плане ранее не рассматривались.

Адаптации *I. persulcatus* и *I. ricinus* в основном осуществляются в двух главных направлениях: к биотическим и к абиотическим условиям, обеспечивающим цикл развития. Оба вида имеют

сходный широкий набор прокормителей, несколько различающийся в отдельных частях их ареалов. Основные прокормители предимагинальных фаз таежного и лесного клещей – мелкие лесные млекопитающие и наземно кормящиеся птицы. Наиболее обширный список видов-хозяев, включающий обе эти группы позвоночных, имеют нимфы. Имаго накармливаются чаще, чем нимфы, на более крупных диких и домашних животных (Филиппова, 1977; Таежный клещ..., 1985; Балашов, 1989, 1998; Коренберг и др., 2013). Ограничения в распространении отдельных видов иксодовых клещей обычно связаны не с отсутствием прокормителей, а с прямым воздействием неблагоприятных факторов внешней среды на их паразитические стадии жизненного цикла (Балашов, 1989). По многолетним репрезентативным данным, даже вблизи северной границы ареалов рассматриваемых видов численность мелких млекопитающих всегда достаточна для прокормления основной массы активизировавшихся личинок и нимф (Ивантер, 2018).

Цель настоящей работы – сравнительный анализ абиотических составляющих в фундаментальных экологических нишах двух близких видов иксодовых клещей (*I. persulcatus* и *I. ricinus*), позволяющих им существовать в различных географических условиях.

КРАТКИЙ ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ О ВЛИЯНИИ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЧИСЛЕННОСТЬ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ *I. persulcatus* И *I. ricinus*

Характеристике региональных и (или) местных ландшафтных особенностей и гигротермических условий существования таежного и лесного клещей посвящено множество работ (Лутта и др., 1959; Рубина, Бабенко, 1968; Даниел, 1987; Буренкова, 2012; Бугмырин и др., 2013; Zemskaia, 1984; Estrada-Peña, Venzal, 2007; Dautel et al., 2008; Gern et al., 2008; Daniel et al., 2015; Ehrmann et al., 2017; Rousseau et al., 2017). Были созданы математические модели, в большинстве которых авторы путем регрессионно-корреляционного анализа или иных статистических методов устанавливали степень связи между показателями температуры и (или) влажности воздуха в отдельные месяцы с численностью голодных имаго или нимф, а также с продолжительностью сезона их активности (Окулова, 1986; Коротков, Окулова, 1999; Никитин, Антонова, 2005; Коротков, 2009; Вшивкова и др., 2013; Осипова и др., 2017; Perret et al., 2000; Estrada-Peña et al., 2004; Dobson, Randolph, 2011; Hancock et al., 2011; Li et al., 2012; Sprong et al., 2012; Alonso-Carne et al., 2015; Korotkov et al., 2015; Bugmyrin et al., 2019; Ribeiro et al., 2019). Выявлено, что в определенном регионе длительность перио-

да активности и численность имаго таежного и лесного клещей связаны с особенностями весенне-летнего режима температуры и влажности воздуха в конкретном году (Окулова, 1986; Осипова и др., 2017; Korotkov et al., 2015). В Бельгии показатель численности голодных нимф *I. ricinus* в большей степени связывают со скоростью ветра в течение семи предшествующих дней (Li et al., 2012). Многие исследователи увязывают численность популяций клещей рассматриваемых видов с вегетационным индексом или с некоторыми другими климатическими параметрами (Попов, 2016; Randolph, 2004; Li et al., 2012; Sprong et al., 2012; Alkische et al., 2017; Ribeiro et al., 2019; Tronin et al., 2019). Так, путем применения статистических методов в Западной Палеарктике были выделены 9 регионов, в которых обитает *I. ricinus*. Они отличаются по минимальным и максимальным показателям температуры и количества осадков в разные периоды года (Estrada-Peña et al., 2006). Такой подход затрудняет выводы об общих требованиях вида к абиотическим условиям окружающей среды и о влиянии этих условий на популяции *I. persulcatus* и *I. ricinus* в разных частях их ареалов.

Влияние абиотических факторов на общий характер сезонной активности клещей ограничено во времени. Так, сезонный пик численности имаго *I. persulcatus*, независимо от показателей корреляции между обилием переносчиков и климатическими (погодными) параметрами, на протяжении всего ареала происходит во второй декаде мая—первой половине июня (Коренберг, Лебедева, 1974; Коренберг и др., 2013). Изменению границ ареалов *I. persulcatus* и *I. ricinus* посвящено множество публикаций (Беклемишев, 1970; Алексеев, 2006; Ясюкевич и др., 2009; Коренберг и др., 2013; Попов, 2016; Randolph, Rogers, 2000; Rogers, Randolph, 2006; Gray et al., 2009; Korenberg, 2009; Porretta et al., 2013; Voeckmann, Joyner, 2014; Alkische et al., 2017). В связи с глобальным потеплением климата данной проблеме уделено значительно большее внимание, чем анализу причин стабилизации ареалов этих видов. Основной предпосылкой расширения области распространения этих клещей считают повышение температуры воздуха на один или несколько градусов в том или ином регионе вблизи границ ареалов. Большинство исследователей, видимо, полагают, что это может привести к появлению в таких местах новых независимых, по терминологии В.Н. Беклемишева (Беклемишев, 1970), популяций клещей. Иногда потеплением объясняют расширение распространения клещей внутри ареалов (Ясюкевич и др., 2009; Ревич, 2014; Tokarevich et al., 2011; Bugmygin et al., 2012). Следует, однако, отличать расширение границ ареалов от их пульсации, свойственной животным многих видов (Ивантер, 2012). Кроме того, хорошо известны находки кле-

щей зачастую далеко от границ их ареалов (Коренберг, 1979). Прокормившихся нимф туда заносят птицы в период миграций (Алексеев и др., 2008а; Толстенков и др., 2009; Pedersen et al., 2020). Отдельные заносы клещей обычно не приводят к возникновению их независимых популяций на территориях, где их не было ранее, и не свидетельствуют о расширении ареалов. В экстразональных условиях иксодовые клещи дают хороший пример закона выравнивания среды, постулирующего, что решающее значение в распределении членистоногих имеет микроклимат конкретных местообитаний (Чернов, 1975).

Голодные *I. persulcatus* и *I. ricinus* активны при широком градиенте температур приземного слоя воздуха. Так, самки и личинки подстерегают прокормителей при прогреве воздуха от +2 до +30°C, нимфы — от +2 до +22°C. Относительная влажность окружающего их воздуха не должна длительно быть ниже примерно 60% (Сироткин, Коренберг, 2018). В лесных формациях она, как правило, выше, в связи с низким испарением. Возможность существенного влияния температурного режима воздуха на *I. persulcatus*, подстерегающих прокормителей, маловероятна даже вблизи северной границы ареала. В условиях жаркого климата решающим неблагоприятным фактором может быть продолжительное снижение относительной влажности приземного воздуха. Толерантность и резистентность голодных активных клещей к абиотическим факторам наземной среды в целом довольно высока и способствует расширению их ареалов.

Приведенные примеры корреляционно-статистического анализа — наиболее распространенный подход к выявлению динамики численности и распределения клещей внутри ареала. Его основной недостаток в том, что анализу подвергались не главные показатели, необходимые для существования клещей. Поэтому экологически непродуктивными представляются попытки выявления зависимости между вероятным изменением границ ареалов пастбищно-подстерегающих клещей или численностью их популяций внутри ареала, с одной стороны, и динамикой метеорологических показателей состояния воздуха за определенные периоды, с другой стороны. На наш взгляд, распространение клещей определяет не температурный режим воздуха, а количество тепла, необходимое для их развития.

ФОРМИРОВАНИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НИШ И СОВРЕМЕННЫХ АРЕАЛОВ *I. persulcatus* И *I. ricinus*

Из-за почти полного отсутствия палеонтологических данных представления о палеогенезе клещей группы *I. persulcatus/I. ricinus* в основном базируются на палеогеографии наиболее харак-

терных для них биоценозов (типов лесов). Полагают, что существовала единая древняя чрезвычайно широко распространенная транспалеарктическая бореальная предковая форма, от которой ведут начало все виды данной группы. Современные виды, включая *I. persulcatus*, вероятно, появились уже в конце плиоцена—начале голоцена (Коренберг, 1979, 1996; Балашов, 1989, 1998, 2009; Коренберг и др., 2013; Филиппова, 2017). Формирование экологической валентности *I. persulcatus*, то есть его фундаментальной экологической ниши, предположительно происходило в плиоцене в лесных биоценозах, схожих с современными реликтовыми лесами уссурийского типа и в черновой тайге гор Южного Приморья, Южной Сибири и Корейского полуострова (Филиппова, 2017) в относительно холодный период. Он сопровождался вычленением новых климатических зон, увеличением их числа, обострением межзональных климатических контрастов (Марков, 1960). Таежная растительность местами постепенно вытеснялась листопадными формациями. В начале голоцена среднегодовая температура могла быть выше современной на несколько градусов, а годовая сумма осадков несколько меньше, чем в настоящее время (Борисова, 2014). Таким образом, широкая экологическая ниша *I. persulcatus* сформировалась в период формообразования вида в процессе его адаптации к разнообразным ландшафтно-климатическим условиям среды. Это позволило виду в голоцене постепенно расширять ареал в северо-западном направлении. Судя по обнаруженным сравнительно недавно популяциям этого вида в экстразональных условиях северного побережья Ботнического залива Швеции (Jaenson et al., 2016), такая экспансия продолжается и в настоящее время.

Для *I. persulcatus* характерна облигатная поведенческая диапауза взрослых голодных клещей, которая не связана с фотопериодической регуляцией. Такую диапаузу, по всей видимости, можно считать генетически детерминированной видовой характеристикой. Она могла возникнуть в процессе отбора и окончательного формирования фундаментальной экологической ниши *I. persulcatus*, а не вторично по отношению к сезонным адаптациям таежного клеща, которые регулируются фотопериодом (Таежный клещ..., 1985). Это могло произойти в довольно жестких климатических условиях, в которых сытым самкам и яйцам не удавалось перезимовать. Сейчас *I. persulcatus* имеет обширный поясный бореальный евразийский ареал, большая часть которого находится в пределах России. Он протянулся огромной полосой от Прибалтики до Тихого океана и частично включает Камчатку, Сахалин, а также ряд островов Курильской гряды, о. Хоккайдо, территории Северной Кореи и Северо-Восточного Китая. На всем протяжении зональной

тайги *I. persulcatus* приурочен к лесам южнотаежного и в меньшей степени среднетаежного типов, к зональным формациям растительности, расположенным между тайгой и лесостепью, включая хвойно-широколиственные и горнотаежные леса (Померанцев, 1950; Филиппова, 1977, 2017; Коренберг, 1979; Таежный клещ..., 1985; Балашов, 1998; Коренберг и др., 2013).

Границы ареала таежного клеща определяются в основном взаимодействием фото- и гиротермических факторов (Львов, Лебедев, 1974; Филиппова, 1977, 2017; Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1981; Таежный клещ..., 1985; Коренберг и др., 2013). Общие показатели тепло- и влагообеспеченности ареала таежного клеща колеблются в широких пределах. Сумма активных температур за период со среднесуточным температурным режимом выше +10°C, при которой возможно развитие яиц и, следовательно, существование независимых популяций *I. persulcatus*, составляет 410–3630°C (Таежный клещ..., 1985; Попов, 2016). Годовая сумма осадков в пределах ареала колеблется от 117 до 1245 мм (Попов, 2016). Коэффициент увлажнения — 0.15–0.6 (Коренберг, 1979; Таежный клещ..., 1985; Коренберг и др., 2013). Годичный гиротермический коэффициент, рассчитанный нами для ареала таежного клеща по данным И.О. Попова (Попов, 2016), доходит до 0.3–0.4 (Сироткин, Коренберг, 2018). Показатель континентальности климата уменьшается с востока на запад (Чернов, 1975). Рассчитанный по А.Г. Исаченко (Исаченко, 1971), он варьирует в пределах ареала таежного клеща от –10 до +32°C (Коренберг, 1979; Таежный клещ..., 1985). Фундаментальная экологическая ниша *I. persulcatus* позволяет его популяциям адаптироваться к описанному разнообразию климатических условий лесной зоны. Это касается возможности их существования не только в теплый период года при значительном градиенте абиотических факторов, но и во время зимовки при пониженной температуре почв вплоть до промерзания ее поверхности.

I. ricinus — представитель средиземноморско-европейской лесной фауны и ее автохтон (Померанцев, 1950; Филиппова, 1977). Как самостоятельный вид он, вероятно, формировался примерно 8–12 тыс. лет назад с появлением листопадных и смешанных лесов на юго-востоке Европы и Средиземноморья, на северных и северо-восточных склонах Большого Кавказа, когда природные условия этих регионов стали напоминать современные. Климатический режим, в котором происходило формирование его фундаментальной экологической ниши, был значительно мягче, чем в азиатской части Евразии. Наиболее благоприятные условия для существования популяций *I. ricinus*, очевидно, складывались во влажных и теплых лесах гирканского типа. По мере трансформации экосистем клещи

этого вида проникли на Восточно-Европейскую равнину (Коренберг, 1996; Филиппова, 2017). Хотя эта территория была менее теплообеспеченной и увлажненной, *I. ricinus* успешно освоил значительную часть евразийского континента. Этому благоприятствовала способность его сытых самок и яиц диапаузировать и, в отличие от *I. persulcatus*, перезимовывать, что также свидетельствует о формировании фундаментальной экологической ниши *I. ricinus* в основном в области с продолжительным теплым и мягким зимним периодом.

Современный ареал *I. ricinus* включает всю Западную, Центральную и Южную Европу, заходит узкой изолированной полосой на северную часть африканского континента и Ближний Восток. Этот вид широко распространен в умеренно гигрофильных и мезофильных равнинных и горных широколиственных, реже ксерофильных, лесах. По осветленным и более прогреваемым древостоям и вырубкам он местами заходит в европейские южнотаежные и даже среднетаежные леса. В благоприятных азональных биотопах лесной клещ может обитать в лесостепной зоне и даже в более открытых ландшафтах: на пастбищах, вересковых пустошах, зарослях кустарника (Померанцев, 1950; Филиппова, 1977, 2017; Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1981; Балашов, 1998; Вотяков и др., 2002; Randolph, 2004; Gray et al., 2009; Medlock et al., 2013). Сумма эффективных температур за период со среднесуточной температурой выше +10°C, обеспечивающая возможность существования независимых популяций *I. ricinus*, составляет 1460–3910°C. Годовая сумма осадков в пределах ареала колеблется от 3111 до 11534 мм (Попов, 2016); коэффициент увлажнения – 0.2–0.6 (Коренберг, Ковалевский, 1981). Годичный гигротермический коэффициент доходит до 0.2–0.6 (Сироткин, Коренберг, 2018), континентальность климата – не ниже +5°C. Эти показатели свидетельствуют о большем тепло- и влаголюбии *I. ricinus*, чем *I. persulcatus*. Фундаментальная экологическая ниша *I. ricinus* сформировалась, видимо, лишь в голоцене, причем в сухой и теплый бореальный период. В результате этот вид, по сравнению с *I. persulcatus*, имеет более узкую экологическую валентность. Он менее адаптирован к недостатку влаги и промерзанию почвы. Тем не менее, благодаря особенностям цикла развития *I. ricinus* оказался достаточно пластичным, что определило формирование его современного ареала.

Пределы адаптивных возможностей *I. persulcatus* и *I. ricinus* определяют фундаментальные экологические ниши этих видов и, следовательно, в значительной мере границы их ареалов. Вместе с тем, количество тепла мало влияет и фактически не лимитирует продолжительность жизни голодных особей клещей, активирующихся в разное время, а также длительность периода активности любой фазы жизненного цикла на этапе подсте-

регания прокормителей. Это одна из важнейших адаптивных особенностей экологических ниш, позволяющая существовать независимым популяциям клещей в различных условиях их обширных ареалов. Каждая популяция клещей существует на территории с конкретными географическими координатами, определяющими особенности сочетания общегеографических и климатических факторов. Поэтому в разных регионах интенсивность и даже направленность воздействия на популяции глобальных и локальных изменений этих условий могут оказаться различными (Коренберг и др., 2013).

Многообразие экосистем, в которых способны обитать *I. persulcatus* и *I. ricinus*, ограничивает возможность успешного развития яиц, а также метаморфоза напитавшихся личинок и нимф. Эта возможность определяется суммой эффективных температур, получившей в сельскохозяйственной и медицинской экологии по отношению к членистоногим название термальной константы развития (Простаков, Голуб, 2014). Успешное осуществление цикла развития возможно лишь при получении членистоногим на каждом из этапов необходимого для него суммарного количества тепла, то есть необходимой константы развития. Это важнейшие адаптивные характеристики фундаментальных экологических ниш иксодовых клещей (включая рассматриваемые близкие виды), сформировавшиеся, по всей видимости, в результате продолжительного стабилизирующего отбора. Ранее при анализе особенностей экологии и распространения иксодовых клещей термальные константы развития почти не использовались, поскольку не были рассчитаны. Как считал Ю.С. Балашов (Балашов, 1998), этому препятствовало длительное развитие клещей, перерывы на диапазоны и значительные амплитуды суточных температур почв в природных биотопах. Известна, однако, биологически слабо обоснованная попытка В.М. Попова (Попов, 1962) рассчитать термальные константы развития различных фаз *I. persulcatus*.

Приблизительные расчеты термальных констант развития произведены нами по опубликованным данным о продолжительности эмбриогенеза и метаморфоза напитавшихся клещей в лабораторных условиях при определенной температуре (Лутта и др., 1959; Балашов, 1998; Данчинова и др., 2018; Honzakova, 1971). Они соответствовали среднесуточной температуре почвы в оптимуме ареалов клещей сравниваемых видов (Исаченко, Шляпников, 1989; Иванов и др., 2018; Pokladníková et al., 2008) за период с ее прогревом не ниже порогового (+10°C) для развития (Таежный клещ..., 1985). Показатели количества тепла, необходимого для успешного перехода клещей в последовательные фазы цикла развития, рассчитанные нами, не зависят от того, где именно про-

исходит этот процесс (в лаборатории или в природе). По существу, это примерные термальные константы развития, сложившиеся при формировании видовых фундаментальных экологических ниш и определяющие основные адаптивные черты биологии видов и их особенности распространения. Термальная константа (сумма градусов) развития яиц и личинок *I. persulcatus* равна примерно 570–620°C, нимф – 800–920°C. Требования к теплообеспеченности у *I. ricinus* примерно в полтора раза выше. Клеши могут набрать необходимую для метаморфоза сумму тепла только в определенные календарные периоды, зависящие от конкретных климатикогеографических условий, причем число необходимых для этого дней также может существенно отличаться. Приведенные нами примерные показатели количества тепла (термальные константы развития), необходимые и достаточные для развития клещей, не претендуют на абсолютную точность. При появлении более детальных фактических данных и совершенствовании подходов к их обработке они, вероятно, будут корректироваться, но в настоящий момент мы рассматриваем эти показатели как отправные и во многом определяющие различия в жизненных схемах двух рассматриваемых близких видов иксодовых клещей.

ВИДОВЫЕ АДАПТИВНЫЕ ЧЕРТЫ *I. persulcatus* И *I. ricinus*

Адаптивные возможности *I. persulcatus* и *I. ricinus* направлены на воспроизводство поколений в различных территориальных условиях их обширных ареалов. Принципиально важна возможность получения клещами количества тепла, необходимого для завершения метаморфоза каждой фазы цикла развития в строго определенных сроках (Коренберг и др., 2013). В результате адаптаций у *I. persulcatus* общие периоды яйцекладки, развития яиц и метаморфоза напитающихся клещей каждой фазы растянуты во времени, а переход в следующую фазу происходит у всех особей в сжатые календарные сроки. У *I. ricinus* эти особенности цикла развития выражены в значительно меньшей степени. Диапаузы в циклах развития *I. persulcatus* и *I. ricinus* имеют важное адаптивное значение. Их основное приспособительное значение в том, чтобы эмбриогенез и метаморфоз напитающихся клещей, в результате которых они переходят в следующую фазу цикла развития, происходили в то время, когда эти процессы могут получить необходимое количество тепла. Сравнимые виды принципиально отличаются по характеру и значению свойственных им диапауз (Белозеров, 1976; Таежный клещ..., 1985; Gray, 1991).

Характерная для *I. persulcatus* облигатная поведенческая диапауза взрослых голодных клещей повсеместно проявляется в конце теплого сезона.

Она предотвращает появление напитающихся самок и их яйцекладок, обреченных на гибель из-за недостатка теплообеспеченности развития яиц в конце лета и из-за вымерзания зимой (Таежный клещ..., 1985; Балашов, 1998). У *I. ricinus* зимовка яиц и сытых самок в оптимальных условиях расширяет репродуктивные возможности их популяций в следующем сезоне.

Даты начала активации имаго *I. persulcatus* отличаются в разных регионах. В наиболее благоприятных условиях клещи могут появляться во второй декаде марта, а в более континентальных частях ареала – во второй декаде апреля и даже в мае. Процесс послезимовочной активации взрослых клещей в большинстве регионов продолжается 45–86 сут, но в первые 15–30 дней активизируется около половины всей имагинальной гемипопуляции. Это позволяет основной части самок начать период активности в сроки, благоприятные для дальнейшего развития яиц. Активация удлиняется в мягких климатических условиях – при меньшей континентальности климата. Продолжительность сезонной активности *I. persulcatus* уменьшается с увеличением широты местности. В разных частях ареала период подстерегания хозяина составляет 65–120 и более дней (Филиппова, 1977; Таежный клещ..., 1985; Коренберг и др., 2013; Korenberg, 2000). Тем не менее на всем ареале таежного клеща яйцекладка в основном приурочена к середине июня и первой–второй декаде июля (Белозеров, 1976; Филиппова, 1977; Балашов, 1998; Коренберг и др., 2013; Korenberg, 2000). Сроки начала активации голодных личинок *I. persulcatus* примерно совпадают с таковыми у имаго. В Притихоокеанской части ареала сезонный пик численности личинок наблюдается в третьей декаде мая–второй декаде июля, а в европейских регионах – в третьей декаде июля (Белозеров, 1976; Филиппова, 1977; Таежный клещ..., 1985; Балашов, 1998; Коренберг и др., 2013). Диапаузы личинок, напитающихся во второй половине лета, вызывают задержку метаморфоза, и они набирают необходимое для него количество тепла после зимовки, в следующем весенне-летнем сезоне. Как упоминалось выше, сигналом для перехода накормившихся клещей к диапаузе в конкретных географических условиях служит пороговая величина фотопериода. Способность напитающихся личинок диапаузировать вследствие сокращения длины дня, а также при максимальной продолжительности дня в экстремальных условиях короткого летнего сезона – это важнейшая адаптация таежного клеща, позволяющая этому виду существовать в разнообразных широтно-климатических условиях (Коротков, 2016).

Сроки начала активации и продолжительность периода активности нимфальной гемипопуляции *I. persulcatus* в целом сходны с таковыми у имаго, но иногда могут отставать на одну–две декады

(Таежный клещ..., 1985). Особенности этих процессов в конкретной местности в целом определяет степень континентальности климата. Судя по максимальным показателям обилия нимф на прокормителях, пик их численности наблюдается в июне—июле; в южных районах Приморья второй подъем численности может происходить осенью. Особенности регуляции морфогенетической диапаузы аналогичны таковым у личинок (Белозеров, 1976; Таежный клещ..., 1985; Балашов, 1998; Коренберг и др., 2013; Коротков, 2016). Таким образом, основная часть нимф перелинивает в имаго в июле—августе или августе—сентябре (Таежный клещ..., 1985).

Эти адаптации позволили таежному клещу распространиться на огромную часть Евразии с разнообразными климатическими условиями. Растянность периодов активации и встречи отдельных особей гемипопуляций с прокормителем в сочетании с синхронизацией перехода в следующую фазу жизненного цикла — это важные адаптации. Они направлены на получение термальных констант, необходимых для предпочтительного быстрого бездиапаузного развития даже в пессимальных частях ареала *I. persulcatus*.

У *I. ricinus* период активации и сезон активности всех фаз развития более растянут, чем у *I. persulcatus*, а напитавшиеся особи приступают к яйцекладке или метаморфозу, не проявляя особенно строгой зависимости от фотопериодической регуляции. В Центральноевропейско-Средиземноморской и Крымско-Кавказской частях ареала взрослые особи *I. ricinus*, очевидно, активируются уже в конце марта—начале апреля (Коренберг, Ковалевский, 1981; Schulz et al., 2014; Daniel et al., 2015). В климатических условиях Восточноевропейского региона их активация начинается обычно в апреле (Лутта и др., 1959; Медведев и др., 2016). Для имаго, личинок и нимф *I. ricinus* на большей части ареала характерны два пика сезонной активности, приуроченные к весне и осени. Особенно четко они наблюдаются в Центральной Европе с умеренным климатом и равномерным чередованием сезонов года. В оптимальных условиях общая продолжительность периода активности имаго-переносчиков доходит до 250—280 дней, причем срок жизни отдельной особи не превышает двух месяцев. Повсеместно (с некоторыми отклонениями) весенний пик численности нимф и имаго приурочен к маю—июню, а осенний — к сентябрю—началу октября в мягких климатических условиях и заканчивается в конце октября—ноябре. В северной части ареала осенний период активности укорачивается и оканчивается в основном в сентябре—начале октября (Балашов, 2009; Коренберг и др., 2013; MacLeod, 1939; Lees, Milne, 1951; Gray, 1991; Korenberg, 2000). Таким образом, яйцекладка может начинаться в апреле через 2—3 нед. после насыщения (на северо-востоке

ареала — в июне), а яйцекладки, отложенные осенью, диапаузируют (Белозеров, 1976) и при мягкой зиме сохраняются.

Сроки активации и особенности периода активности голодных личинок *I. ricinus* сходны с имаго: вылупление из яиц и развитие напитавшихся личинок повсеместно происходит с июля до начала октября. Морфогенетическая диапауза напитавшихся личинок на юге ареала возникает лишь в сентябре. В средней полосе с июля, а севернее — даже с июня у части особей наблюдается задержка развития (Белозеров, 1976; Балашов, 1998; Gray, 1991).

Сроки начала активации и периода активности нимф *I. ricinus* сходны с его другими фазами. Но метаморфоз напитавшихся нимф дольше, чем личинок. Поэтому диапауза у таких нимф возникает раньше, чем у личинок, причем нередко диапаузируют даже особи, питавшиеся весной и в начале лета. В результате перелинивание нимф во взрослых особей повсеместно приурочено к июлю—началу октября и протекает при том же температурном режиме, что и у личинок (Лутта и др., 1959; Белозеров, 1976; Балашов, 1998; Gray 1991). Итак, *I. ricinus* свойственна меньшая синхронизация этапов жизненного цикла, по сравнению с таежным клещом. В оптимуме ареала это обстоятельство не препятствует успешному получению тепла развивающимися особями практически на протяжении большей части года. Изложенное подтверждает, что видовые адаптивные особенности цикла развития *I. ricinus*, в отличие от *I. persulcatus*, сформировались в области с мягким зимним периодом, как компоненты его фундаментальной экологической ниши.

РЕАЛИЗОВАННЫЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ НИШИ *I. persulcatus* И *I. ricinus* В РАЗЛИЧНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Как отмечено во Введении, пределы адаптивных возможностей вида, особенно широко распространенного (его фундаментальная экологическая ниша), как правило, значительно шире, чем это требуется в конкретных географических условиях, то есть чем экологическая ниша, реализованная в данной местности. При районировании ареалов *I. persulcatus* и *I. ricinus* были выделены следующие части: Центральноевропейско-Средиземноморская, Крымско-Кавказская, Восточноевропейская, Западносибирская, Казахстанско-Среднеазиатская, Среднесибирско-Забайкальская, Хинганско-Приамурская, Притихоокеанская. Каждой части ареала присущи определенные климатические показатели (Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1981; Коренберг и др., 2013), и для каждой из них характерны несколько различающихся своей продолжительностью схем

цикла развития одной генерации клещей (Таежный клещ..., 1985). В самой общей форме можно констатировать, что они определяются календарной датой встречи особей разных гемипопуляций с прокормителем, от которой, в конечном счете, зависит, успевают яйцекладки и напитавшиеся клещи получить необходимое количество тепла для завершения метаморфоза без диапаузы или вынуждены диапаузировать. Конкретная доля особей разных гемипопуляций, развивающихся по определенной схеме, может изменяться по годам из-за колебаний численности прокормителей и погодных условий весенне-летнего периода. Эти процессы определяют возрастную структуру гемипопуляций. Она наиболее сложна в частях ареалов с суровым климатическим режимом и упрощается в более мягких условиях (Белозеров, 1976; Филиппова, 1977; Таежный клещ..., 1985; Балашов, 1998; Коренберг и др., 2013).

Особенности реализованных экологических ниш *I. persulcatus* могут быть продемонстрированы сравнением адаптивных черт популяций, например, в оптимуме (Притихоокеанская часть; Приморье) и на северо-западной периферии (Восточноевропейская часть; Карелия) его ареала. В Приморье *I. persulcatus* в основном обитает в хорошо прогреваемых горных темнохвойных и хвойно-широколиственных лесах. Процесс активации имаго может растягиваться примерно на четыре–пять и более месяцев: взрослые клещи появляются на растительности в первой–второй декаде апреля, последние – в третьей декаде августа, а при наиболее благоприятных условиях – и в первой декаде сентября–в октябре. Период активности достигает 140–160 дней (Коренберг, Ковалевский, 1981; Таежный клещ..., 1985), что по продолжительности сходно с таковым у *I. ricinus* на значительной части его ареала. Уже в конце лета–начале осени в условиях продолжительной теплообеспеченности и влажности рано напитавшиеся нимфы *I. persulcatus* могут превращаться в имаго, у которых, предположительно (Леонова и др., 1996), отсутствует осенняя поведенческая диапауза. Адаптивные механизмы цикла развития *I. persulcatus* определяют достаточно постоянные календарные сроки насыщения основной массы имаго (апрель–июнь) и эмбриогенеза даже в наиболее оптимальных условиях (см. выше). Яйцекладки самок, напитавшихся в более поздний период (с середины июля по август), могут развиваться примерно только от середины августа до середины сентября. В этот период сумма эффективных температур почвенного покрова выше +10°C, рассчитанная нами по данным (Исаченко, Шляпников, 1989; Иванов и др., 2018), не превышает 300–350°C. Это значительно меньше, чем количество тепла, необходимого для завершения эмбриогенеза. Самки, напитавшиеся в

этот период, или их яйцекладки гибнут, поскольку не способны зимовать.

Личинки и нимфы *I. persulcatus* подстерегают прокормителей в этом регионе с третьей декады марта–второй декады июля до сентября–начала октября (Таежный клещ..., 1985; Сироткин, Коренберг, 2018). Значительная часть активировавшихся предимаго успевает напитаться в июне–июле. Таким образом, четко очерчиваются сроки завершения их метаморфоза: конец июля–сентябрь у личинок и август–сентябрь у нимф (Белозеров, 1976; Таежный клещ..., 1985). Личинки и нимфы, прокормившиеся позднее (ориентировочно не более 20%), если учесть среднесуточный температурный режим почвы (Иванов и др., 2018), предположительно могут получить в сентябре–октябре в сумме не более 400–450°C. Такая теплообеспеченность недостаточна для успешного завершения развития напитавшихся особей, и поэтому они должны диапаузировать. В целом, сроки появления новой генерации таежного клеща в наиболее благоприятных условиях достаточно стабильны и слабо зависят от климатических изменений. Наши расчеты позволяют предполагать, что даже в оптимуме ареала *I. persulcatus* трехлетний цикл развития свойствен не всей генерации, как это принято считать (Таежный клещ..., 1985; Балашов и др., 1998; Коренберг и др., 2013). В Карельском регионе активация имаго *I. persulcatus* продолжается около месяца, а период активности не превышает 90–95 дней, то есть на 45–65 дней короче, чем в Приморье. Взрослые особи появляются на растительности со второй половины апреля с пиком в мае–начале июня (Лутта и др., 1959; Коренберг, Ковалевский, 1981; Таежный клещ..., 1985). Напитавшиеся в конце мая–начале июля самки имеют возможность производить яйцекладку в наиболее благоприятный для развития яиц период. При прогреве лесного почвенного покрова хвойно-мелколиственных лесов в мае–июле до 16–18°C развитие яиц успешно завершается примерно через 40 дней (Лутта и др., 1959). В более поздние сроки (середина августа–середина сентября) теплообеспеченность почв, рассчитанная по имеющимся данным (Лутта и др., 1959), не превышает 300°C, что недостаточно для окончания эмбриогенеза. Сроки активации и подстерегания хозяев личинками и нимфами в этом регионе близки: с мая по сентябрь (Лутта и др., 1959; Коренберг, Ковалевский, 1981; Таежный клещ..., 1985). Метаморфоз напитавшихся особей в основном происходит с июня по июль (Лутта и др., 1959). Более половины накормившихся личинок и нимф, очевидно, не успевают получить во второй половине августа–середине сентября необходимое количество тепла для перелинивания и диапаузируют (Коренберг, Ковалевский, 1977; Коренберг и др., 2016). В целом, адаптации *I. persulcatus* на северо-западной пери-

ферии его ареала направлены на обеспечение жизненного цикла вида в максимально ограничивающих временных рамках (май—июль), в которых могут по климатическим условиям проходить развитие яиц и метаморфоз напитавшихся личинок и нимф. Увеличение в этот период теплообеспеченности примерно до 650–700°C может повлечь за собой появление на новых территориях (вблизи границы ареала) независимых популяций *I. persulcatus*.

Для сравнения реализованных экологических ниш *I. ricinus* нами выбраны: регион в оптимуме ареала (Центральноевропейско-Средиземноморская часть; Моравия и Богемия) и его северо-восточная периферия (Восточноевропейская часть; Карелия). В широколиственных лесах Моравии и Богемии, как правило, наблюдается четко выраженный двухвершинный период активности имаго лесного клеща, при котором весенний пик обычно значительно выше по численности и продолжительнее, чем осенний. Мягкие климатические условия и длительный безморозный период, как отмечалось выше, благоприятствуют продолжительной (до 250–280 дней) активации взрослых особей *I. ricinus* (Белозеров, 1976; Korenberg, 2000; Daniel et al., 2015). Основная часть активировавшихся весной самок накармливается в мае и июне, а наиболее массовая яйцекладка (в том числе и зимовавших сытых самок) происходит в июне—августе (Белозеров, 1976). В более поздние сроки (сентябрь—октябрь) из-за ограниченного прогрева почвенного покрова (Исаченко, Шляпников, 1989; Pokladníková et al., 2008) теплообеспеченность не превышает 700°C, что недостаточно для завершения развития яиц. Поэтому в условиях, близких к оптимуму ареала *I. ricinus*, увеличение продолжительности периода, в котором возможно появление новой генерации, маловероятно. Видимо, примерно 10–15% поздно напитавшихся имаго и (или) их яйцекладок диапаузируют и перезимовывают.

Личинки *I. ricinus* активируются в апреле—мае и оканчивают сезон подстерегания прокормителей в ноябре (Коренберг, Ковалевский, 1981; Daniel et al., 2015). Значительная их часть накармливается в начале теплого периода года, а их метаморфоз происходит в основном в июле—августе (Белозеров, 1976; Daniel et al., 2015), когда полностью покрываются потребности в тепле. Около 10–15% особей, напитавшихся с конца августа по ноябрь, диапаузируют (Белозеров, 1976; Коренберг, Ковалевский, 1977; Коренберг и др., 2016). Сумма температур в этот период, рассчитанная по данным среднемесячного прогрева почвенного покрова (Исаченко, Шляпников, 1989; Pokladníková et al., 2008), не превышает 700°C и недостаточна для завершения их развития. Нимфы могут начать активизацию на 1–1.5 мес. ранее личинок, а период их активности в целом продолжается до

октября—ноября (Белозеров, 1976; Daniel et al., 2015). Основная часть этих особей перелинивает в имаго с мая по август (Белозеров, 1976). Диапаузируют не более 20% нимф, накормившихся позднее конца августа (Коренберг, Ковалевский, 1977; Коренберг и др., 2016) и лишенных возможности получить в это время необходимое количество тепла для метаморфоза.

В целом, даже в оптимуме ареала *I. ricinus* возможность появления новой генерации переносчиков и начало ее развития ограничено периодом с мая по август. Четко выраженный осенний пик численности переносчиков в совокупности с видовыми адаптивными особенностями позволяет предположить, что исключительно трехлетний жизненный цикл маловероятен даже в этом регионе.

На северо-востоке ареала (в Карельском регионе) взрослые *I. ricinus* активируются с начала мая. Завершение периода сезонной активности наблюдается в конце сентября, а его общая продолжительность не превышает 80–90 дней. Значительное количество самок прокармливается с мая по июнь (Лутта и др., 1959; Коренберг, Ковалевский, 1981), а яйцекладка происходит с мая по сентябрь. По мнению В.Н. Белозерова (Белозеров, 1976), самки откладывают диапаузирующие яйца на протяжении всего этого периода, и лишь в майских и июньских кладках часть яиц развивается без диапаузы. Эмбриогенез в основном приурочен к июню—августу (Лутта и др., 1959). В сентябре—октябре, в соответствии со среднемесячным прогревом почв, развивающиеся яйца могли бы получить не более 400–450°C по сумме. Поэтому диапаузируют значительная часть яйцекладок текущего года и напитавшиеся в начале осени самки. Позднее завершение эмбриогенеза заставляет до 90% вылупившихся в конце теплого периода личинок диапаузировать (Белозеров, 1976). Они активируются в мае следующего года. Личинки, появившиеся до первой декады июля, метаморфизируют в июле—августе (Лутта и др., 1959). Недостаточная теплообеспеченность в сентябре—октябре не позволяет личинкам метаморфозировать в текущем году, и около половины особей, накормившихся за весь весенне-летний сезон, диапаузируют (Коренберг, Ковалевский, 1977; Коренберг и др., 2016). Нимфы лесного клеща активны с мая по сентябрь. Около 60% особей, питающихся до начала июля, успевают перелинивать в имаго в текущем сезоне (июнь—август), когда полученное количество тепла еще покрывает их потребности. Нимфы, накормившиеся позднее, диапаузируют (Лутта и др., 1959; Коренберг и др., 2016).

Итак, даже на периферии ареала, адаптивные механизмы цикла развития лесного клеща обеспечивают возможность устойчивого воспроиз-

водства популяций. Это достигается путем вынесения эмбриогенеза и метаморфозов на период с июня по август, когда сумма эффективных температур почвенного покрова выше $+10^{\circ}\text{C}$ составляет около $800\text{--}900^{\circ}\text{C}$. Термальные константы развития во многом лимитируют возможность расширения ареала *I. ricinus* в северном направлении.

ПРЕДПОСЫЛКИ ФОРМИРОВАНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ ОБЛАСТИ СИМПАТРИИ *I. persulcatus* И *I. ricinus*

Для фауны южной части Палеарктики в целом отмечен плиоценово-плейстоценовый разрыв фаунистических комплексов и их поляризация на востоке и западе континента (Матюшкин, 1976). Предположительно (Коренберг, 1996), этот процесс затронул и предковую форму клещей комплекса *I. persulcatus*/*I. ricinus*, что способствовало завершению формирования двух близких видов: *I. persulcatus* — восточнее и *I. ricinus* — западнее дизъюнкции. В голоцене, благодаря проникновению с востока формаций южной и средней тайги, а с запада — смешанных лесов европейского типа, произошло встречное расширение ареалов клещей этих видов. В результате образовалась довольно обширная область симпатрии, которая в настоящее время охватывает почти половину европейской части ареала *I. persulcatus* (Токаревич и др., 1975; Филиппова, 1977, 1999; Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1981; Коренберг и др., 2013). Она характеризуется благоприятностью абиотических условий для клещей обоих видов и формируется благодаря частичному сходству их фундаментальных экологических ниш, причем решающее значение имеет возможность получения необходимой термальной константы развития. Область симпатрии довольно обширна (расположена приблизительно между 53° и 63° с.ш. 25° и 50° в.д.) и включает регионы с существенно отличающимися климатическими и ландшафтными особенностями. По мнению Ю.С. Короткова (Коротков, 2005), оптимальные условия для существования обоих видов складываются на территориях, расположенных между Латвией и центральными областями России. Причины формирования и стабилизации, а также вероятности изменения области симпатрии *I. persulcatus* и *I. ricinus* остаются дискуссионными. Несмотря на широкую фундаментальную экологическую нишу *I. persulcatus*, абиотические потребности, необходимые для реализации его жизненного цикла, прослеживаются довольно четко. Границы ареала этого вида стабилизируются без существенного продвижения в северном направлении возможностью получения необходимого количества тепла для завершения эмбриогенеза (Качанко, 1978). Расширение ареала *I. persulcatus* к югу, вероятно, лимитируется дефицитом влажности и избыточ-

но высокими показателями температурного режима поверхностных слоев почвенного покрова, препятствующими процессам эмбриогенеза и (или) метаморфоза напитавшихся особей. Северные границы ареала *I. ricinus* на материке не прерываются существенных изменений (Коренберг и др., 2013; Беспятова, Бугмырин, 2021). Их расширение на восток предположительно лимитируется недостатком теплообеспеченности для развития яиц и личинок во второй половине лета. Так, например, на территории с координатами $57^{\circ}17'$ с.ш. и $52^{\circ}45'$ в.д., по нашим расчетам, за этот период клещи могут получить в сумме не более 500°C . Кроме того, увеличивающаяся в Евразии с запада на восток континентальность климата, по всей видимости, не дает им возможности перезимовывать и приводит к вымерзанию поздно напитавшихся особей *I. ricinus* восточнее пункта с координатами $53^{\circ}27'$ с.ш. и $50^{\circ}27'$ в.д. (Коротков, 2005). В отдельных районах южной агроклиматической зоны Карелии отмечено даже некоторое уменьшение области симпатрии вследствие отсутствия *I. ricinus* на территории, где он обитал ранее (Беспятова, Бугмырин, 2021).

Изолированные популяции *I. persulcatus* существуют относительно недалеко от полярного круга, в экстразональных условиях на северном побережье Ботнического залива Швеции на широте более 65° (Jaenson et al., 2016), а популяции *I. ricinus* — на широте более 66° на западном побережье Норвегии, которое находится под влиянием течения Гольфстрим (Soleng et al., 2018; Hvidsten et al., 2020). Это показывает, до какого предела в более отдаленном будущем могут сдвинуться к северу основные границы ареалов этих клещей при продолжающемся глобальном потеплении, если оно приведет к изменению ландшафтно-зональных рубежей и гигротермических режимов почвы. Экспансия *I. persulcatus* в западном направлении может привести к увеличению зоны его симпатрии с *I. ricinus*.

Внутри зоны симпатрии наблюдается симбиотопия, то есть совместное обитание *I. persulcatus* и *I. ricinus* в различных лесных биотопах. Напитавшиеся клещи расселяются прокормителями, которые в значительной мере формируют симбиотопию. Судьба яйцекладок и сама возможность дальнейшего метаморфоза напитавшихся личинок и нимф во многом зависят от степени соответствия локальных микроклиматических условий конкретной экосистемы требованиям реализуемой экологической ниши клещей каждого вида. Поэтому соотношение численностей клещей этих видов существенно отличается не только в разных частях зоны симпатрии, но и в разных биотопах близких лесных массивов (Золотов и др., 1974; Кисленко, Коротков, 2002; Korenberg et al., 2001; Bugmyrin et al., 2013). Так, в южнотаежных лесах восточной части Ленинградской обл.

(59°27' с.ш., 32°02' в.д.) в хорошо дренированном лесном массиве [А] с преобладанием молодых и средневозрастных преимущественно травяных березовых насаждений с участием неморальных элементов численность имаго *I. persulcatus* на растительности в период пика составляла 0.9 на флаго-час, а *I. ricinus* — 3.4 (соотношение 1 к 3.7). В западной слабодренированной части этого массива [Б] доминируют еловые и сосновые леса разного возраста. Мелколиственные насаждения занимают меньшую площадь, чем в его восточной части. Численность *I. persulcatus* доходила здесь до 12.1 на флаго-час, а *I. ricinus* — до 0.3 (соотношение 1 к 0.02). В хорошо дренированном мелколиственном лесу [В] Ленинградской обл. (59°38' с.ш., 31°06' в.д.) соотношение показателей численности взрослых клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* было примерно таким же, как в лесу [А]; в его более заболоченной части [Г] (59°45' с.ш., 31°32' в.д.) на флаг за час в среднем приходилось до 16.6 имаго *I. persulcatus* и лишь 0.1 *I. ricinus* (соотношение 1 к 0.006) (Korenberg et al., 2001). Приведенные примеры показывают, что таежный клещ, по сравнению с *I. ricinus*, предпочитает более увлажненные биотопы [Б, Г], что выявлено и в Новгородской обл. (Федорова, 1977). Особенности симбиотопии клещей этих видов могут формироваться под влиянием различий их слабо изученных требований ко многим условиям среды, например, к концентрации тяжелых металлов (Алексеев и др., 2008б), химическому составу и рН почв и др.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Авторы стремились обратить внимание на целесообразность более тщательного изучения экологических аспектов, определяющих границы распространения иксодовых клещей, а также их распределения внутри ареалов на основе анализа видовых адаптивных возможностей и требований к среде обитания. Их совокупность ограничивает абстрактную фундаментальную экологическую нишу, которая формируется на этапе видообразования клещей. Ее адаптивные характеристики направлены на возможность получения в почве в строго определенных сроки количества тепла (термальных констант развития), необходимого для развития яиц, а также для метаморфоза напитающихся личинок и нимф, то есть для реализации каждого последовательного этапа жизненного цикла генерации (Коренберг и др., 2013). Адаптивные черты вида, проявляющиеся в конкретной экосистеме (сроки активации и встречи с хозяином голодных особей, синхронизация перехода к следующему этапу жизненного цикла, наличие диапаузы развития, их регуляция продолжительностью фотопериода и др. — иными словами реализованная экологическая ниша), обеспечивают возможность получения термаль-

ных констант развития в различных климатогеографических условиях. Реализованная экологическая ниша может быть значительно уже, чем позволяет фундаментальная.

Эти положения продемонстрированы на примере иксодовых клещей двух широко распространенных видов фауны Палеарктики: *I. persulcatus* и *I. ricinus*. Необходимо еще раз подчеркнуть, что приведенные выше приблизительные показатели термальных констант их развития подсчитаны нами по очень ограниченному экспериментальным данным. Они, несомненно, нуждаются в уточнении по результатам специальных лабораторных и полевых исследований как наиболее важные параметры экологической валентности этих частично симпатричных видов. Тем не менее, такой подход — сравнительный анализ фундаментальных и реализованных экологических ниш *I. persulcatus* и другого близкого ему, но менее изученного вида *I. pavlovskyi*, который обитает в хвойно-широколиственных и широколиственно-хвойных лесах некоторых регионов Сибири и Дальнего Востока (Филиппова, 2017), — уже на данном этапе может способствовать выявлению границ их симпатрии и особенностей симбиотопии. Вместе с тем, перечисленные выше виды рода *Ixodes* — это представители лесной фауны умеренного климатического пояса Евразии со сравнительно ограниченными колебаниями влажности и теплообеспеченности почвы. Поэтому их существование определяется, прежде всего, возможностью получения необходимого количества тепла для воспроизводства генерации на всех этапах цикла ее развития. Ключевые параметры фундаментальных экологических ниш видов этого обширного рода иксодовых клещей, которым свойствен пастбищно-подстерегающий тип паразитизма, обитающих в иных климатических поясах, видимо, могут быть с “противоположным знаком” или даже совершенно другими. В аридных областях, например, развитие клещей может лимитироваться не недостатком, а избыточностью тепла, а решающая константа развития окажется не термальной, а пороговым показателем влажности почвы.

Появление области вторичной симпатрии *I. persulcatus* и *I. ricinus* и возможные изменения ее пределов в общих чертах объяснимы совпадением территорий, на которых могут быть обеспечены термальные константы развития обоих видов. С этих позиций гораздо сложнее трактовать нюансы их симбиотопии, что свидетельствует о недостаточной современной изученности специфики всех адаптивных особенностей видовых комплексов фундаментальных экологических ниш. Тем не менее, возможность длительной симпатрии и симбиотопии не препятствовала смене в лесах Восточноевропейской равнины к настоящему времени примерно уже 1–2 тыс. поколений лес-

ного клеща (Филиппова, 2017). Это свидетельствует о достаточной изоляции рассматриваемых видов, несмотря на отсутствие морфологических, хромосомных и этологических барьеров для скрещивания, которое, как давно известно, случается в естественных условиях. Посткопуляционная генетическая несовместимость и репродуктивная изоляция иксодовых клещей близких видов достигается бесплодием гибридов (Балашов и др., 1998; Филиппова, 2002) и специфическими чертами их экологических ниш. Эти механизмы обеспечивают длительное существование иксодовых клещей рассматриваемых видов в морфологически и экологически неизменной (или мало изменившейся) форме, то есть их эволюционный стазис (Северцов, 2013).

Изменения в распространении *I. persulcatus* и *I. ricinus* и численности их популяций внутри ареалов в ближайшем и, тем более, в отдаленном будущем будут определяться силой и взаимодействием разнонаправленных естественных факторов при усиливающемся воздействии деятельности человека на природу. Под влиянием типично зональных, интразональных, экстразональных явлений и их сложных сочетаний эти изменения в разных регионах Евразии будут иметь различную интенсивность и даже направленность. В значительной мере они будут зависеть от характера, частоты, продолжительности и силы погодных аномалий, которые вызваны общей разбалансировкой глобальной климатической системы и в настоящее время трудно поддаются даже краткосрочному прогнозированию. В конечном счете, эти обстоятельства определяют региональные особенности функционирования паразитарных систем облигатно-трансмиссивных инфекций, связанных с иксодовыми клещами (Алексеев, 2006; Коренберг и др., 2013; Сироткин, Коренберг, 2019).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеев А.Н. Система клещ–возбудитель и ее эмерджентные свойства. СПб.: ЗИН РАН, 1993. 203 с.
- Алексеев А.Н. Влияние глобального изменения климата на кровососущих эктопаразитов и передаваемых ими возбудителей // Вестн. РАМН. 2006. № 3. С. 21–25.

- Алексеев А.Н., Дубинина Е.В., Мовилэ А.А. и др. Перелетные и синантропные птицы и паразитирующие на них кровососущие членистоногие как компоненты паразитарных систем очагов трансмиссивных инфекций // Ест. тех. науки. 2008а. № 6. С. 81–85.
- Алексеев А.Н., Дубинина Е.В., Юшкова О.В. Функционирование паразитарной системы клещ–возбудитель в условиях антропогенного пресса. СПб.: СЗТУ, 2008б. 147 с.
- Алфеев Н.И. О диапаузе у иксодовых клещей // Тр. Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова. 1948. Т. 44. С. 50–60.
- Алфеев Н.И. О длительности и формах диапаузы иксодовых клещей в связи с условиями среды // Тр. Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова. 1954. Т. 58. С. 121–138.
- Балашов Ю.С. Коэволюция иксодовых клещей и наземных позвоночных // Паразитология. 1989. Т. 23. № 6. С. 457–468.
- Балашов Ю.С. Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука, 1998. 287 с.
- Балашов Ю.С. Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных. СПб.: Наука, 2009. 357 с.
- Балашов Ю.С., Григорьева Л.А., Оливер Дж. Репродуктивная изоляция и межвидовая гибридизация клещей группы *Ixodes ricinus* – *I. persulcatus* (Acarina, Ixodidae) // Энтомол. обозр. 1998. Т. 27. № 3. С. 713–721.
- Беклемишев В.Н. Биоэкологические основы сравнительной паразитологии. М.: Наука, 1970. 502 с.
- Белозеров В.Н. Жизненные циклы и сезонные адаптации у иксодовых клещей (Acarina, Ixodidae). Чтения памяти Н.А. Холодковского. Л.: Наука, 1976. С. 53–101.
- Беснятова Л.А., Бугмырин С.В. О распространении европейского лесного клеща *Ixodes ricinus* (Acarina, Ixodidae) в республике Карелия (Россия) // Зоол. журн. 2021. Т. 100. (в печати).
- Борисова О.К. Ландшафтно-климатические изменения в голоцене // Изв. РАН. Серия географ. 2014. № 2. С. 5–20.
- Бугмырин С.В., Назарова Л.Е., Беснятова Л.А., Иешко Е.П. К вопросу о северной границе распространения *Ixodes persulcatus* (Acarina, Ixodidae) в Карелии // Изв. РАН. Сер. биол. 2013. № 2. С. 240–244.
- Буренкова Л.А. Итоги двадцатилетних наблюдений за динамикой численности популяции *Ixodes ricinus* (Acarina, Ixodidae) и изменение зараженности возбудителем клещевых боррелиозов на севере Калужской области // Мед. паразитол. паразитар. бол. лезни. 2012. № 4. С. 30–32.
- Вотяков В.И., Злобин В.И., Мишаева Н.П. Клещевые энцефалиты Евразии. Новосибирск: Наука, 2002. 438 с.
- Вшивкова О.Г., Комаров А.С., Фролов П.В., Хлебопрос Р.Г. Роль гетерогенности среды обитания при управлении численностью популяций иксодового клеща: клеточно-автоматная модель // Пробл. управл. 2013. № 4. С. 57–63.

- Даниел М. Изучение влияния микроклимата на развитие паразитических членистоногих // Паразитология. 1987. Т. 21. № 3. С. 429–436.
- Данчинова Г.Н., Яковичи Н.В., Ляпунов А.В. и др. Развитие популяции *Ixodes persulcatus* (Acarina, Ixodidae) в условиях лабораторного эксперимента // Паразитология. 2018. Т. 52. № 1. С. 70–78.
- Золотов П.Е., Паулкина М.К., Моравек К.Л. и др. Об экологии иксодовых клещей Ленинградской области // Паразитология. 1974. Т. 8. № 2. С. 116–122.
- Иванов А.В., Браун М., Татауров В.А. Сезонная и суточная динамика эмиссии CO₂ из почв кедровых лесов Южного Сихотэ-Алиня // Почвоведение. 2018. № 3. С. 297–303.
- Ивантер Э.В. Основы зоогеографии. Петрозаводск: Известия ПетрГУ, 2012. 500 с.
- Ивантер Э.В. Очерки популяционной экологии мелких млекопитающих на северной периферии ареала. М.: КМК, 2018. 770 с.
- Исаченко А.Г. Системы и ритмы зональности // Изв. ВГО. 1971. Т. 103. № 1. С. 10–26.
- Исаченко А.Г., Шляпников А.А. Ландшафты. Природа мира. М.: Мысль, 1989. 504 с.
- Качанко Н.И. Развитие иксодовых клещей у северных границ ареалов в Амурской области // Паразитология. 1978. Т. 12. № 3. С. 218–225.
- Кисленко Г.С., Коротков Ю.С. Лесной клещ *Ixodes ricinus* (Ixodidae) в очагах иксодовых клещевых боррелиозов северо-запада Подмоскovie // Паразитология. 2002. Т. 36. № 6. С. 447–456.
- Коренберг Э.И. Биохронологическая структура вида на примере таежного клеща. М.: Наука, 1979. 170 с.
- Коренберг Э.И. Таксономия, филогенетические связи в области формирования спирохет рода *Borrelia*, передающихся иксодовыми клещами // Успехи соврем. биол. 1996. Т. 116. № 4. С. 389–406.
- Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В. Общая схема циркуляции вируса клещевого энцефалита // Зоол. журн. 1977. Т. 7. № 10. С. 1467–1478.
- Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В. Районирование ареала клещевого энцефалита // Итоги науки и техники. Медицинская география Т. 11. / Ред. В.Ю. Литвин. М.: ВИНТИ, 1981. 235 с.
- Коренберг Э.И., Лебедева Н.Н. Географическая изменчивость и типы сезонной активности *Ixodes persulcatus* P. Sch. // Бюл. Моск. об-ва испыт. природы. 1974. Т. 79. № 4. С. 34–43.
- Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: Комментарий, 2013. 463 с.
- Коренберг Э.И., Сироткин М.Б., Ковалевский Ю.В. Общая схема циркуляции возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов // Зоол. журн. 2016. Т. 95. № 3. С. 283–299.
- Коротков Ю.С. Постепенная изменчивость паразитарной системы клещевого энцефалита // Вопр. вирусол. 2005. Т. 50. № 3. С. 52–56.
- Коротков Ю.С. Экология таежного клеща (*Ixodes persulcatus* Schulze, 1930) в условиях изменения климата Евразии: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб.: ЗИН РАН, 2009. 48 с.
- Коротков Ю.С. Географическая изменчивость морфогенетической диапаузы личинок и нимф таежного клеща *Ixodes persulcatus* (Acarina, Ixodidae) // Паразитология. 2016. Т. 50. № 1. С. 3–20.
- Коротков Ю.С., Окулова Н.М. Хронологическая структура численности таежного клеща в Приморском крае // Паразитология. 1999. Т. 33. № 3. С. 257–266.
- Леонова Г.Н., Майстровская О.С., Борисевич В.Б. Антигенемия у людей, инфицированных вирусом клещевого энцефалита // Вопр. вирусол. 1996. Т. 41. № 6. С. 260–263.
- Лутта А.С., Хейсин Е.М., Шульман Р.С. Иксодовые клещи КАССР и меры борьбы с ними. Петрозаводск: Карел. АССР, 1959. 68 с.
- Львов Д.К., Лебедев А.Д. Экология арбовирусов. М.: Медицина, 1974. 184 с.
- Марков К.К. Палеогеография. М.: МГУ, 1960. 268 с.
- Матюшкин Е.Н. Европейско-восточноазиатский разрыв ареалов наземных позвоночных // Зоол. журн. 1976. Т. 55. № 9. С. 1277–1290.
- Медведев С.Г., Шапарь А.О., Григорьева Л.Г. и др. Биологические риски развития агломераций Санкт-Петербурга и Ленинградской области // Уч. записки РГММУ. 2016. № 43. С. 223–235.
- Никитин А.Я., Антонова А.М. Учет, прогнозирование и регуляция численности таежного клеща в рекреационной зоне г. Иркутска. Иркутск: ИГУ, 2005. 101 с.
- Осипова Т.Н., Григорьева Л.А., Самойлова Е.П. и др. Влияние метеорологических факторов на активность особей таежного клеща (*Ixodes persulcatus* Schulze, Ixodidae) в Санкт-Петербурге и его окрестностях // Паразитология. 2017. Т. 51. № 2. С. 143–157.
- Окулова Н.М. Биологические взаимосвязи в лесных экосистемах (на примере природных очагов клещевого энцефалита). М.: Наука, 1986. 248 с.
- Померанцев Б.И. Иксодовые клещи (Ixodidae). Паукообразные. Т. 4 (2). Л.: АН СССР, 1950. 224 с.
- Попов В.М. Иксодовые клещи. Томск: ТГУ, 1962. 206 с.
- Попов И.О. Климатически обусловленные изменения аутоэкологических ареалов иксодовых клещей *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus* на территории России и стран ближнего зарубежья: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: РГАЗУ–МСХА, 2016. 24 с.
- Простаков Н.И., Голуб В.Б. Биоэкология. Воронеж: ВГУ, 2014. 337 с.
- Ревич Б.А. Изменение климата в Арктике – новый фактор риска для здоровья населения // Арктич. ведом. 2014. Т. 9. № 1. С. 92–99.
- Рубина М.А., Бабенко Л.В. Продолжительность развития (без диапаузы) личинок и нимф *Ixodes persulcatus* Sch. в природных условиях и факторы, ее определяющие // Паразитология. 1968. Т. 11. № 1. С. 10–17.
- Северцов А.С. Эволюционная экология позвоночных животных. М.: КМК, 2013. 345 с.

- Сироткин М.Б., Коренберг Э.И. Влияние абиотических факторов на разные этапы развития таежного (*Ixodes persulcatus*) и европейского лесного (*Ixodes ricinus*) клещей // Зоол. журн. 2018. Т. 97. № 4. С. 379–396.
- Сироткин М.Б., Коренберг Э.И. Влияние абиотических факторов на возбудителей инфекций, экологически связанных с иксодовыми клещами (на примере боррелий и вируса энцефалита) // Успехи соврем. биол. 2019. Т. 139. № 2. С. 126–146.
- Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение / Ред. Н.А. Филиппова. Л.: Наука, 1985. 416 с.
- Токаревич К.Н., Вершинский Б.В., Перфильев П.П. Очерки ландшафтной географии зооантропонозов. Европейский Север СССР. Л.: Наука, 1975. 168 с.
- Толстенков О.О., Алексеев А.Н., Дубинина Е.В. Пуходы-гематофаги (Insecta, Phthiraptera, Amblycera) и клещи (Acarina, Ixodidae) перелетных птиц Куршской косы // Поволж. экол. журн. 2009. № 4. С. 327–336.
- Федорова В.Г. Изменение численности иксодовых клещей в зонах мелиорации земель Новгородской области // Мед. паразитол. паразитар. болезни. 1977. № 6. С. 712–716.
- Филиппова Н.А. Фауна СССР. Паукообразные. Т. 4 (4). Л.: Наука, 1977. 396 с.
- Филиппова Н.А. Симпатрия близкородственных видов иксодовых клещей и ее возможная роль в паразитарных системах природных очагов трансмиссивных болезней // Паразитология. 1999. Т. 33. № 3. С. 223–241.
- Филиппова Н.А. Место морфологического барьера в механизмах репродуктивной изоляции, действующих в областях симпатрии близкородственных видов *Ixodes persulcatus* – *I. pavlovskiy* и *I. persulcatus* – *I. ricinus* (Ixodidae) // Паразитология. 2002. Т. 36. № 6. С. 257–468.
- Филиппова Н.А. История ареала у иксодовых клещей (Acarina, Ixodidae) как один из факторов формирования внутривидового разнообразия // Энтомол. обзор. 2017. Т. 96. № 1. С. 157–184.
- Хижинский П.Г. Активация, численность и продолжительность активной жизни клещей *Ixodes persulcatus* в лесах Красноярского края // Мед. паразитол. паразитар. болезни. 1963. № 1. С. 6–13.
- Шилов И.А. Экология. М.: Высшая школа, 1997. 512 с.
- Чернов Ю.И. Природная зональность и животный мир суши. М.: Мысль, 1975. 222 с.
- Ясюкевич В.В., Казакова Е.В., Попов И.О., Семенов С.М. Распространение клещей *Ixodes ricinus* L., 1758 и *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930 (Parasitiformes, Ixodidae) на территории России и соседних стран и наблюдаемые изменения климата // ДАН. 2009. Т. 427. № 5. С. 688–692.
- Alkishe A.A., Peterson A.T., Samy A.M. Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick *Ixodes ricinus* // PLoS One. 2017. V. 12 (12). P. 1–14.
- Alonso-Carne J., Garcia-Martin A., Estrada-Peña A. Modelling the phenological relationships of questing immature *Ixodes ricinus* (Ixodidae) using temperature and NDVI data // Zoonoses Publ. Health. 2015. V. 63. № 1. P. 1–13.
- Belozherov V.N. Diapause and biological rhythms in ticks: Physiology of ticks / Eds F.D. Obenchain, R. Gulun. Oxford: Pergamon Press, 1982. P. 469–500.
- Boeckmann M., Joyner T.A. Old health risks in new places? An ecological niche model for *I. ricinus* tick distribution in Europe under a changing climate // Health Place. 2014. V. 30. P. 70–77.
- Bugmyrin S., Hokkanen T.J., Romanova L. et al. *Ixodes persulcatus* (Schulze 1930) (Acarina: Ixodidae) in Eastern Finland // Entomol. Fennica. 2012. V. 22. № 4. P. 268–273.
- Bugmyrin S.V., Bespyatova L.A., Korotkov Y.S. et al. Distribution of *Ixodes ricinus* and *I. persulcatus* ticks in southern Karelia (Russia) // Ticks Tick-Borne Dis. 2013. V. 1–2. № 4. P. 57–62.
- Bugmyrin S.V., Bespyatova L.A., Korotkov Y.S. Long-term dynamics of *Ixodes persulcatus* (Acarina: Ixodidae) abundance in the north-west of its range (Karelia, Russia) // Exp. Appl. Acarol. 2019. V. 77. P. 229–240.
- Daniel M., Maly M., Danielova V. et al. Abiotic predictors and annual seasonal dynamics of *Ixodes ricinus*, in the major disease vector of central Europe // Paras. Vectors. 2015. V. 478. № 8. P. 1–12.
- Dautel H., Dippel C., Kammer D. et al. Winter activity of *Ixodes ricinus* in Berlin forest // Int. J. Med. Microbiol. 2008. V. 289. P. 50–54.
- Dobson A.D.M., Randolph S.E. Modelling the effects of recent changes in climate, host density and acaricide treatments on population dynamics of *Ixodes ricinus* in the UK // J. Appl. Ecol. 2011. V. 48. P. 1029–1037.
- Ehrmann S., Liira J., Gärtner S. et al. Environmental drivers of *Ixodes ricinus* abundance in forest fragments of rural European landscapes // BMC Ecol. 2017. V. 17 (1). P. 1–14.
- Estrada-Peña A., Venzal J.M. Climate niches of tick species in the Mediterranean region: modeling of occurrence data, distributional constraints, and impact of climate change // J. Med. Entomol. 2007. V. 44. P. 1130–1138.
- Estrada-Peña A., Martinez J.M., Acedo C.S. et al. Phenology of the tick, *Ixodes ricinus*, in its southern distribution range (central Spain) // Med. Veteran. Entomol. 2004. V. 18. P. 387–397.
- Estrada-Peña A., Venzal J.M., Sander-Acedo C. The tick *Ixodes ricinus*: distributions and climate preference in the western Palearctic // Med. Veteran. Entomol. 2006. V. 20. P. 189–197.
- Fujimoto K. Effect of photoperiod on the attachment and development of immature *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina: Ixodidae) // Jap. J. Sanit. Zool. 1993. V. 44. № 3. P. 271–277.
- Gern L., Humair P. Ecology of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Europe // Lyme borreliosis: biology, epidemiology and control / Eds J. Gray, O. Kahl, R.S. Lane, G. Stanek. N.Y.: CAB International, 2002. P. 149–174.

- Gern L., Cadenas M.F., Burri C. Influence of some climatic factor on *Ixodes ricinus* ticks studied along altitudinal gradients in two geographic regions in Switzerland // Int. J. Med. Microbiol. 2008. V. 298. P. 55–59.
- Gray J.S. The development and seasonal activity tick *Ixodes ricinus*: a vector of Lyme borreliosis // Rev. Med. Vet. Entomol. 1991. V. 79. № 6. P. 323–333.
- Gray J.S., Dautel H., Estrada-Peña A. et al. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe // Interdisc. Persp. Infect. Dis. 2009. № 2009. P. 1–12.
- Gray J.S., Kahl O., Lane R.S. et al. Diapause in ticks of the medically important *Ixodes ricinus* species complex // Ticks Tick-Borne Dis. 2016. № 7. P. 992–1003.
- Hancock P.A., Brackley R., Palmer S.C.F. Modelling the effect of temperature variation on the seasonal dynamics of *Ixodes ricinus* tick populations // Int. J. Parasitol. 2011. V. 41. P. 513–522.
- Hvidsten D., Frajford K., Gray J.S. et al. The distribution limit of the common tick, *Ixodes ricinus*, and some associated pathogens in north-western Europe // Ticks Tick-Borne Dis. 2020. V. 11. № 4. P. e101388.
- Honzakova E. Development of some species under standard laboratory conditions // Folia Parasitol. 1971. V. 118. P. 357–363.
- Jaenson T.G.T., Väriv K., Fröjdman I. et al. First evidence of established populations of the taiga tick *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) in Sweden // Paras. Vectors. 2016. V. 9 (337). P. 1–8.
- Korenberg E.I. Seasonal population dynamics of *Ixodes* tick and tick-borne encephalitis virus // Exp. Appl. Acarol. 2000. V. 24. P. 665–681.
- Korenberg E.I. Recent epidemiology of tick-borne encephalitis: an effect climate change? // Adv. Virus Res. 2009. V. 74. P. 123–144.
- Korenberg E.I., Kovalevskii Y.V., Livin M.L., Shchyogoleva T.V. The prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes persulcatus* and *I. ricinus* ticks and the zone of their sumpatry // Folia Parasitol. 2001. V. 48. P. 63–68.
- Korotkov Yu., Kozlova T., Kozlovskaya L. Observations of changes in abundance of questing *Ixodes ricinus*, castor been tick over a 35-year period in the eastern part of its range (Russia, Tula region) // Med. Vet. Entomol. 2015. V. 2. P. 159–165.
- Lees A.D., Milne A. The seasonal and diurnal activities of individual sheep tick *Ixodes ricinus* // Parasitology. 1951. V. 41 (3–4). P. 189–208.
- Li S., Heyman P., Cocher C. et al. A multi-level analysis of the relationship between environmental factors and questing *Ixodes ricinus* dynamics in Belgium // Paras. Vectors. 2012. V. 149 (5). P. 1–11.
- MacLeod J. The seasonal and annual incidence of the sheep tick, *Ixodes ricinus*, in Britain // Bull. Entomol. Res. 1939. V. 30. № 1. P. 103–118.
- Medlock J., Hansford K.M., Bormane A. et al. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* tick in Europe // Paras. Vectors. 2013. V. 1 (6). P. 1–11.
- Pedersen B., Jenkins A., Kjelland V. Tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* ticks collected from migratory birds in southern Norway // PLoS One. 2020. V. 15 (4). P. e0230579.
- Perret J.-L., Guigoz E., Rais O., Gern L. Influence of saturation deficit and temperature on *Ixodes ricinus* tick questing activity in a Lyme borreliosis-endemic area (Switzerland) // Parasitol. Res. 2000. V. 86. P. 554–557.
- Pokladniková H., Roznovsky J., Středa T. Evaluation of soil temperatures at agroclimatological station Pohorelice // Soil Water Res. 2008. V. 3. № 4. P. 223–230.
- Porretta D., Mastrantonio V., Amendolia S. et al. Effects of global changes on the climatic niche of the tick *Ixodes ricinus* inferred by species distribution modeling // Paras. Vectors. 2013. V. 6 (271). P. 1–8.
- Randolph S.E. Tick-ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors // Parasitology. 2004. V. 129. P. 37–64.
- Randolph S.E., Rogers D.E. Fragile transmission cycles of tick-borne encephalitis virus may be disrupted by predicted climate change // Proc. R. Soc. Lond. B. 2000. V. 267. P. 1741–1744.
- Ribeiro R., Eze J.I., Gilbert L. et al. Using imperfect data in predictive mapping of vectors: a regional example of *Ixodes ricinus* distribution // Paras. Vectors. 2019. V. 12 (536). P. 1–13.
- Rogers D.E., Randolph S.E. Climate change and vector-borne diseases // Adv. Parasitol. 2006. V. 62. P. 345–381.
- Rousseau R., McGrath G., McMahon B.J., Vanwambeke S.O. Multi-criteria decision analysis to model *Ixodes ricinus* habitat suitability // EcoHealth. 2017. V. 14. P. 591–602.
- Soleng A., Edgar K.S., Paulsen K.M. et al. Distribution of *Ixodes ricinus* ticks and prevalence of tick-borne encephalitis virus among questing ticks in the arctic circle region of northern Norway // Ticks Tick-Borne Dis. 2018. V. 9. P. 97–103.
- Schulz M., Mahling M., Pfister K. Abundance and seasonal activity of questing *Ixodes ricinus* ticks in their natural habitats in southern Germany in 2011 // J. Vector Ecol. 2014. V. 39. № 1. P. 56–65.
- Sprong H., Hofhuis A., Gassner F. et al. Circumstantial evidence for an increase in the total number and activity of borrelia-infected *Ixodes ricinus* in the Netherlands // Paras. Vectors. 2012. V. 5 (294). P. 1–11.
- Tokarevich N.K., Tronin A.A., Blinova O.V. et al. The impact of climate change on the expansion of *Ixodes persulcatus* habitat and the incidence of tick-borne encephalitis in the north of European Russia // Glob. Health Act. 2011. № 4. P. 8448–8459.
- Tronin A.A., Tokarevich N.K., Gnativ B.R. Abundance of *Ixodes persulcatus* tick in Komi Republic as a function of an air temperature // Russ. J. Infect. Imm. 2019. V. 9. № 5–6. P. 811–816.
- Zemskaya A.A. Seasonal activity of adult tick *Ixodes persulcatus* P. Sch. in the eastern part of the Russian plain // Folia Parasitol. 1984. V. 31. P. 269–276.

Adaptive Features of the Biology of Similar Species of Ixodes Ticks that Determine their Distribution (on the Example of the Taiga – *Ixodes persulcatus* Sch. 1930 and European Forest – *Ixodes ricinus* L. 1758)

E. I. Korenberg^{a, *}, M. B. Sirotkin^{a, **}, and Yu. V. Kovalevskii^a

^a*Gamalei National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia*

^{*}*e-mail: edkorenberg@yandex.ru*

^{**}*e-mail: m.sirotkin87@gmail.com*

An analytical review of the literature is presented, which allows us to compare the adaptive capabilities of two closely related species of Ixodes ticks: taiga ticks and european forest ticks – hosts and vectors of the main, most common and epidemiologically significant natural focal infections in Eurasia – Ixodes tick-borne borreliosis and tick-borne encephalitis. Studies on the influence of climate factors on the number and distribution of these ticks, on the formation of their fundamental ecological niches, which determine the formation of the boundaries of their modern ranges, are considered. The species adaptive features of *Ixodes persulcatus* and *I. ricinus*, their implementation in different geographical conditions (realized ecological niches), and the prerequisites for the formation and change of the sympatric region are described. It is concluded that the diversity of ecosystems that ticks of the compared species can inhabit limits the possibility of obtaining a thermal development constant at certain times, i.e. the sum of the effective temperatures necessary for egg development, as well as the metamorphosis of larvae and nymphs.

Keywords: taiga tick, european forest tick, ixodid ticks, ecological niche, area

УДК 636.082.22/639.3.034.2

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА ЛОСОСЕВЫХ РЫБ (НА ПРИМЕРЕ САМОК ЛАДОЖСКОЙ ПАЛИИ *Salvelinus lepechini* Gmelin 1788)

© 2021 г. Н. И. Шиндавина¹, В. Я. Никандров¹, А. А. Лукин¹, *

¹Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства, пос. Ропша, Ленинградская обл., Россия

*e-mail: fsgzr.lo@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.12.2020 г.

После доработки 10.12.2020 г.

Принята к публикации 10.12.2020 г.

Одна из основных задач при выращивании лососевых рыб в искусственных условиях для получения качественного потомства – ранний отбор элитных особей, в первую очередь самок, выявить которых на ранних этапах созревания икры довольно непросто. Для решения этой проблемы самок маточного стада ладожской палии, выращенных в заводских условиях, оценивали по выживаемости зародышей на разных стадиях развития и личинок до начала их активного питания. В процессе эмбриогенеза выявлены значительные различия по выживаемости зародышей и личинок, которые в высокой степени зависели от качества яйцеклеток. То есть решающее значение имело влияние материнского организма. Установлено, что критерием качества икры может служить скорость развития эмбрионов на стадии эпиболии. Выживаемость эмбрионов на разных стадиях развития коррелировала с выживаемостью личинок, что позволяло проводить раннюю оценку самок и прогнозировать выход потомства. Самки с высоким процентом неоплодотворенных яйцеклеток характеризовались пониженной выживаемостью зародышей и личинок из оставшейся части оплодотворенной икры. Учитывая закономерности биологии развития, можно предположить, что качество неоплодотворенных яйцеклеток находится под воздействием генома самки, а при развитии зародышей начинают действовать механизмы, контролируемые совместным геномом отцовского и материнского организмов. Поэтому жизнестойкость потомства, проявившаяся на ранних стадиях эмбриогенеза, в значительной степени сохраняется при дальнейшем развитии зародышей и личинок.

Ключевые слова: ладожская палия, самки, икра, выживаемость, эмбриогенез, эпиболия

DOI: 10.31857/S0042132421030091

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации объединенных наций (ФАО), в 2018 г. производство рыбы в мире достигло пикового объема и составило 178.5 млн т, из которых на долю промышленного рыболовства пришлось 96.4 млн т. Следует отметить, что показатели добычи рыбы последние 10–15 лет держатся на относительно постоянном уровне – 89.6–96.4 млн т (ФАО, 2020). Доля отечественного промышленного рыболовства, по экспертным оценкам, находится в пределах 5.0 млн т. Мировое рыболовство подошло к черте, за которой наращивать объемы промысла крайне сложно. Единственный способ, позволяющий увеличить потребление рыбной продукции, – выращивание рыбы в искусственных условиях. Уже сейчас почти половина всей рыбопродукции, потребляемой в пищу, производится из выращенной в аква-

культуре рыбы. Объем продукции аквакультуры в 2019 г. составил 82.1 млн т, и нет сомнений, что ее доля на международном рынке будет только расти (ФАО, 2020). Согласно экспертным оценкам, для удовлетворения мировой потребности в рыбе, ее производство на рыбоводных предприятиях должно увеличиться к 2050 г. до 140 млн т. При этом Россия, располагающая крупнейшими в мире водными ресурсами, производит в настоящее время порядка 0.2% мировой продукции аквакультуры.

Огромные территории нашей страны, расположенные на Севере, позволяют активно развивать холодноводное промышленное рыболовство, получая высококачественную деликатесную продукцию в широком ассортименте. Однако в настоящее время российские рыбоводные хозяйства северных регионов ориентированы на производство в основном двух видов лососевых рыб:

радужной форели *Oncorhynchus mykiss* и атлантического лосося *Salmo salar* L., так как эти виды традиционно выращиваются на севере Европы, США и Канады. Это позволяет приобретать за рубежом посадочный материал и корма для производства товарной рыбы, но данная направленность усиливает зависимость от импорта, последствия которого при введении санкций могут быть катастрофическими для рыбоводов. Решению проблемы может способствовать введение в аквакультуру рыб, обитающих в отечественных водоемах.

С этой точки зрения, перспективные объекты аквакультуры арктической зоны России – лососевые и сиговые рыбы, среди которых род *Salvelinus* (гольцы) занимает особое место. Встречаются различные экологические формы этого вида, как проходные (Новая Земля, бас. Карского моря), так и крупные жилые: ладожская и онежская палия, даватчан из оз. Фролиха в Забайкалье, боганидская палия и голец Дрягина из таймырских озер, каменный голец из бас. р. Камчатка, длинноголовый и белый гольцы из оз. Кроноцкое на Камчатке и др. (Атлас..., 2002). В европейской части России вне сплошного ареала представитель этого комплекса – палия *S. lepechini* Gmelin – встречается в Ладожском и Онежском озерах. Везде, где обитают проходные, озерно-речные, озерные, речные и ручьевые формы (экоотипы) гольцов, они являются ценным объектом местного промысла. Каждый из этих экоотипов имеет особенности миграций, питания, роста и размножения, что дает возможность осуществлять поиск перспективных популяций в природных водоемах, позволяющих вести их гибридизацию между собой для достижения эффекта гетерозиса и создания быстрорастущих пород. Эволюционно адаптированный к полярным условиям арктический голец является перспективным объектом для аквакультуры Севера России, уникальным объектом селекционной работы (Лукин и др., 2016; Журавлева, 2018).

При искусственном разведении рыб, особенно лососевых, первоочередная цель – создание маточных стад производителей, весь жизненный цикл которых проходит в заводских условиях. При этом возникает целый ряд селекционных задач, направленных на повышение эффективности заводского разведения. Наиболее актуальным при формировании маточных стад является отбор лучших производителей, а важнейшим критерием их оценки – качество потомства. Нами была предпринята попытка решения этой проблемы на примере ладожской палии, содержащейся в искусственных условиях.

Ладожская палия – эндемик Ладожского оз., относящийся к ценным видам рыб, единственный представитель лососевых, сохранивший здесь промысловое значение. Численность этого

вида в последние десятилетия поддерживается благодаря искусственному воспроизводству. В начале века около 60% промыслового стада составляли особи, выращенные на рыбозаводах (Китаев и др., 2005).

Цель предлагаемого исследования – ранняя диагностика выживаемости потомства лососевых рыб на основе индивидуальной оценки самок ладожской палии заводского стада с использованием показателей качества икры, выживаемости эмбрионов и личинок до их перехода на смешанное питание.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили на базе Федерального селекционно-генетического центра рыбоводства, филиал ФГБУ “Главрыбвод”. Объект исследования – впервые созревшие самки ладожской палии в возрасте 4+, которые относятся к третьему поколению рыб, содержащихся в заводских условиях.

Исходное маточное стадо заложено в 1999 г. из икры палии, отловленной в Ладожском оз. на естественных нерестилищах. Выращивание рыб проводят в закрытом помещении в проточных бассейнах с ключевым водоснабжением. Температура воды зимой – 4,5°C, летом – 6,0–14,0°C. Корм рыб – гранулированные датские корма “БиоМар”. Диагностику самок на готовность к нересту проводили один раз в неделю. Для проведения экспериментальных работ в конце октября произвольно были отобраны 20 самок, готовых к нересту. У рыб определяли массу (г) и длину тела (см) по Смитту – расстояние от вершины рыла до конца средних лучей хвостового плавника. Отбор (сцеживание) икры проводили вручную. Количество икры и абсолютную плодовитость определяли порционно-весовым методом. Вычисляли также среднюю массу икринки (мг) и рабочую плодовитость самок. При работе с производителями применяли в качестве анестетика гвоздичное масло концентрацией 0,15–0,2 мл на 1 литр воды в течение 2–3 мин.

Для оплодотворения икры использовали самцов в возрасте 4+, сперму у которых получали путем ручного отцеживания в отдельные пробирки. Подвижность сперматозоидов проверяли под микроскопом. Для осеменения оставляли только те порции, где все 100% спермиев были активными.

Икру от каждой самки осеменяли свежеприготовленной смесью спермы 3–9 самцов в избыточном объеме для того, чтобы минимизировать влияние отдельных самцов на качество оплодотворенной икры. Таким образом, было заложено 20 вариантов опыта для оценки качества икры. Каждый вариант инкубировали на отдельной рамке инкубационного аппарата в условиях по-

стоянной проточности 10 л/мин. Площадь рамки 40×40 см². Количество икринок на каждой рамке различались и составляли от 1300 до 3800 шт. При инкубации икры и выдерживании личинок температура воды была постоянной: $6 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$.

Погибшие икринки, после того как они утрачивали прозрачность и становились белыми вследствие коагуляции желточного белка, отбирали каждые 2–3 дня, что впоследствии учитывалось при обработке данных по жизнеспособности потомства на разных стадиях их развития. Репродуктивный потенциал самок оценивали по уровню оплодотворяемости икры и выживаемости эмбрионов и личинок.

Оценку проводили на разных этапах эмбриогенеза.

Первый этап проведен на 15-е сутки инкубации – на стадии обрастания желтка бластодермой зародыша (эпиволии). Пробы из 35 икринок от каждой самки помещали в раствор спиртово-уксусной смеси (1 : 3) для просветления оболочки и визуально определяли количества развивающихся зародышей и неоплодотворенной икры. По соотношению этих показателей в пробе вычисляли оплодотворяемость икры (%).

Второй этап проводили на 19-е сутки развития – на стадии завершения эпиволии: количество живых икринок относительно исходного количества инкубируемой икры – показатель выживаемости эмбрионов на стадии эпиволии (%).

Третий этап оценки – стадия пигментации глаз у зародышей. Общую потерю икры определяли по сумме икринок, погибших в период инкубации, и неоплодотворенной икры, сохранившей живую структуру до наступления стадии пигментации глаз у развивающихся зародышей. В это время можно было визуально различить икру с живыми эмбрионами, заметными через оболочку, и неоплодотворенные икринки, которые удаляли из опыта. Отношение численности живых эмбрионов к исходному количеству икры – показатель выживаемости эмбрионов на стадии пигментации глаз (%).

Четвертый этап проводился на 73-е сутки после завершения эмбрионального развития – на начальной стадии личиночного развития. В это время по количеству вылупившихся зародышей относительно исходного количества икры была получена оценка выживаемости эмбрионов на стадии вылупления (%).

После вылупления личинок наблюдения проводили только в период их эндогенного питания. Учитывали погибших личинок, а также уродливых особей, которые были потенциально нежизнеспособны (двухголовые, сросшиеся телами на одном желточном мешке), или особей с аномалиями, препятствующими нормальному росту и развитию (сильные искривления позвоночника и др.).

Выживаемость личинок (%) оценивали, сравнивая количество нормальных личинок в период перехода их на активное питание с исходным количеством вылупившихся личинок.

Кроме того, критериями для оценки качества икры являлись:

- степень развития эмбриона на стадии эпиволии;
- сроки сохранения живой структуры у неоплодотворенной икры в период инкубации.

Степень развития эмбрионов определяли на 15-е сутки эмбриогенеза в пробе из 35 икринок, взятых от каждой самки. После просветления оболочки икры в спиртово-уксусном растворе (в соотношении 1 : 3) становились отчетливо видны ярко-желтая поверхность желтка и степень его обрастания светлой непрозрачной бластодермой зародыша. Площадь, занимаемая бластодермой зародыша, относительно всей поверхности желтка (%), отражала уровень эпиволии, или степень развития эмбриона в данный момент. Оценку проводили визуально с привлечением двух операторов, чтобы снизить субъективность.

Для изучения свойств неосеменной икры от каждой самки брали порцию овулировавших икринок (250–350 шт.) и помещали на инкубацию в отдельные ячейки инкубационной рамки. По количеству погибших икринок и по времени их гибели от начала инкубации определяли статистический показатель срока (сутки) массовой гибели икринок для каждого варианта проверки.

Статистический анализ проводили по стандартным методикам (Лакин, 1980).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследованные самки существенно различались по размерным и репродуктивным показателям (табл. 1). Крупные особи превосходили мелких по массе тела в 2.5 раза, а по длине в 1.2 раза. Различия между крайними показателями плодовитости достигали 3.5 раз. Плодовитость положительно коррелировала с массой и длиной тела: $r = 0.71$ и 0.58 ($p < 0.01$) соответственно. Средняя масса икринок не была связана ни с массой, ни с длиной тела, ни с плодовитостью самок.

Оценка потомства по оплодотворяемости икры и выживаемости эмбрионов и личинок

Оплодотворяемость икры исследованных самок в среднем была высокой – 86%, меняясь в пределах от 50 до 100% (табл. 2). При этом у 75% рыб уровень оплодотворения был выше или равен 80%.

Согласно данным о динамике гибели икры, погибшие икринки начали появляться в потомстве всех самок на 16-е сутки, и в последующие

Таблица 1. Характеристика самок по размерно-весовым и репродуктивным показателям

Показатель	$M \pm m$	lim	CV, %
Средняя масса тела, г	2216 \pm 119.4	1390–3450	24.1
Длина тела, см	56.7 \pm 0.7	50.8–62.2	6.2
Плодовитость, шт.	3446 \pm 230.1	1537–5340	29.9
Средняя масса икринки, мг	82.9 \pm 1.9	66–100	10.6

Примечание: $M \pm m$ – среднее и его статистическая ошибка, lim – пределы варьирования признака, CV – коэффициент вариации – статистический показатель, представляющий процентное отношение среднего квадратического отклонения к средней арифметической (Лакин, 1980). Здесь и для табл. 2 и 4.

Таблица 2. Оплодотворяемость икры и выживаемость эмбрионов и личинок (%)

Показатель	$M \pm m$	lim	CV, %
Оплодотворяемость икры	83 \pm 3.1	50–100	16.8
Выживаемость эмбрионов:			
– на стадии эпиболии	91 \pm 2.6	57–100	13.1
– на стадии пигментации глаз	73 \pm 5.4	29–99	33.2
– на стадии вылупления	52 \pm 6.5	2–92	55.4
Выживаемость личинок	83 \pm 4.5	28–98	24.2

дни их количество постепенно возрастало. На 19-е сутки развития выживаемость эмбрионов в среднем была высокой, но уже проявлялись значительные различия между вариантами (табл. 2).

На 47-е сутки инкубации у зародышей были полностью пигментированы глаза и хорошо выражена сеть кровеносных сосудов, благодаря чему развивающиеся икринки можно было визуально отличить от неоплодотворенной икры, сохранившей живую структуру. Она была удалена из всех вариантов опыта. Количество неоплодотворенной икры составляло в среднем 4% (от 0 до 26% в отдельных вариантах), а количество погибших икринок – 23%. Таким образом, средний уровень выживаемости эмбрионов достигал 73%. При этом от стадии к стадии увеличивается диапазон различий между отдельными вариантами и, соответственно, возрастает коэффициент изменчивости (табл. 2). На 73-е сутки инкубации после завершения эмбриогенеза выживаемость эмбрионов составляла в среднем 52%. Различия в уровне выживаемости потомства у отдельных самок, а также коэффициент изменчивости достигали самого высокого уровня (табл. 2).

Выживаемость личинок в период эндогенного питания составляла в среднем 83% (табл. 2). При этом количество погибших особей – всего 3%, а остальные 14% представлены личинками с внешне выраженными уродствами, препятствующими дальнейшему нормальному развитию. Самые распространенные аномалии: сколиоз (в потомстве всех самок), выраженный в разной степени, и водянка желточного мешка (85%). Почти у половины самок (40%) в потомстве встречались так

называемые сиамские близнецы – двойные зародыши, сросшиеся разными частями тела на одном желточном мешке.

Результаты корреляционного анализа полученных данных показали, что выживаемость потомства не была связана ни с массой и размерами тела самок, ни с их плодовитостью. Средняя масса икринок отрицательно коррелировала с уровнем их оплодотворяемости. Достоверная взаимосвязь высокого уровня значимости была выявлена между большинством показателей, полученных при оценке выживаемости эмбрионов на разных стадиях развития и личинок (табл. 3).

При температуре 6°C процесс эпиболии начался на 10–12 сут и завершился на 19–21 сут инкубации.

Оценка эмбрионов по уровню эпиболии

На 15-е сутки уровень обрастания желтка бластодермой зародыша достигал в среднем 61%, варьируя в пределах от 40 до 100% у отдельных икринок. У икры, полученной от разных самок, также были отмечены значительные различия, как по уровню обрастания желтка, так и по изменчивости этого признака (табл. 4).

Ярко выраженный характер проявления таких различий был показан на примере четырех самок, выбранных случайно из экспериментальных особей (табл. 5).

Потомство у первых двух самок достоверно различалось по уровню обрастания желтка: у самки № 19 энтодерма зародыша занимала примерно

Таблица 3. Достоверные коэффициенты корреляции (r) между признаками

Пары признаков		r
Оплодотворяемость икры	Средняя масса икринки	-0.51**
	Выживаемость эмбрионов на стадии пигментации глаз	0.71**
	Выживаемость эмбрионов на стадии вылупления	0.68**
	Выживаемость личинок	0.47*
Выживаемость эмбрионов на стадии вылупления	Выживаемость эмбрионов на стадии эпиболии	0.76**
	Выживаемость эмбрионов на стадии пигментации глаз	0.96**
	Выживаемость личинок	0.79**
Выживаемость личинок	Выживаемость эмбрионов на стадии эпиболии	0.78**
	Выживаемость эмбрионов на стадии пигментации глаз	0.73**

Примечание: уровень значимости p : * < 0.05, ** < 0.01. Здесь и для табл. 6 и 7.

Таблица 4. Уровень эпиболии и ее вариабельность (%)

Признак	$M \pm m$	lim	CV, %
Уровень эпиболии	61 ± 2.3	46–88	16.8
Вариабельность по уровню эпиболии	12.6 ± 1.31	7.3–34.8	46.4

Таблица 5. Индивидуальная оценка самок по уровню эпиболии

№№ самки	Уровень эпиболии, %							$X \pm m_x$	CV, %
	40	50	60	70	80	90	100		
	количество эмбрионов, %								
1				15	20	45	20	88 ± 2.3	11.6
19	45	45	10					46 ± 2.0	14.5
7	20	60					20	56 ± 8.7	34.8
17			65	35				64 ± 1.2	7.8

Примечание: $X \pm m_x$ – это среднее значение уровня эпиболии у эмбрионов в потомстве самки и его статистическая ошибка; CV – коэффициент вариации уровня эпиболии.

половину поверхности желтка, тогда как у самки № 1 процесс эпиболии приближался к завершению. При этом в обоих вариантах индивидуальные различия эмбрионов по уровню эпиболии менялись в небольших пределах, коэффициенты изменчивости у них были близки по значению. У следующих двух самок средний показатель степени обрастания желтка имел близкие значения, но при этом у самки № 17 различия составляли 10%, а у самки № 7 они варьировали в пределах от 40 до 100%, что отразилось на коэффициентах изменчивости.

Показатели уровня эпиболии и вариабельности этого признака достоверно коррелировали с показателями жизнеспособности икры и личинок (табл. 6). Согласно результатам оценки, чем выше был уровень обрастания желтка на момент исследования и чем ниже изменчивость этого признака в потомстве отдельных самок, тем более

высокой была жизнестойкость потомства. При этом взаимосвязь между показателями уровня обрастания и коэффициентами вариации не достигала достоверного уровня ($r = -0.27$; $p > 0.05$).

Оценка самок по срокам гибели неоплодотворенной икры

В период инкубации неосеменная икра и осеменная икра различались по динамике гибели. Прежде всего, не совпадали сроки начала гибели. Как было отмечено выше, в развивающейся икре побелевшие икринки начали появляться на 16-е сутки инкубации. В опыте с неоплодотворенной икрой начало гибели отмечали на 22-е сутки инкубации. Количество погибших икринок постепенно увеличивалось с каждым днем. На 47-е сутки суммарное их количество достигало в среднем 44%. При этом проявились

Таблица 6. Достоверные корреляции между уровнем эпиболии на 15-е сутки развития и жизнеспособностью зародышей и личинок

Пары признаков		<i>r</i>
Уровень эпиболии	Оплодотворяемость икры	0.68**
	Выживаемость эмбрионов на стадии пигментации глаз	0.55*
	Выживаемость эмбрионов на стадии вылупления	0.59**
	Выживаемость личинок	0.51*
Вариабельность по уровню эпиболии	Выживаемость эмбрионов при завершении эпиболии	-0.74**
	Выживаемость эмбрионов на стадии пигментации глаз	-0.49*
	Выживаемость эмбрионов на стадии вылупления	-0.58**
	Выживаемость личинок	-0.67**

Таблица 7. Достоверные корреляции между сроками массовой гибели неосеменной икры и выживаемостью эмбрионов и личинок

Пары признаков		<i>r</i>
Сроки массовой гибели неосеменной икры	Выживаемость эмбрионов при завершении эпиболии	0.77**
	Выживаемость эмбрионов на стадии пигментации глаз	0.52*
	Выживаемость эмбрионов на стадии вылупления	0.49**
	Выживаемость личинок	0.45*

большие различия по самкам: у трех самок погибла вся икра, а у двух самок гибель составляла всего 2 и 3%. На 74-е сутки по окончании инкубации у 70% самок погибла вся икра, и лишь у одной самки оставалось 13% живых икринок.

Статистический анализ данных показал, что срок массовой гибели неосеменной икры составлял в среднем 48 ± 2.0 сут и менялся в диапазоне от 30 до 66 сут. Этот показатель положительно коррелировал с выживаемостью эмбрионов на всех стадиях развития и личинок (табл. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Самки палии, выращенные в заводских условиях, характеризовались большим разнообразием по размерно-весовым признакам, что также наблюдается в природных популяциях арктического гольца (Королева и др., 2020; Lukin, 2013). Это связано с тем, что интенсивность обменных процессов у каждой особи различается, и, как следствие, отличаются темпы роста.

В наших исследованиях плодовитость рыб коррелировала с массой и длиной тела самок на высоком уровне: $r = 0.71$ и 0.58 соответственно ($p < 0.01$). В то же время средняя масса икринок не была связана ни с величиной самок, ни с их плодовитостью.

Выживаемость эмбрионов и личинок не зависела ни от размерно-весовых, ни от репродуктивных характеристик самок. Отрицательная взаимосвязь была обнаружена между процентом

оплодотворения и средней массой икринок, то есть наблюдалась тенденция к снижению оплодотворяемости более крупной икры.

Полученные результаты важны для селекционной работы. Между тем, вопрос о влиянии размеров икры на жизнестойкость потомства до сих пор остается предметом дискуссии, поскольку результаты исследований носят противоречивый характер. Об этом свидетельствуют литературные данные, полученные для разных видов лососевых рыб (Pitman, 1979; Springate, Bromage, 1985; Estey et al., 1994; Barnes et al., 2003). Так, например, в исследованиях шведских специалистов, посвященных этому вопросу, не обнаружено зависимости выживаемости эмбрионов от величины икринок у арктического гольца (Jónsson, Svavarsson, 2000). Однако позже у этого же вида была выявлена положительная корреляция между средней массой икринок и выживаемостью личинок при температуре инкубации 2°C , а при 7°C взаимосвязь отсутствовала (Janhunet et al., 2010).

При оценке оплодотворяемости икры палии по количеству развивающихся зародышей в период эпиболии следует учитывать тот факт, что у палии в природных популяциях встречались оплодотворенные икринки, в которых развитие прекращалось на стадии гастрюляции, и их сложно визуально отличить от неоплодотворенной икры. Эти икринки погибали в период завершения эпиболии у нормально развивающихся эмбрионов. Количество таких икринок на природных нерестилищах составляло всего 3–4% (Павлов и др.,

1993). Учитывая редкость появления такой икры, можно полагать, что процент развития эмбрионов, полученный в нашем эксперименте, с большой точностью отражал достаточно высокий уровень оплодотворения икры. Наши данные согласуются с результатами ранее проведенных работ, когда при искусственном осеменении икры палии процент оплодотворения составлял 75–80% (Арендаренко, 1964). Такой же процент оплодотворения был отмечен у рыб на естественных нерестовых участках: 23% собранных икринок были неоплодотворенными (Павлов и др., 1993).

Для нормального развития икры ладожской палии были установлены оптимальные температурные пределы от 3.0 до 9.0°C (Павлов и др., 1993). В наших экспериментах инкубация проходила при температуре воды 6°C. Несмотря на благоприятные условия инкубации и высокий процент развития, выживаемость эмбрионов была низкой (в среднем 52%) и сильно варьировала в потомстве разных самок: от 2 до 92% (табл. 2). Мы полагаем, что различия были обусловлены индивидуальными особенностями самок и отражали значительную степень влияния материнского эффекта на характеристики потомства в ранний период развития. Наши данные согласуются с результатами исследований, проведенных на разных видах лососевых рыб: радужной форели (Craig, Harvey, 1984; Springate, Bromage, 1985; Patton et al., 2007), озерной формы кумжи (Lahnsteiner et al., 1999), чавычи (Barnes et al., 2003; Wipf, Barnes, 2012), где также отмечался высокий уровень разнообразия по выживаемости раннего потомства, определяемой индивидуальными особенностями самок. При этом не было обнаружено заметного влияния самцов на выживаемость эмбрионов и личинок (Nagler et al., 2000; Patton et al., 2007; Wipf, Barnes, 2012).

Различия по жизнестойкости потомства, проявившиеся на ранних стадиях эмбриогенеза, в значительной степени сохранялись при дальнейшем развитии зародышей и личинок. Об этом свидетельствовал высокий уровень корреляций между показателями выживаемости на всех этапах оценки. Ранее у самок радужной форели также была установлена взаимосвязь выживаемости икры на разных этапах эмбриогенеза и личиночного развития, начиная со стадии формирования зародышевого щитка и заканчивая подъемом личинок в толщу воды (Nagler et al., 2000).

Полученные нами данные позволяют проводить раннюю диагностику качества икры уже на стадии эпиболии и могут иметь практическую значимость при заводском разведении рыб, так как создают предпосылки для ранней оценки самок и возможности проведения отбора лучшей икры, полученной от этих самок для дальнейшего выращивания. Известно, что при одновременном

осеменении икры вылупление личинок происходит в течение нескольких суток, что является отражением индивидуальных различий эмбрионов по скорости развития. В экспериментах, проведенных на радужной форели и ладожской палии с использованием полиаллельных скрещиваний, было показано, что сроки массового вылупления личинок в значительной степени определялись воздействием материнского организма (Шиндавина, 1987; Павлисов, 2017). Такой же вывод был сделан при оценке самок арктического гольца (Leblanc et al., 2016).

Согласно полученным нами данным, как в потомстве отдельных самок, так и между самками были выявлены значимые различия зародышей по среднему уровню обрастания желтка и по величине коэффициента вариации этого признака. Эти особенности развития зародышей были связаны с их жизнеспособностью. Чем выше был уровень эпиболии и чем меньше было разнообразие по этому признаку в потомстве отдельных самок, тем более высокой была жизнестойкость эмбрионов и личинок (табл. 6). Вместе с тем взаимосвязь между показателями степени обрастания желтка и его изменчивостью не достигала достоверного уровня, то есть отставание в развитии зародышей не всегда сопровождалось асинхронностью развития. Тем не менее, асинхронность развития является определяющим фактором жизнеспособности зародышей, так как именно с этим признаком была связана гибель зародышей на самом раннем этапе оценки выживаемости эмбрионов на стадии эпиболии.

Таким образом, стадия эпиболии является важным этапом, в значительной степени определяющим последующее развитие и жизнеспособность зародышей и личинок. Скорость и синхронность развития зародышей могут служить диагностическими признаками для оценки самок по качеству икры.

Результаты оценки неосеменной икры показали, что ранние сроки ее гибели свидетельствовали о более низком качестве яйцеклеток. При осеменении икры этих самок наблюдали повышенную гибель эмбрионов и личинок. Взаимосвязь сроков массовой гибели неосеменной икры с выживаемостью зародышей и личинок позволяет сделать вывод о том, что качество яйцеклеток еще до осеменения в значительной степени предопределяет жизнеспособность потомства. Это еще раз подтверждает, что материнский эффект является доминирующим в период раннего развития потомства.

Нам пока не ясно, связаны ли ранние сроки гибели неоплодотворенной икры с биологией палии, или они проявились в условиях заводского разведения. Результаты изучения палии Онежского оз. показали, что неоплодотворенные икринки

могут сохранять живую структуру длительное время и погибают в основной массе, когда в нормальной икре завершается развитие эмбриона (Павлов и др., 1993). Этот процесс имеет большое значение при выживании кладки икры в природных условиях, так как препятствует развитию гнилостных процессов и сохраняет кладку икры до выхода личинок.

В наших исследованиях было показано, что исходная характеристика неоплодотворенных яйцеклеток по срокам сохранения их живой структуры и уровень развития эмбрионов в период эпителии в осеменной икре не были достоверно взаимосвязаны между собой, несмотря на то, что оба эти показателя коррелировали с выживаемостью эмбрионов и личинок. Возможно, это объясняется тем, что качество неоплодотворенных яйцеклеток находится под воздействием генома самки, а при развитии зародышей вступают механизмы, контролируемые совместно геномами отцовского и материнского организмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные нами исследования показали, что оценку качества икры можно проводить на самых ранних стадиях эмбриогенеза в период эпителии.

Критериями оценки являются относительное количество развивающихся зародышей, которое характеризует оплодотворяемость икры, а также степень развития эмбрионов и синхронность их развития на стадии эпителии. Эти три признака дополняют друг друга. При этом следует помнить, что процент оплодотворения и, следовательно, количество развивающихся эмбрионов зависят от взаимодействия трех факторов: готовности яйцеклеток к оплодотворению, оплодотворяющей способности сперматозоидов и биотехники осеменения. Жизнеспособность развивающихся зародышей и личинок зависит от качества яйцеклеток, которое формируется в ходе оогенеза, то есть зависит главным образом от индивидуальных особенностей материнского организма.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают свою благодарность научным сотрудникам Федерального селекционно-генетического центра рыбоводства А.А. Павлисову, М.И. Липатовой и А.Г. Мосееву за помощь в работе с производителями палии.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арендаренко Г.А.* Палия как объект рыбоводства // Рыбное хозяйство Карелии / Ред. И.Ф. Правдин. М., Л.: 1964. Т. 8. С. 141–143.
- Атлас пресноводных рыб России. Т. 1 / Ред. Ю.С. Решетников. М.: Наука, 2002. 378 с.
- Журавлева Н.Г.* Способы профилактики лечения заболеваний при выращивании арктического гольца – нетрадиционного объекта аквакультуры // Сб. статей по мат. междунар. науч.-практ. конф. “Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность” (Севастополь, 24–27 сентября 2018 г.) / Ред. Л.И. Лукина, Н.А. Бежин, Н.В. Лямина. Севаст.ГУ, 2018. С. 389–392.
- Китаев С.П., Ильмаст Н.В., Михайленко В.Г.* Кумжи, радужная форель, гольцы и перспективы их использования в озерах северо-запада России. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2005. 110 с.
- Королева И.М., Терентьев П.М., Зубова Е.М.* О воспроизводстве арктического гольца в водоемах бассейна озера Имандра // Тр. Фермановской науч. сессии ГИ КНЦ РАН. 2020. Т. 17. С. 292–296.
- Лакин Г.Ф.* Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 293 с.
- Лукин А.А., Богданова В.А., Костюничев В.В., Королев А.Е.* Перспективы развития аквакультуры в западной части Арктической зоны Российской Федерации. Арктика: экология и экономика. 2016. № 4 (24). С. 100–108.
- Павлисов А.А.* Влияние качества половых продуктов и сочетаемости производителей заводского стада ладожской палии (*Salvelinus lepechini*) на особенности раннего развития потомства // Вестн. рыбохоз. науки. 2017. Т. 4. № 4 (16). С. 27–38.
- Павлов Д.А., Михайленко В.Г., Тимейко В.Н., Коновалов Е.С.* Размножение и эмбрионально-личиночное развитие палии *Salvelinus alpinus lepechini* Онежского и Ладожского озер // Вопр. ихтиол. 1993. Т. 33. № 4. С. 539–549.
- ФАО. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры. Меры по повышению устойчивости. Краткий обзор. ФАО, 2020. С. 26.
- Шиндавина Н.И.* Сроки вылупления личинок радужной форели в зависимости от индивидуальных особенностей производителей // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1987. Вып. 263. С. 44–53.
- Barnes M.E., Sayler W.A., Cordes R.J., Hanten R.P.* Potential indicators of egg viability in landlocked fall chinook salmon spawn with or without the presence of overripe eggs // North Am. J. Aquacult. 2003. V. 65. P. 49–55.
- Craik J.C.A., Harvey S.M.* Egg quality in rainbow trout. The relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping // Aquaculture. 1984. V. 40. P. 115–134.

- Estey F., Diaz N.F., Neira R., Fernandez X.* Analysis of reproductive performance of rainbow trout in a hatchery in Chile // *Progr. Fish-Cult.* 1994. V. 56. P. 244–249.
- Janhunen M., Piironen J., Peuhkuri N.* Parental effects on embryonic viability and growth in Arctic charr *Salvelinus alpinus* at two incubation temperatures // *J. Fish Biol.* 2010. V. 76. P. 2558–2570.
- Jónsson B., Svavarsson E.* Connection between egg size and early mortality in arctic charr, *Salvelinus alpinus* // *Aquaculture.* 2000. V. 187. P. 315–317.
- Lahnsteiner F., Weismann T., Patzner R.A.* Physiological and biochemical parameters for egg quality determination in lake trout, *Salmo trutta lacustris* // *Fish Physiol. Biochem.* 1999. V. 20. P. 375–388.
- Leblanc C.A., Kristjánsson B.K., Skúlason.* The importance of egg size and egg energy density for early size patterns and performance of Arctic charr *Salvelinus alpinus* // *Aquacult. Res.* 2016. V. 47. P. 1100–1111.
- Lukin A.A.* The present state of an Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) population in Lake Imandra subjected to over-fishing // *J. Ichthyol.* 2013. V. 53. № 10. P. 1–5.
- Nagler J.J., Parsons J.E., Cloud J.G.* Single pair mating indicates maternal effects on embryo survival in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Aquaculture.* 2000. V. 184. P. 177–183.
- Patton S.J., Stephanie K.L., Wheeler P.A., Thorgaard G.H.* Maternal and paternal influence on early embryonic survival of androgenetic rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): implications for measuring egg quality // *Aquaculture.* 2007. V. 263. P. 26–34.
- Pitman R.W.* Effects of female age and size on growth and mortality in rainbow trout // *Progr. Fish-Cult.* 1979. V. 41. P. 202–204.
- Springate J.R.S., Bromage N.R.* Effects of egg size on early growth and survival in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) // *Aquaculture.* 1985. V. 47. P. 163–172.
- Wipf M.M., Barnes M.E.* Parental male effects on landlocked fall chinook salmon progeny survival // *North Am. J. Aquacult.* 2012. V. 74. P. 443–448.

Criteria for Estimating the Artificial Reproduction Efficiency of Salmon Fish (on the Example of Females of the Lake Char *Salvelinus lepechini* Gmelin, 1778)

N. I. Shindavina^a, V. Ya. Nikandrov^a, and A. A. Lukin^{a, *}

^a*Federal Selection and Genetic Center of Fish Farming, Ropsha village, Leningrad Region, Russia*

**e-mail: fsgzr.lo@yandex.ru*

One of the main tasks at growing salmon fish in aquaculture for obtaining high-quality offspring is the early selection of elite individuals, primarily females. It's difficult to identify elite females at the early stages of maturation. To solve the problem, females of the Ladoga lake char broodstock raised in factory conditions were evaluated by the survival rate of embryos at different stages of development and larvae before their active feeding. Significant differences in the survival rate of embryos and larvae, which largely depended on the quality of eggs, were found at embryogenesis. It means that the influence of the mother's organism was crucial. It was found that the rate of embryos development at the stage of epiboly can be a criterion for the quality of eggs. The survival of embryos at different stages of development correlated with the survival of larvae, which made it possible to make an early assessment of females and predict the output of offspring. Females with a high percentage of unfertilized eggs were characterized by reduced survival of embryos and larvae from the remaining part of the fertilized eggs. It can be assumed that the quality of unfertilized eggs is influenced by the female genome, but during the embryos development mechanisms controlled by the joint genome of the paternal and maternal organisms. Therefore, the viability of the offspring in the early stages of embryogenesis is largely preserved during the further development of embryos and larvae.

Keywords: Ladoga lake char, females, eggs, survival, embryogenesis, epiboly

УДК 582.632.1:582.522.68

ИНТРОДУКЦИЯ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

© 2021 г. Л. В. Ветчинникова^{1, *}, А. Ф. Титов^{2, 3, **}

¹Институт леса КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

²Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

³Отдел комплексных научных исследований КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

*e-mail: vetchin@krc.karelia.ru

**e-mail: titov@krc.karelia.ru

Поступила в редакцию 04.12.2020 г.

После доработки 12.12.2020 г.

Принята к публикации 12.12.2020 г.

Обобщены результаты более чем полувековых исследований, отражающие отечественный и зарубежный опыт интродукции карельской березы *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti. Кратко освещена история вопроса. Дается анализ роста и развития карельской березы в разных почвенно-климатических условиях на территории России. Описаны косвенные признаки, свидетельствующие о наличии узорчатой текстуры в древесине, и особенности их проявления при интродукции. Показано, что одним из наиболее важных итогов многолетней исследовательской работы является тот факт, что при интродукции в разные годы и в разных почвенно-климатических условиях у карельской березы сохраняются ее главные биологические особенности — разнообразие форм роста и узорчатая текстура древесины. Назван ряд задач интродукционной работы с карельской березой, имеющих как прикладной, так и фундаментальный характер, с решением которых авторы связывают дальнейшие перспективы не только сохранения, но и расширенного воспроизводства генофонда этого уникального биологического объекта.

Ключевые слова: карельская береза, *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, интродукция, почвенно-климатические условия, узорчатая древесина, разнообразие форм роста

DOI: 10.31857/S0042132421030108

ВВЕДЕНИЕ

Интродукция растений предполагает целенаправленный перенос видов за пределы ареалов в новые для них природно-климатические условия. Интродукция имеет длительную историю и, несмотря на иногда кажущуюся стихийность и недостаточно скоординированный характер, всегда в той или иной степени опиралась на опыт и определенные знания. В результате к середине XX в. в ботанических садах мира было интродуцировано примерно 2.5% (около 4.5 тыс. из 180 тыс. известных на тот момент) покрытосеменных растений. В России, помимо ботанических садов и опытных станций, которые занимались этой деятельностью традиционно, дополнительно было создано более 200 интродукционных центров (Коропачинский и др., 2011). Основываясь первоначально на данных экспериментальной ботаники, интродукция растений со временем стала областью приложения других биологических и смежных с ними наук: селекции, генетики, экологии, географии растений, лесоведения и др. При этом одно из ведущих мест среди наук, призванных решать вопросы интродукции, заняла экологическая фи-

зиология растений, поскольку изучение процессов жизнедеятельности в новых для растений условиях произрастания позволяет не только оценить их адаптивный потенциал, но и изучать механизмы их устойчивости к факторам внешней среды.

Как известно, первоначально интродукция растений была направлена на обогащение местной флоры новыми видами главным образом в хозяйственных целях, однако в последние десятилетия особое внимание стало также уделяться вопросам сохранения генофондов и биологического разнообразия травянистых и древесных растений, включая редкие и исчезающие виды (Лапин и др., 1979; Некрасов, 1980; Дюрягина, 1982; Баханова, Намзалов, 2009; Амельченко, 2010; Титок, Володько, 2012).

Древесные растения характеризуются, как правило, достаточно широкой нормой реакции, высокой пластичностью и устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды. Вместе с тем, среди них есть виды, количество представителей которых и занимаемая ими территория по тем или иным причинам сокращаются.

К ним, в частности, относится карельская береза *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, которая имеет дизъюнктивный и ограниченный ареал (Ветчинникова, Титов, 2019, 2020а,б; Lindquist, 1954; Hejtmánek, 1957; Václav, 1963; Pagan, Paganová, 1994; Kleinschmit, 2002; Consensus ..., 2003; Hagqvist, Mikkola, 2008). Благодаря наличию уникальной и высокоценной узорчатой древесины она многие десятилетия привлекает к себе внимание не только потребителей, но и ученых и специалистов, а начиная с середины XX в. ведутся работы по ее интродукции (Бандер, 1964; Любавская, 1970, 1978; Etholén, 1978). Результаты этой деятельности имеют немалый научный и практический интерес и до сих пор не потеряли своей актуальности. Помимо прочего, они позволяют оценить степень и особенности проявления характерных для карельской березы признаков и свойств в новых условиях произрастания. Постановка данного вопроса имеет немаловажное значение еще и потому, что во взглядах на механизм появления высокодекоративной древесины, которые сформировались в первой половине XX в., до сих пор существуют два принципиально разных подхода (Любавская, 1975; Ермаков, 1986; Багаев, 1987; Ветчинникова, Титов, 2016, 2021). Один из них связывает появление узорчатой текстуры с теми или иными патологическими процессами, которые обусловлены факторами биотической или абиотической природы, а сама узорчатость считается аномальным явлением. Согласно другой, более распространенной в настоящее время точке зрения, существование карельской березы и наличие узорчатой текстуры в ее древесине обусловлено генетически, о чем, на наш взгляд, убедительно свидетельствуют результаты гибридологического анализа и многочисленных опытов по выращиванию не только семенного (от контролируемого опыления), но и вегетативного потомства, полученного путем прививки или клонирования в культуре *in vitro*.

Следует сказать, что в целом интродукции древесных растений посвящено значительное число работ, однако в большинстве своем они направлены на расширение сырьевой базы лесобразующих пород (Лапин и др., 1979; Алексеев, 2009) и/или увеличение ассортимента видов и разновидностей, используемых в озеленении (Розно, 2005; Бабич и др., 2008; Мартынов, 2011). Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды древесных растений изучены в этом плане гораздо хуже. Между тем работы с этой категорией объектов могут помочь прояснить и решить ряд вопросов, носящих не только прикладной, но и фундаментальный характер.

Задачей данной работы стали обобщение и систематизация результатов интродукции карельской березы – уникального биологического объекта, который в соответствии с Красной книгой

Республики Карелия (1985, 2007, 2020) и Красной книгой Владимирской области (2010) относится к группе видов, находящихся в настоящее время под угрозой исчезновения.

КРАТКАЯ ИСТОРИЯ ИНТРОДУКЦИИ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ В СОВЕТСКОМ СОЮЗЕ (ДО 1991 г.) И В РОССИИ (С 1992 г.)

В Советском Союзе наиболее ранние опыты по интродукции карельской березы путем посева семян и/или посадки саженцев, полученных из Карелии, по-видимому, были начаты в 1946 г. на территории Латвийской ССР (в то время здесь еще не были известны места ее естественного произрастания и поэтому их можно рассматривать как работы по интродукции, а не реинтродукции). Культуры были заложены в трех географических точках республики на площади 0.4 га (Бандер, 1964; Сакс, Бандер, 1970) (табл. 1). Согласно наблюдениям, в возрасте 20 лет косвенные признаки карельской березы проявились у 40% деревьев.

В 1947 г. академик ВАСХНИЛ А.С. Яблоков (Яблоков, 1949) инициировал работы по интродукции карельской березы в Московской обл., которые проводились его аспирантом, а впоследствии д. с.-х. н. А.Я. Любавской (Любавская, 1966, 1970, 1978). В лесхозах Московской обл. из семян карельской березы, собранных в Карелии и Белоруссии, ею были созданы опытные культуры и опытно-производственные плантации, занимавшие территории общей площадью около 100 га и числом деревьев с признаками узорчатой древесины более 50 тыс. (Любавская, 1970, 1982; Лаур, 2011; Коновалов и др., 2016) (табл. 1).

Начиная с 1949 г. заготовка семян карельской березы для интродукции осуществлялась преимущественно в Карелии на территории Заонежского спецлесхоза, где в течение последующих 20 лет было собрано более 2600 кг семян. Согласно имеющимся сведениям, семена были отправлены в 49 регионов Советского Союза (Лаур, 2006), включая не только соседние с Карелией (Мурманская, Архангельская, Ленинградская обл.), но и значительно более удаленные от нее (Новосибирская обл., Алтайский и Хабаровский край и др.). Периодически семена карельской березы направляли также в Москву для поставки на экспорт.

Самые северные в нашей стране искусственные насаждения карельской березы, по-видимому, были созданы в Мурманской обл. (табл. 1). Посаженные в середине 1950-х гг., к 18-летнему возрасту деревья имели высоту в среднем более 3 м и диаметр у корневой шейки около 16 см (Александрова, Кузнецова, 1975). К настоящему времени у части этих деревьев диаметр стволов (на высоте 1.3 м) превышает 25 см, а на их поверхности явно

Таблица 1. Интродукция карельской березы в Советском Союзе (до 1991 г.)

Республика, область, территория	Географические координаты	Природные зоны (территории) и климат	Источник
Киргизская ССР	39° с.ш., 73° в.д.	Горы. Резко континентальный, засушливый	Ибрагимов, Усепнов, 1974
Латвийская ССР Лесничество “Шкеде”	57° с.ш., 25° в.д.	Смешанные леса. Умеренный, морской	Бандер, 1964
Узбекская ССР Самаркандский лесхоз	39° с.ш., 66° в.д.	Степь. Горы. Субтропический внутриконтинентальный	Яскина, 1969, 1972, 1977
Украинская ССР Житомирская обл. Березовский, Малинский и Овруцкий лесхозы Харьковская обл. Даниловский опытный лесхоз	50° с.ш., 28° в.д. 49° с.ш., 36° в.д.	Лесостепь. Умеренно-континентальный	Литвак, 1968 Литвак, Евдокимов, 1977 Молотков, 1984
РСФСР			
Республика Башкортостан	54° с.ш., 56° в.д.	Темнохвойная тайга. Лесостепь. Умеренно-континентальный	Байбурина, 1998; Путенихин, Фарукшина, 2009
Республика Марий Эл Уч.-оп. лесхоз, бот. сад МарГТУ, Мушмаринский питомник, Яльчинское лесничество	56° с.ш., 47° в.д.	Смешанные леса. Умеренно-континентальный	Хакимова, 2002, 2004
Архангельская обл.	62° с.ш., 45° в.д.	Тайга. Умеренный	Багаев, 1963
Воронежская обл.	51° с.ш., 38° в.д.	Лесостепь. Умеренно-континентальный	Косиченко и др., 1983; Попов и др., 1996
Кировская обл.	58° с.ш., 47° в.д.	Южная тайга. Умеренно-континентальный	Проخورова, Несветаев, 2007; Багаев, 2011
Московская обл.	55° с.ш., 37° в.д.	Смешанные леса. Умеренно-континентальный	Любавская, 1966, 1970, 1978
Мурманская обл.	67° с.ш., 33° в.д.	Лесотундра и северная тайга. Умеренно холодный	Александрова, Кузнецова, 1975
Нижегородская обл. Семеновский спецлесхоз	56° с.ш., 44° в.д.	Смешанные леса. Умеренно-континентальный	Горелов и др., 2011
Омская обл. Муромцевское и Артыньское лесничества	56° с.ш., 74° в.д.	Лесостепь. Континентальный и резко континентальный	Суходольский, 1971
Свердловская обл.	56° с.ш., 60° в.д.	Южная тайга. Континентальный	Махнев, 1982
Ульяновская обл. Кузоватовский лесхоз	53° с.ш., 47° в.д.	Лесостепь. Умеренно-континентальный	Хакимова, 2004

просматриваются неровности и выпуклости, которые являются характерными косвенными признаками наличия узорчатой текстуры в древесине (рис. 1а).

Опыт использования семенного и вегетативного потомства при интродукции карельской березы неоднократно применялся в условиях Центральной лесостепи, например в Воронежской (Косиченко и др., 1983) и Липецкой (Погиба, 1992) обл. Так, при создании искусственных насаждений на территории Левобережного лесничества Воронежского лесотехнического института (ныне Учебно-опытного лесхоза Воронежского государственного лесотехнического университета)

исходным материалом в 1960 г. послужили двухлетние саженцы, выращенные из семян финского происхождения (из Института лесной генетики и селекции Финляндии, г. Хельсинки), а позднее, в 1977 г. — из семян, полученных из Карелии (Косиченко и др., 1983). Спустя 20 лет отчетливо выраженные косвенные признаки карельской березы отмечены у 65% деревьев.

Имеются сведения о том, что в 1960-е гг. карельская береза была успешно введена в культуру на территории Узбекской ССР (Яскина, 1969, 1972) и Киргизской ССР (Ибрагимов, Усепнов, 1974) (табл. 1), что значительно расширило географию интродукционных работ в широтном на-

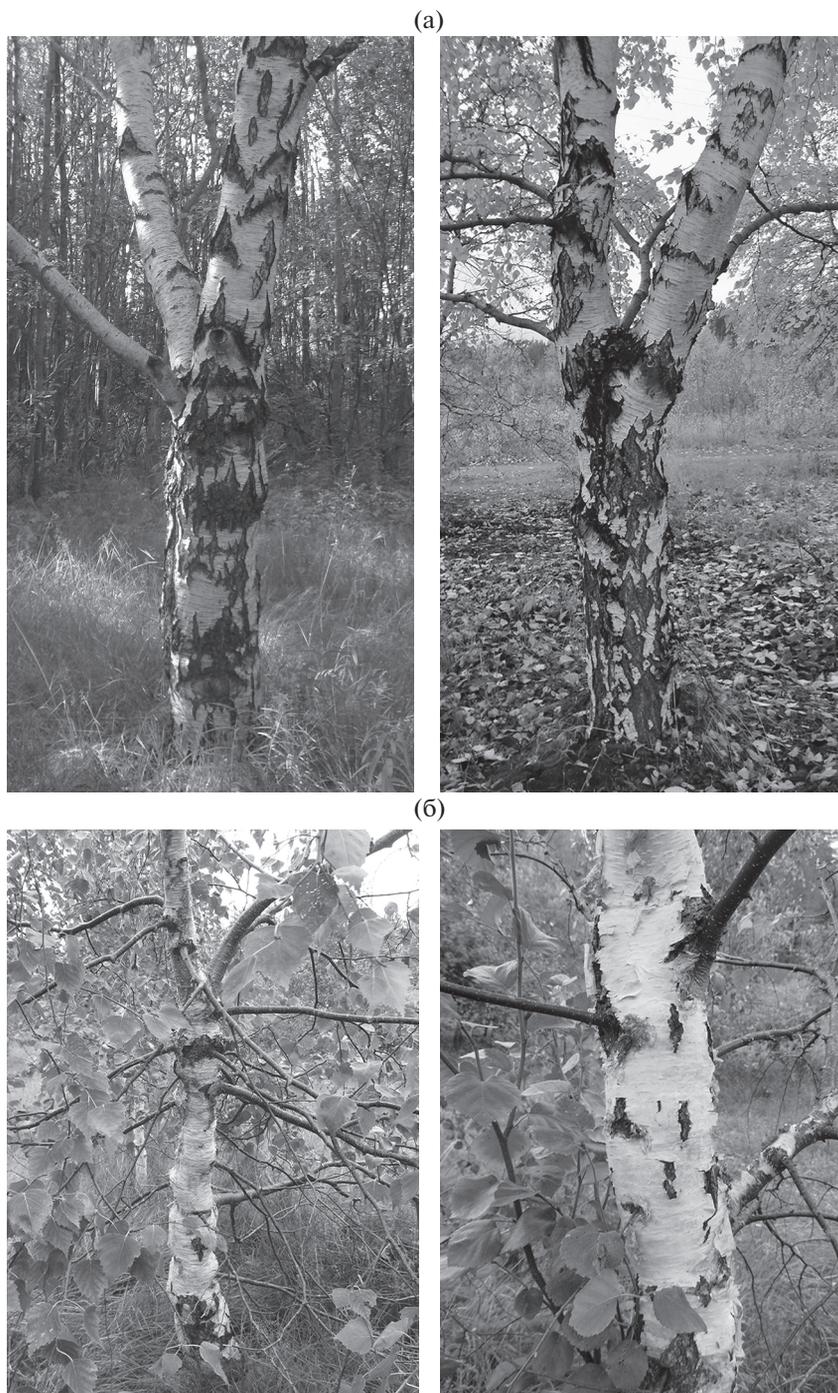


Рис. 1. Примеры успешной интродукции карельской березы в Северной Европе: (а) – Мурманская обл. (окрестности г. Апатиты, 67° с.ш., 33° в.д., возраст деревьев 50 лет); (б) – Швеция (вблизи населенного пункта Каликс (Kalix), 65° с.ш., 23° в.д., возраст деревьев 20 лет).

правлении далеко на юг от границы ареала и подтвердило ее высокий адаптивный потенциал.

Благодаря интродукции карельская береза активно продвигалась и в долготном направлении. Со второй половины XX в. она выращивается в Республике Марий Эл (Хакимова, 2002, 2004), в Кировской (Багаев, 1988, 2011; Прохорова, Не-

светаев, 2007), Ульяновской (Хакимова, 2002), Нижегородской (Горелов и др., 2011), Свердловской (Махнев, 1982) областях и ряде других регионов (табл. 1).

В Сибири опыты по выращиванию карельской березы (из семян карельской и ленинградской репродукции) проводились в Омской обл. (Сухо-

дольский, 1971). При этом в семилетних культурах, созданных на территории Муромцевского и Артынского лесничеств, максимальная высота растений достигала 3.5 м, а диаметр у корневой шейки — 7.8 см. Морфологические признаки, характерные для карельской березы, были обнаружены более чем у 30% саженцев в возрасте шести лет и у 46.3% — к девяти годам.

Несколько пунктов интродукции карельской березы находятся в Республике Башкортостан (Путенихин, Фарукшина, 2009). Например, из семян от свободного опыления, полученных в 1962 г. из Карелии, сотрудники Южно-Уральского ботанического сада-института Башкирского научного центра Уральского отделения АН СССР (ныне Ботанический сад-институт Уфимского федерального исследовательского центра РАН) получили потомство, которое произрастает в ботаническом саду и в парке им. М. Гафури в г. Уфе (Путенихин, Фарукшина, 2009). В 1976 г. в Верхне-Троицком лесничестве Туймазинского лесхоза (западная часть Башкирии) были созданы культуры карельской березы с использованием двухлетних саженцев (неизвестного происхождения) общей площадью около 1.5 га (Путенихин, 2007). Спустя 33 года здесь сформировался двухъярусный древостой, верхний ярус которого представлен в равной пропорции карельской березой и березой повислой, а второй — лещиной обыкновенной, жимолостью татарской, черемухой обыкновенной и другими лесными породами, за исключением березы (Путенихин, Фарукшина, 2009). Жизненное состояние деревьев карельской березы в целом оценивалось как хорошее (индекс относительного жизненного состояния — 83.1%), однако по ростовым параметрам она несколько уступала березе повислой (высота — 14.0 и 15.5 м, диаметр ствола — 16.0 и 16.3 см соответственно).

В настоящее время карельская береза представлена и в других ботанических садах и дендрологических парках России, включая Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Ботанический сад Петра Великого БИН им. В.Л. Комарова РАН, ботанические сады Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета им. С.М. Кирова и Петрозаводского государственного университета и др., а также и за рубежом (рис. 2). Накопленный при этом опыт, помимо прочего, свидетельствует о перспективности использования карельской березы для зеленого строительства и ландшафтного дизайна в городах и небольших населенных пунктах (Saarnio, 1980), поскольку низкий рост, утолщения на поверхности ствола и своеобразное ветвление придают ей необычный и весьма привлекательный вид.

В 1970-е гг. при осуществлении интродукции большие надежды возлагались на вегетативное размножение карельской березы, хотя она, как

известно, относится к трудноукореняемым растениям. Длительное время перспективным считалось размножение путем прививки, однако из-за низкой приживаемости прививаемых компонентов этот способ не получил широкого применения (Ветчинникова, 2005; Лаур, 2011). Еще менее эффективным оказался метод зеленого черенкования (Савельев, 1992; Шапкин, Казанцева, 1996; Погиба, Казанцева, 2006).

В 1989 г. сотрудники Уфимского ботанического сада-института впервые в России вырастили посадочный материал карельской березы с использованием клонального микроразмножения в культуре *in vitro* (Байбурина и др., 1990). Исходным материалом послужили гибриды и клоны (прививки), растущие на территории Агробиологической станции Карельского филиала АН СССР (ныне Агробиологическая станция КарНЦ РАН), которая находится в пригороде г. Петрозаводска. В результате в 1991 г. в ботаническом саду г. Уфы был создан коллекционный участок карельской березы. В настоящее время он представлен 36 деревьями с наличием косвенных признаков узорчатой древесины, которые наиболее явно проявились на 8-й год развития деревьев (Байбурина, 1998). Позднее 2 тыс. растений-регенерантов, полученных *in vitro*, явились основой для создания целевой плантации по выращиванию деревьев с узорчатой древесиной на территории Туймазинского государственного производственного лесохозяйственного объединения (Республика Башкортостан).

В Воронежской обл. на территории Семилукского лесного селекционного питомника также были созданы опытные культуры с использованием клонового потомства карельской березы (5 генотипов), полученного *in vitro* (Табацкая и др., 2004). Несмотря на то, что у части растений было выявлено проявление соматоклональной изменчивости (вследствие использования каллусной культуры) (Машкина и др., 2011), в целом косвенные признаки наличия узорчатой древесины соответствовали исходным растениям и визуально проявились раньше (в период с 3–4 лет до 5–8 лет) по сравнению с семенным потомством (10–12 лет), использованным здесь ранее при интродукции (Табацкая и др., 2004).

ОПЫТ ИНТРОДУКЦИИ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ В ЗАРУБЕЖНЫХ СТРАНАХ

Первые в мире опыты по интродукции карельской березы, видимо, были проведены в Финляндии в 1938–1939 гг. на территории лесного питомника Таймела (Taimela) вблизи г. Рованиemi (66° с.ш., 25° в.д.), расположенного в 600 км к северу от границы ее ареала (61°48' с.ш., 29°19' в.д.). С началом генеративной фазы развития были получены полнозрелые семена. Это послужило ос-



Рис. 2. Примеры успешной интродукции карельской березы в ботанических садах: (а) – г. Уфа (Республика Башкортостан, Россия); (б) – г. Петрозаводск (Республика Карелия, Россия); (в) – г. Минск (Республика Беларусь); (г) – г. Саласпилс (Латвийская Республика).

новой для массового получения саженцев на севере Финляндии (66° – 68° с.ш., 24° – 29° в.д.). К началу 1960-х гг. здесь было высажено более 35 тыс. саженцев на общей площади около 30 га (Etholén,

1978). Исходным материалом стали семена, собранные на территории Пункахарью (Punkaharju) (61° с.ш., 29° в.д., провинция Южное Саво, Восточная Финляндия), расположенной в 700 км

ожнее от места посадок. Однако значительная часть растений в насаждениях, созданных в северной части Финляндии, позднее была утрачена. Основными причинами оказались разного рода повреждения, нанесенные лосями, зайцами, мышевидными грызунами и даже кротами. Деревья карельской березы, которые в настоящее время произрастают в разных частях Лапландии и в г. Рованиеми, — в большинстве своем родом из питомника Таймела.

В Швеции интродукция карельской березы была осуществлена в начале 2000-х гг., когда вблизи населенного пункта Каликс (Kalix, 65° с.ш., 23° в.д.), расположенного в 800 км к северу от границы ареала, были созданы насаждения, включающие 25 генотипов разного географического происхождения — из Швеции, Финляндии и России (Карелии), полученных путем клонального микроразмножения. К возрасту 10–12 лет высота растений варьировала от 2 до 6 м при диаметре ствола от 3 до 13 см (рис. 16). При этом у большинства клонов, независимо от их происхождения и генотипа, явно выражены основные свойства и признаки карельской березы (форма роста, выпуклости и утолщения на поверхности ствола), характерные для исходных материнских деревьев.

Интересные исследования были анонсированы в начале XXI в. в Канаде (Matsson, 2006). Их автор планировал решить две задачи: одна — интродукция карельской березы на территории Британской Колумбии путем выращивания посадочного материала шведского происхождения *in vitro*, а другая — выявление генетических механизмов формирования узорчатой текстуры в древесине. В результате удалось получить посадочный материал и ввести его в культуру, однако вторая задача до сих пор не решена.

Приведенные выше примеры, очевидно, не исчерпывают весь спектр работ по интродукции карельской березы за рубежом. Но даже они весьма показательны в том плане, что не только подтверждают повышенный интерес к данному объекту и его разведению (введению в культуру) в целом ряде регионов, включая те, которые находятся на большом расстоянии от границ его ареала, но и одновременно демонстрируют вполне определенные успехи интродукционной работы.

РОСТ ИНТРОДУЦЕНТОВ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ В РАЗЛИЧНЫХ ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ РОССИИ

Считается, что сезонный ритм ростовых процессов отражает эколого-физиологические особенности растений и характер их ответной реакции на действие факторов внешней среды, среди которых особое место принадлежит температуре.

Прохождение растениями полного цикла развития свидетельствует об их успешной интродукции. Самым северным пунктом, где успешно интродуцирована карельская береза, считается пос. Ивало (68° с.ш., 27° в.д.), расположенный в провинции Лаппи (Лапландия, Финляндия) (Etholén, 1978). Морозы здесь не вызывали гибели саженцев, но их более “южное” происхождение проявлялось в том, что листопад наблюдался значительно позднее, часто с появлением устойчивого снежного покрова. У карельской березы, посаженной в окрестностях г. Апатиты Мурманской обл. (67° с.ш., 33° в.д.), напротив, в первые 5 лет отмечались повреждения морозом верхушечных побегов, в дальнейшем ежегодно их прирост колебался от 24 до 45 см (Александрова, Кузнецова, 1975). При этом осенняя окраска листьев наблюдалась уже в середине августа, но созревание семян — только во второй декаде сентября, что почти на 1.5 месяца позднее, по сравнению с деревьями карельской березы, произрастающими в 700 км южнее на территории Карелии, где проходит северная граница ее ареала.

Отметим, что большое влияние на скорость роста интродуцентов карельской березы оказывает происхождение семян. Например, в условиях Московской обл. сеянцы белорусского происхождения растут в 2.0–2.5 раза быстрее, чем выращенные в одни и те же сроки посева семена, собранные в Карелии (Любавская, 1970). Более того, растения карельского происхождения сбрасывали листья уже в начале сентября, а растения из Беларуси оставались в облиственном состоянии до середины октября.

Наряду с температурой значительное влияние на рост карельской березы оказывают почвенные условия. В ранних работах обычно отмечалось, что она хорошо растет на сухих каменистых почвах (Соколов, 1938; Scholz, 1963). Однако анализ ростовых показателей хотя и выявил наличие определенных различий в скорости апикального и/или радиального роста деревьев, тем не менее показал отсутствие приуроченности карельской березы к определенному типу почв (табл. 2). Например, в условиях Ульяновской обл., где преобладают темно-серые лесные легкосуглинистые почвы, средние показатели высоты деревьев карельской березы составляют около 4.5 м при диаметре ствола до 6.2 см (Хакимова, 2002), а в Омской обл. — на глееподзолистых, дерново-подзолистых серых лесных и болотных почвах — 3.5 м и 7.8 см соответственно (Суходольский, 1971). В Республике Марий Эл на песчаных, супесчаных и тяжелосуглинистых почвах высота карельской березы варьировала от 5.0 до 8.5 м, а диаметр ствола — от 4.3 до 9.6 см (Хакимова, 2002).

По мнению большинства специалистов (Соколов, 1950; Ветчинникова, Титов, 2020в; Маг-

Таблица 2. Ростовые показатели деревьев карельской березы, интродуцированных в разные регионы, в зависимости от почвенных условий*

Республика, область, территория	Тип почвы	Высота деревьев, м		Диаметр ствола, см	
		возраст насаждений, лет			
		7–18	≥24	7–18	≥24
Латвийская Республика Лесничество “Шкеде”	Дерново-подзолистые, карбонатные	4.8	–	4.3	–
РФ					
Республика Башкортостан Верхне-Троицкое лесничество	Серые лесные, легкосуглинистые	–	14.0	–	>16
Республика Марий Эл					
Учебный лесхоз	Супесчаные	6.8	–	4.3	–
Ботанический сад	Тяжелосуглинистые	–	8.5	–	9.6
Мушмаринский питомник нац. парка “Марий Чодра”	Песчаные	–	5.1	–	6.1
Яльчинское лесничество	Супесчаные	–	5.0	–	3.7
Кировская обл. Шабалинский лесхоз	Подзолистые, средне- и тяжелосуглинистые, супесчаные	1.8–3.7	5.4	3.4	7.6
Московская обл. Ивантеевский лесопитомник	Дерново-подзолистые, супесчаные, суглинистые	4.5	5.7–10.6	5.9	7.8–12.4
Мурманская обл.	Подзолистые глеевые, подзолистые иллювиально-гумусовые	>3	10.0	16 [×]	25
Омская обл.	Дерново-подзолистые, серые лесные и болотные	3.5	–	7.8 [×]	–
Ульяновская обл. Кузоватовский лесхоз	Темно-серые лесные, легкосуглинистые	4.5	–	6.2	–

Примечание: * – данные из соответствующих источников, указанных в табл. 1; диаметр ствола измерялся на высоте 1.3 м, [×] – на уровне корневой шейки; “–” – отсутствие данных.

tinsson, 1995; Emanuelsson, 1999), именно невысокая требовательность карельской березы к почвенным условиям позволяет ей успешно расти на бедных песчаных (например, в Беларуси) и каменистых (в Республике Карелия и в Швеции) почвах в том числе и потому, что почвенное питание (как и у большинства других видов березы) осуществляется преимущественно за счет эктотрофной микоризы.

Интересно, что имеется положительный опыт использования карельской березы для рекультивации земель, нарушенных в результате открытой добычи полезных ископаемых, в Московской обл. (Казанцева, Васильев, 2006; Любавский, 2006), а также отвалов вскрышных пород в Карелии (Соколов и др., 2010; Соколов, 2016). На плодородных почвах она также хорошо растет, но при условии хорошей освещенности и отсутствия

конкуренции с другими более быстрорастущими древесными породами.

Выявленная в разных регионах России неравномерность роста и развития карельской березы дает основание полагать, что при интродукции она в большей степени обусловлена не почвенными, а биологическими особенностями данной культуры, в частности связанными с разнообразием ее жизненных форм (от одноствольного дерева до многоствольного “дерева-куста” и кустарника), а также с климатическими условиями конкретных мест ее произрастания.

В целом же опыт разведения карельской березы в высокоширотных районах России, а также в Финляндии и Швеции говорит о том, что при соответствующих мерах ухода она способна расти и развиваться, давая хороший прирост и высококачественную древесину в достаточно широком диапазоне почвенно-климатических условий.

КОСВЕННЫЕ ПРИЗНАКИ НАЛИЧИЯ УЗОРЧАТОЙ ТЕКСТУРЫ В ДРЕВЕСИНЕ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ И ИХ ПРОЯВЛЕНИЕ ПРИ ИНТРОДУКЦИИ

При интродукции карельской березы особая роль отводится визуальной диагностике признаков, косвенно указывающих на формирование узорчатой текстуры в древесине. Уже в возрасте 2–3 лет специалисты обращают особое внимание на появление утолщений или валиков в основании боковых побегов, тогда как у других видов березы эти части ствола гладкие. С возрастом эти признаки усиливаются и поверхность ствола легко диагностировать как ребристую (наличие вытянутых вдоль ствола ребер), мелкобугорчатую (относительно равномерное и плотное размещение небольших выпуклостей и неровностей на поверхности ствола) или шаровидноутолщенную (крупные утолщения сменяются довольно ровными участками вдоль ствола) (Евдокимов, 1989; Ветчинникова и др., 2013; Ветчинникова, Титов, 2019, 2021; Saarnio, 1976, 1980; Kosonen et al., 2004). Исходя из этого, нетрудно предположить, какой является плотность узорчатого рисунка в текстуре древесины. Например, ребристый тип свидетельствует о слабой волнистости, которая проявляется в основном на начальных этапах развития карельской березы и в дальнейшем может усилиться; шаровидноутолщенный — о наличии выраженного, часто крупноузорчатого рисунка преимущественно в древесине утолщений и относительно слабом проявлении или его полном отсутствии на ровных участках ствола. Наиболее плотное и равномерное расположение узорчатой текстуры в древесине наблюдается у деревьев с мелкобугорчатым типом поверхности ствола.

С возрастом у карельской березы происходит усиление различий между деревьями по форме роста. Так, среди древовидных форм роста выделяют высокоствольную (с хорошо выраженным стволом и высоко приподнятой кроной — от 1.5–2.0 м и выше), короткоствольную (стволовая часть до 1.5–2.0 м, выше которой располагаются несколько мощно развитых скелетных ветвей, формирующих общую крону) и кустообразную (укороченный — от 10 см до 1.0 м, но явно выраженный ствол, несущий раскидистую крону) (Соколов, 1950; Ермаков, 1986; Ветчинникова и др., 2013; Ветчинникова, Титов, 2019, 2021). Кроме древовидных, у карельской березы иногда встречаются низкорослые растения кустарниковой или кустовидной форм роста, большинство из которых обладает слабой репродуктивной способностью и имеет более короткий жизненный цикл. В отличие от кустарниковой формы, кустовидные растения являются многоствольными и не имеют обшего ствола в прикорневой части.

В природных популяциях как в северной (Республика Карелия, Россия), так и в южной (Беларусь) частях ареала чаще встречаются деревья короткоствольной формы роста (60% и более) с мелкобугорчатым типом ствола. При интродукции в семенном потомстве карельской березы также наблюдается дифференциация растений по формам роста, однако их соотношение в разных регионах может различаться. Например, в условиях Воронежской обл. отмечено преобладание деревьев кустообразной формы роста, в Кировской обл. — короткоствольной, а в Московской обл. — высокоствольной. Тем не менее, независимо от региона в потомстве карельской березы с возрастом четко выделяются три группы деревьев (в соответствии с формой роста), которые по скорости роста (как апикального, так и радиального) различаются почти в 1.5 раза. Кроме того, при интродукции около 30% деревьев были идентифицированы как мелкобугорчатые (Республика Марий Эл и Кировская обл.) или шаровидноутолщенные (Ульяновская обл.), а с ребристым типом поверхности ствола — более 50% во всех изученных насаждениях.

В целом накопленные к настоящему времени данные и наблюдения подтверждают высокий уровень наследования узорчатости в древесине у карельской березы при ее интродукции в разных регионах России с разными природно-климатическими условиями. При этом сохраняется и разнообразие жизненных форм, хотя соотношение деревьев по форме роста и типу поверхности ствола заметно варьирует. Причины этого могут быть разными. Например, использование неодинакового в генетическом отношении исходного материала. Преобладание же деревьев высокоствольной формы роста может оказаться результатом отбора лучших по высоте саженцев до их посадки на постоянное место, как это принято в практике лесного хозяйства в отношении других древесных пород, когда среди всех имеющихся выбирают самые крупные. Заметное влияние на рост и развитие карельской березы может оказывать даже выбор схемы посадки саженцев, когда при плотном размещении растения короткоствольной и кустообразной форм роста, обладающие более насыщенной узорчатой текстурой древесины, из-за меньшей скорости роста оказываются менее конкурентоспособными и могут раньше, чем высокоствольные, выпадать из насаждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На современном этапе роль интродукции, направленной на сохранение редких и исчезающих видов растений, значительно возросла. Из результатов анализа интродукционного (адаптационного) потенциала более 300 охраняемых травянистых

растений, проходивших испытания в течение 40 лет в условиях Центрального Черноземья, следует, что около 200 из них оказались более или менее устойчивыми (Муковнина, 2010). В отличие от травянистых видов, задача интродукции древесных растений является гораздо более сложной, поскольку большая продолжительность их жизни обуславливает длительный срок проведения испытаний, а успех часто достигается лишь после многократных попыток, на которые часто не хватает ни времени, ни средств.

Как отмечалось выше, работы по интродукции карельской березы были инициированы почти одновременно с началом ее систематического изучения. К настоящему времени этот опыт в разных регионах насчитывает от 40 (Республика Марий Эл) до 70 лет (Московская обл., Россия; Лапландия, Финляндия), что позволяет сделать определенные выводы.

В целом зона интродукции карельской березы занимает обширную территорию — от 68° с.ш., 27° в.д. на севере (Финляндия) до 39° с.ш., 66° в.д. на юге (Узбекистан) — и распространяется преимущественно в юго-восточном направлении далеко за границы ареала. География интродукции карельской березы охватывает часть территории Европейского Севера (Швеция; Финляндия; Мурманская и Архангельская обл. России), центральной части России (Воронежская обл.), Поволжья (Ульяновская обл.), Предуралья и Урала (Башкортостан, Свердловская обл.), Сибири (Омская, Новосибирская, Иркутская обл., Красноярский край) и даже Дальнего Востока (Амурская обл.). Новые места ее произрастания находят в разных природно-климатических условиях: от лесотундры и северной тайги с умеренно холодным климатом до лесостепи и степи с резко континентальным и даже субтропическим внутриконтинентальным климатом. Несмотря на то, что выбор региона нередко носит стихийный (не всегда научно обоснованный) характер, зона интродукции карельской березы почти полностью совпадает с ареалами ее ближайших сородичей — березы повислой *Betula pendula*, березы пушистой *Betula pubescens* Ehrh. или других видов березы.

Анализ результатов интродукции показывает, что практически во всех природно-климатических условиях карельская береза сохраняет близкие по ритмам ростовые процессы и фенологическое развитие, присущие ей в естественных местобитаниях. Тем не менее сроки прохождения отдельных фенофаз могут сдвигаться на более ранние (в южных широтах) или более поздние (в северных широтах). Выращивание карельской березы в крайне северных (Мурманская обл. России; Финляндия) и крайне южных (Узбекистан; Киргизия) регионах, значительно различающихся по продолжительности вегетационного периода и

длительности безморозного периода, значениям средних месячных (включая самый холодный и наиболее жаркий месяцы) и годовых температур и уровню влажности, свидетельствует о ее высоких адаптационных возможностях, а, следовательно, о высоком интродукционном потенциале. Она способна расти в широком диапазоне почвенных условий (от песчаных и суглинистых до подзолистых и черноземных) и даже при отсутствии нормального (или явно нарушенного) почвенного покрова, который возникает, например, при рекультивации земель (Любавский, 2006; Соколов и др., 2010; Соколов, 2016). Кроме того, карельская береза, по всей вероятности, отличается достаточно высокой устойчивостью к болезням и вредителям, поскольку какие-либо сведения о ее повреждениях в местах интродукции отсутствуют.

Очень важным результатом представляется тот факт, что при интродукции в разные годы и в разных почвенно-климатических условиях у карельской березы сохраняются присущие ей биологические свойства и признаки, включая главные: разнообразие жизненных форм и узорчатая текстура в древесине (Любавская, 1978; Хакимова, 2004; Багаев, 2011). При этом увеличения количества деревьев с узорчатой древесиной можно добиться за счет проведения ряда агротехнических мероприятий (уменьшение густоты посадки, проведение выборочных рубок, регулярный уход и др.) (Любавская, 1970; Погиба, Казанцева, 2006).

В соответствии с предложенной классификацией (Трулевич, 1983, 1991) интродукционной устойчивости, карельскую березу можно отнести к III (из четырех) группе устойчивых растений, для которых характерны полный цикл развития побегов, стабильность ритмов развития, сохранение жизненной формы, соответствие местным показателям или их превышение по продуктивности и размерам. У карельской березы, подобно другим растениям III группы, самосев не наблюдается, но возможно размножение искусственным путем с сохранением ее уникальных свойств и признаков. Высокую эффективность показало использование при интродукции посадочного материала карельской березы, полученного вегетативно путем клонального микроразмножения *in vitro* (Байбурина, 1998; Табацкая и др., 2004; Путенихин, Фарукшина, 2009).

В дальнейшем перспективными в рамках задач интродукционной работы с карельской березой могут стать мероприятия и исследования, имеющие не только прикладной характер но и фундаментальное значение. Вот некоторые из них.

1. Создание искусственных насаждений, направленных на сохранение генофонда карельской березы не только *in situ*, но и *ex situ*. Для повышения эффективности этой работы следует использовать семена, полученные в результате

контролируемого опыления, или клоны, полученные вегетативно путем клонального микроразмножения *in vitro*. В этом случае, благодаря обеззараживанию растительного материала, исключается риск распространения каких-либо заболеваний или патогенных возбудителей при переносе его в новые условия. Однако следует иметь в виду, что переход на клоновое размножение может привести к сужению генетического разнообразия, чего можно избежать, если количество клонов в насаждениях будет составлять не менее 30–50. При семенном размножении число деревьев желательно увеличить до 100 особей и более с тем, чтобы создаваемое насаждение с максимальной полнотой отражало генетическое разнообразие карельской березы.

2. Создание и поддержание коллекций *in vitro* (например, <http://www.ckr-rg.ru/usu/465691/>), направленных на сохранение лучших генотипов и создание клонового потомства плюсовых (обладающих повышенными хозяйственными качествами) деревьев, представляющих разные природные популяции (часть из которых может уже отсутствовать в природе).

3. Организация и создание плантаций карельской березы для получения древесины с заданными свойствами в разных регионах России.

4. Использование карельской березы для озеленения и обогащения дендрофлоры северных городов и населенных пунктов России.

5. Определение основных регионов и интродукционных центров получения семян или растительного материала, которые могут обеспечить качественным исходным материалом работы по интродукции карельской березы.

6. Определение пунктов интродукции, расположенных за пределами ареала карельской березы, на которые может быть распространен накопленный опыт ее интродукции.

7. Исследование у карельской березы и близких к ней видов (березы повислой и березы пушистой) свето-температурных зависимостей основных физиологических процессов (рост, фотосинтез, дыхание) в различных по природно-климатическим условиям регионам с целью выявления у них видоспецифичности.

8. Выявление у карельской березы генов, ответственных за формирование узорчатой древесины и изучение механизмов регуляции их экспрессии в обычных (в пределах ареала) и новых для нее условиях произрастания.

Осуществление этих мероприятий и решение указанных выше задач позволит, как нам представляется, повысить эффективность интродукционной работы с карельской березой, следовательно, будет существенным образом способствовать как сохранению, так и расширенному

воспроизводству этой уникальной древесной породы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа осуществлялась из средств федерального бюджета в рамках выполнения государственного задания ФИЦ “Карельский научный центр Российской академии наук” (Институт леса КарНЦ РАН, Институт биологии КарНЦ РАН, Отдел комплексных научных исследований КарНЦ РАН).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александрова Н.М., Кузнецова Г.Е.* Опыт выращивания березы карельской в Полярно-альпийском ботаническом саду // Растит. ресурсы. 1975. Т. 11. № 3. С. 421–425.
- Алексеев В.М.* Лесокультурные испытания перспективных пород интродуцентов на территории Новгородской области: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. СПб.: ЛТА, 2009. 19 с.
- Амельченко В.П.* Редкие и исчезающие растения Томской области (анатомия, биоморфология, интродукция, реинтродукция, кариология, охрана). Томск: ТГУ, 2010. 238 с.
- Бабич Н.А., Залывская О.С., Травникова Г.И.* Интродуценты в зеленом строительстве северных городов. Архангельск: АГТУ, 2008. 144 с.
- Багаев С.Н.* Карельская и капокорешковая береза в лесах Костромской области // Лесн. хоз. 1963. № 6. С. 20–22.
- Багаев С.Н.* Воспроизводство карельской березы // Лесн. хоз. 1987. № 9. С. 40–41.
- Багаев С.С.* Культуры карельской березы в подзоне южной тайги (Костромская и Кировская области): Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Л.: ЛТА, 1988. 17 с.
- Багаев С.С.* Испытание потомств географических популяций березы карельской в Кировской области // Структурные и функциональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды / Мат. междунар. конф. (Петрозаводск, 20–24 июня 2011). Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. С. 21–24.
- Байбурина Р.К.* Микроразмножение взрослых гибридов березы карельской в культуре тканей // Растит. ресурсы. 1998. Т. 34. № 2. С. 9–22.
- Байбурина Р.К., Старова Н.В., Ермаков В.И.* Способ клонального микроразмножения гибридов карельской березы. Патент SU № 1752284 А1. Дата

- регистрации 02.04.1990. Дата публикации 07.08.1992.
- Бандер В.Л.* Интродукция карельской березы в лесах Латвийской ССР: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Елгава: Латв. с.-х. академия, 1964. 28 с.
- Баханова М.В., Намзалов Б.Б.* Интродукция растений. Улан-Удэ: БГУ, 2009. 207 с.
- Ветчинникова Л.В.* Карельская береза и другие редкие представители рода *Betula* L. М.: Наука, 2005. 269 с.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф.* Происхождение карельской березы: эколого-генетическая гипотеза // Экол. генет. 2016. Т. 14. № 2. С. 3–18.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф.* Карельская береза – уникальный биологический объект // Успехи соврем. биол. 2019. Т. 139. № 5. С. 412–433.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф.* Современное состояние ресурсов *Betula pendula* var. *carelica* (Betulaceae) // Растит. ресурсы. 2020а. Т. 56. № 1. С. 16–33.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф.* О границах ареала карельской березы // Изв. вузов. Лесн. журн. 2020б. № 6. С. 9–21.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф.* Особенности структуры популяций карельской березы // Успехи соврем. биол. 2020в. № 6. С. 601–615.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф.* Карельская береза: важнейшие результаты и перспективы исследований. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2021. 243 с.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Кузнецова Т.Ю.* Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. 312 с.
- Горелов Н.И., Козлов Н.А., Козьмин А.В.* Испытательные культуры деревьев березы карельской // Лесн. хоз. 2011. № 1. С. 27–28.
- Дюрягина Г.П.* К методике интродукции редких и исчезающих растений // Бот. журн. 1982. Т. 67. № 5. С. 679–687.
- Евдокимов А.П.* Биология и культура карельской березы. Л.: ЛГУ, 1989. 228 с.
- Ермаков В.И.* Механизмы адаптации березы к условиям Севера. Л.: Наука, 1986. 144 с.
- Ибрагимов И., Усепнов И.* Карельская береза в южной Киргизии // Науч. тр. Ташк. с.-х. ин-та. 1974. Вып. 46. С. 55–59.
- Казанцева Е.В., Васильев С.Б.* Карельская береза как один из перспективных видов для лесной рекультивации нарушенных земель // Вестн. МГУЛ. Лесн. вестн. 2006. № 5 (47). С. 95–99.
- Красная книга Карелии: редкие и нуждающиеся в охране растения и животные. Петрозаводск, 1985. С. 77.
- Красная книга Республики Карелия. Петрозаводск: Карелия, 2007. С. 45–46.
- Красная книга Республики Карелия. Белгород: КОНСТАНТА, 2020. С. 86–87.
- Красная книга Владимирской области. Владимир: Транзит-ИКС, 2010. 399 с.
- Коновалов В.В., Махрова Т.Г., Романовский М.Г.* Ивантеевские культуры карельской березы // Вестн. МГУЛ. Лесн. вестн. 2016. № 1. С. 129–139.
- Косиченко Н.Е., Попов В.К., Шетинкин С.В.* Рост культур и микроструктура узорчатой древесины березы карельской в условиях ЦЧО // Лесная интродукция. Воронеж: ЦНИИЛГиС, 1983. С. 152–161.
- Коропачинский И.Ю., Встовская Т.Н., Томошевич М.А.* Очередные задачи интродукции древесных растений в Азиатской России // Сиб. экол. журн. 2011. № 2. С. 147–170.
- Лапин П.И., Калуцкий К.К., Калуцкая О.Н.* Интродукция лесных пород. М.: Лесн. промыш., 1979. 224 с.
- Лаур Н.В.* Селекционные методы выращивания карельской березы в Карелии по методикам А.Я. Любавской // Вестн. МГУЛ. Лесн. вестн. 2006. № 5 (47). С. 81–88.
- Лаур Н.В.* Единый генетико-селекционный комплекс: учебное пособие. Петрозаводск: ПетрГУ, 2011. 130 с.
- Литвак П.В.* Карельська береза (*Betula verrucosa* var. *carelica* Soc.) в Українському поліссі // Укр. ботанічний ж. 1968. Т. 25. № 1. С. 103–106.
- Литвак П.В., Евдокимов А.П.* Опыт культур карельской березы в условиях Украинского Полесья // Изв. вузов. Лесн. журн. 1977. № 5. С. 149–151.
- Любавская А.Я.* Селекция и разведение карельской березы. М.: Лесн. пром., 1966. 124 с.
- Любавская А.Я.* Итоги интродукции карельской березы в Московской области // Лесная генетика, селекция и семеноводство / Ред. В.И. Ермаков. Петрозаводск: Карелия, 1970. С. 301–310.
- Любавская А.Я.* Карельская береза и ее место в системе рода *Betula* // Закономерности внутривидовой изменчивости лиственных древесных пород / Ред. С.А. Мамаев, А.К. Махнев. Свердловск: ИЭРиЖ УНЦ АН СССР, 1975. С. 111–114.
- Любавская А.Я.* Карельская береза. М.: Лесн. пром., 1978. 158 с.
- Любавская А.Я.* Лесная селекция и генетика. М.: Лесн. пром., 1982. 288 с.
- Любавский Д.В.* Опыт выращивания карельской березы на рекультивируемых землях Щелковского учебно-опытного лесхоза // Вестн. МГУЛ. Лесн. вестн. 2006. № 5 (47). С. 100–104.
- Мартынов Л.Г.* Интродукция древесных растений флоры Дальнего Востока в среднетаежной подзоне Республики Коми // Сиб. экол. журн. 2011. № 3. С. 349–355.
- Махнев А.К.* Интродукция карельской березы на Среднем Урале // Интродукция и акклиматизация декоративных растений / Ред. С.А. Мамаев, З.Д. Зайцева. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1982. С. 30–35.
- Машкина О.С., Буторина А.К., Табацкая Т.М.* Карельская береза (*Betula pendula* Roth var. *carelica* Merkl.) как модель для изучения генетической и эпигенетической изменчивости при формировании узорчатой древесины // Генетика. 2011. Т. 47. № 8. С. 1073–1080.
- Молотков П.И.* Проявление признаков “кареловости” у березы при выращивании ее в районе г. Харькова // Лесоводство и агролесомелиорация. Киев: Урожай, 1984. Вып. 69. С. 21–23.
- Муковнина З.П.* Анализ интродукционной устойчивости охраняемых растений природной флоры Цен-

- трального Черноземья // Вестн. ВГУ. Серия: Геогр. Геоэкол. 2010. № 2. С. 66–69.
- Некрасов В.И. Актуальные вопросы развития теории акклиматизации растений. М.: Наука, 1980. 102 с.
- Погиба С.П. Анализ культур березы карельской в Липецкой ЛОС // Науч. тр. МЛТИ. 1992. Вып. 256. С. 23–25.
- Погиба С.П., Казанцева Е.В. Онтогенез карельской березы в культурах Московской области // Вестн. МГУЛ. Лесн. вестн. 2006. № 5 (47). С. 75–81.
- Попов В.К., Сиволопов А.И., Кузнецова Н.А. Формовое разнообразие карельской березы в старейших культурах под Воронежем // Генетика и селекция – на службе лесу / Тез. докл. междунар. науч.-практ. конф. (Воронеж, 28–29 июня 1996). Воронеж: НИИЛГиС, 1996. С. 52–53.
- Прохорова Е.В., Несветаев В.А. Опыт выращивания карельской березы на постоянном лесосеменном участке в Шабалинском лесхозе Кировской области // Вестн. МГУЛ. Лесн. вестн. 2007. № 5 (54). С. 90–96.
- Путенихин В.П. Цивилизация деревьев (научно-популярные очерки о природе). Уфа: Информреклама, 2007. С. 68–71.
- Путенихин В.П., Фарушкина Г.Г. Карельская береза в Республике Башкортостан // Аграр. Россия. Спецвыпуск. 2009. С. 164–165.
- Розно С.А. Экологобиологический анализ итогов интродукции древесных растений в лесостепи Среднего Поволжья: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Самара: СамГУ, 2005. 20 с.
- Савельев О.А. Автовегетативное размножение ценных форм карельской березы: Автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. СПб.: ЛТА, 1992. 19 с.
- Сакс К.А., Бандер В.Л. Опыт по выращиванию карельской березы в Латвийской ССР // Лесная генетика, селекция и семеноводство / Ред. В.И. Ермаков. Петрозаводск: Карелия, 1970. С. 294–300.
- Соколов Н.О. Краеведам о карельской березе. Петрозаводск: Карельский гос. музей, 1938. 16 с.
- Соколов Н.О. Карельская береза. Петрозаводск: Гос. изд. Карело-Финской ССР, 1950. 116 с.
- Соколов А.И. Повышение ресурсного потенциала таежных лесов лесокультурным методом. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2016. 178 с.
- Соколов А.И., Федорец Н.Г., Кривенко Т.И. и др. Первичные этапы формирования биогеоценозов при разведении карельской березы на отвалах Костомукшского железорудного месторождения // Изв. СПб. лесотех. акад. 2010. № 191. С. 22–31.
- Суходольский Д.А. Опыт разведения и акклиматизации березы карельской в Сибири // Лесн. хоз. 1971. № 11. С. 86–89.
- Табацкая Т.М., Бутова Г.П., Машкина О.С. Объект № 95. Опытные плантационные культуры хозяйственно ценных форм карельской березы, созданные на основе технологии *in vitro* // Опытно-производственные селекционно-семеноводческие объекты НИИЛГиС. Т. 2. Воронеж: НИИЛГиС, 2004. С. 171.
- Титок В.В., Володько И.К. Интродукция растений и биологическое разнообразие // Наука и инновации. 2012. № 4 (110). С. 59–61.
- Трулевич Н.В. Эколого-фитоценотические основы интродукции растений природной флоры СССР: Автореф. дис. ... д. б. н. М.: ГБС АН СССР, 1983. 44 с.
- Трулевич Н.В. Эколого-фитоценотические основы интродукции растений. М.: Наука, 1991. 215 с.
- Хакимова З.Г. Карельская береза в Республике Марий Эл и Ульяновской области // Изв. вузов. Лесн. журн. 2002. № 4. С. 40–45.
- Хакимова З.Г. Оценка и использование ресурсов декоративной древесины лиственных пород в условиях Среднего Поволжья: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Йошкар-Ола: МарГУ, 2004. 20 с.
- Шапкин О.П., Казанцева Е.В. Вегетативное размножение форм карельской березы с декоративной текстурой древесины // Тез. докл. междунар. симпоз. “Строение, свойства и качество древесины – 96” (Мытищи, октябрь 1996). М.: МГУЛ, 1996. С. 36.
- Яблоков А.С. Лесное семеноводство и селекция. М.-Л.: Гослесбумиздат, 1949. 275 с.
- Яскина Л.В. Опыт выращивания карельской березы в Ташкентском оазисе: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Ташкент: Ташкентский с.-х. ин-т, 1969. 22 с.
- Яскина Л.В. Рост и развитие саженцев карельской березы в орошаемом питомнике Ташкентского оазиса // Науч. тр. Ташкент. с.-х. ин-та. 1972. Вып. 25. С. 164–169.
- Яскина Л.В. Опыт выращивания карельской березы Самаркандским лесхозом // Науч. тр. Ташкент. с.-х. ин-та. 1977. Вып. 71. С. 25–31.
- Consensus document on the biology of European white birch (*Betula pendula* Roth). Series on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology. № 28. Paris: OECD, 2003. 46 p.
- Emanuelsson J. The natural distribution and variation of curly birch (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merkl.) Sok.) in Sweden. Examensarbete i ämnet skogsskötsel. Umeå: Institutionen för skogsskötsel sveriges lantbruksuniversitet, 1999. 54 p.
- Etholén K. Kokemuksia visakoivun kasvatuksesta lapissa // Silva Fenn. 1978. V. 12. № 4. P. 264–273.
- Hagqvist R., Mikkola A. Visakoivun kasvatus ja käyttö. Metsäkustannus Oy, 2008. 168 s.
- Hejtmánek J. *Betula pendula* var. *carelica* Sokolov v Československu // Preslia. 1957. V. 29. P. 264–268.
- Kleinschmit J. Konsequenzen aus Birkenzüchtung für die forstliche Praxis // Forst und Holz. 2002. Jg. 57. № 15/16. S. 470–475.
- Kosonen M., Leikola M., Hagqvist R. et al. Visakoivu curly birch. Metsälehti Kustannus, 2004. 208 p.
- Lindquist B. Forstgenetik in der schwedischen Waldbaupraxis. Radebene und Berlin: Neumann Verlag, 1954. 156 S.
- Martinsson O. Odling av masurbjörk – en outvecklade nisch för svenskt skogsbruk // Fakta Skog. 1995. № 11. 4 s.
- Matsson J. Identification and propagation of novel value-added hardwood varieties. Project number: Y062183 Forestry science program year-end report 2005/2006. 2006.

- Pagan J., Paganová V.* Breza biela svalcovita (*Betula alba* L. var. *carelica* Merk.) na Slovensku. Curly birch in Slovakia. Zvolen: Technická univerzita, 1994. 75 s.
- Saarnio R.* Viljeltyjen visakoivikoiden laatu ja kehitys Etelä-Suomessa // *Folia Forestalia*. 1976. № 263. P. 3–28.
- Saarnio R.* Visakoivu – vuoden puu // *Dendrologian seuran tiedotuksia*. 1980. V. 11. № 1. S. 4–14.
- Scholz E.* Das Verbreitungsgebiet der Braunmaserbirke // *Archiv für Forstwesen*. 1963. B. 12. № 12. S. 1243–1253.
- Václav E.* Rozšíření, stanovištní podmínky a růst svalcovité břízy (karelské) v Evropě // *Sborník lesnické fakulty VŠZ v Praze*. 1963. № 6. S. 217–237.

Introduction of the Curly Birch

L. V. Vetchinnikova^{a, *} and A. F. Titov^{b, c, **}

^a*Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia*

^b*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia*

^c*Department of Multidisciplinary Scientific Research, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia*

*e-mail: vetchin@krc.karelia.ru,

**e-mail: titov@krc.karelia.ru

The article summarizes the results of over half a century of research regarding the experience of curly (Karelian) birch introductions in Russia and abroad. The background is briefly outlined. The growth and development of curly birch in different edaphoclimatic environments in Russia are analyzed. The main indirect indicators that the wood has figured grain, and the features of their expression in introduced trees are described. It is demonstrated that one of the key outcomes of the years of activities is that introduced curly birch retains its major distinctive biological features – growth form polymorphism and figured grain, across years and edaphoclimatic conditions. A number of activities and tasks for curly birch introduction efforts are named, which are of both applied and fundamental research nature, and which, as the authors believe, need to be addressed to not only conserve but also to expand the reproduction of the gene pool of this unique tree.

Keywords: curly birch, *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, introduction, edaphoclimatic conditions, figured wood, growth form polymorphism

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

DOI: 10.31857/S004213242103011X

Журнал “Успехи современной биологии” публикует обзорные и теоретические статьи, отражающие современные достижения биологии, а также принципиально важные экспериментальные работы с соответствующим теоретическим обсуждением. В случае, если статья подготовлена в форме нескольких сообщений, они должны быть представлены одновременно. Статьи, отклоненные редколлегией, к повторному рассмотрению как правило не принимаются.

Отправляя рукопись в журнал, автор гарантирует, что соответствующий материал (в оригинале или переводе на другие языки или с других языков) ранее нигде не публиковался и не находится на рассмотрении для публикации в других изданиях.

Редакция журнала просит авторов при направлении статей в печать руководствоваться изложенными ниже правилами, а также по возможности использовать стилевой файл, помещенный на сайте www.pleiadesonline.com. Стилевой файл создан для упрощения работы авторов по подготовке рукописей к публикации. Он предоставляет возможность одним нажатием кнопки на панели инструментов изменить весь комплекс стилей для выбранного фрагмента в соответствии со стандартами по предоставлению рукописей.

Редакция журнала принимает рукописи через авторский портал редакционно-издательской системы издательства Pleiades Publishing. Сведения о прохождении рукописи, рецензирование, согласование авторской правки осуществляются через личный кабинет автора после регистрации на сайте системы: <https://publish.sciencejournals.ru>.

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ РУКОПИСИ

Статья должна быть напечатана однотипно 12 кеглем через 1.5 интервала (таблицы тоже) на одной стороне листа формата А4, с полями не менее 3 см со всех сторон. При наборе используйте стандартные Windows TrueType шрифты (Times New Roman – для текста, Symbol – для греческих букв, MathematicalPi2 – для рукописных и готических символов). Общий объем рукописи (включая аннотацию, литературу, таблицы, и подписи к рисункам) не должен превышать **35** страниц. Число рисунков не должно быть более **семи**.

К рукописи должна быть приложена “Страничка для переводчика”: резюме на английском языке, название статьи, общепринятое название учреждения, где выполнена работа, транслитерация фамилий авторов, перевод ключевых терминов, обозначений, сокращений и единиц измерений.

На отдельной странице следует привести ФИО всех авторов полностью, места работы, номера телефонов (мобильный и рабочий), адрес электронной почты и скайп-имя для связи с редактором.

В сопроводительном письме редколлегии журнала просит авторов назвать 3–5 возможных рецензентов указанной работы (при возможности указать электронные адреса).

Обращаем Ваше внимание, что новые статьи редакция принимает только по электронной почте в формате **doc**. Файлы рукописей, подписанных договоров и сопроводительных писем должны быть собраны в один архив (желательно **ZIP**). Бумажный вариант предоставлять не нужно!

Статья, поступающая для публикации, должна сопровождаться: направлением от учреждения, в котором выполнена работа; лицензионным договором между автором и главным редактором журнала (образец договора см. на сайте <http://sciencejournals.ru/journal/uspbio/>).

СТРУКТУРА РУКОПИСИ

УДК – индекс Универсальной десятичной классификации (**курсивом** в левом верхнем углу);

– название статьи;

– инициалы, затем фамилии авторов;

– полное название учреждения (аббревиатура не допускается), город, адрес электронной почты (**курсивом**);

– аннотация (поместить после шапки статьи); из аннотации должно быть ясно, какие проблемы рассматриваются в статье, какие вопросы в ней обсуждаются;

– ключевые слова (3–6 слов или коротких словосочетаний), точно отражающие содержание статьи и не повторяющие название.

Отметить арабскими цифрами соответствие фамилий авторов учреждениям, в которых они работают; звездочкой помечается фамилия автора, ответственного за корреспонденцию.

Статья должна включать следующие рубрики:

ВВЕДЕНИЕ, ЗАКЛЮЧЕНИЕ, БЛАГОДАРНОСТИ (общая информация о любой помощи в проведении работы и подготовке статьи: сообщения о полезных обсуждениях и дискуссиях, благодарности коллегам и рецензентам (в особых случаях); сообщения о предоставлении материалов, научных данных, компьютерного оборудования, приборов — во временное пользование; информация о проведении исследований в центрах коллективного пользования; помощь в технической подготовке текста; все остальное, что оценивается как полезная помощь, но не является достаточным, чтобы считаться вкладом в авторство работы), **ФИНАНСИРОВАНИЕ** (информация о грантах и любой другой финансовой поддержке исследований. Просим не использовать в этом разделе сокращенные названия институтов и спонсирующих организаций), **КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ, СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ** (обязательный раздел при подаче статей в журналы биологической тематики, см. <http://pleiades.online/ru/authors/guidlines/ethics-statements/>) и **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**.

Статья может быть разбита на разделы и подразделы с четким выделением их соподчиненности. Названия разделов печатаются прописными буквами на отдельной строке без подчеркивания. Подзаголовки внутри разделов так же печатаются на отдельной строке светлым курсивом.

Экспериментальные статьи должны включать рубрики: **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**.

Текст. Все части статьи (таблицы, сноски и т.д.) должны быть приведены полностью в соответствующем месте статьи (**каждая таблица печатается на отдельной странице**). Подписи к рисункам представляют на последней странице текста, далее следуют сами рисунки без подписей. В соответствующем месте текста должна быть ссылка на рисунок, а на полях рукописи отмечено место, где о данном рисунке идет речь.

Транскрипция, шрифты, выделения. В тексте статьи следует избегать употребления слов и фамилий в иностранной транскрипции. Прописные (заглавные) буквы внутри фразы допускаются лишь для имен собственных, родовых латинских названий организмов и для существительных на немецком языке. В остальных случаях, в том числе и в списке литературы, все слова внутри фразы пишутся со строчной буквы.

Сокращения и условные обозначения. Следует по мере возможности избегать сокращений, кроме общеупотребительных. Если все-таки используются сокращения, то они должны быть расшифрованы в тексте при их первом упоминании. Допускаются лишь принятые в Международной системе единиц сокращения мер, физических,

химических и математических величин и терминов и т.п. В бинарной систематической и аналитической номенклатуре сокращения допускаются при частом и повторном их упоминании, и то лишь в отношении родового названия. **Латинские видовые и родовые названия, а также обозначения генов, даются курсивом** (например, *D. melanogaster*).

Литература. Вся литература должна быть сведена в конце статьи в алфавитные списки **без нумерации** отдельно для русских и иностранных авторов. Работы одного и того же автора располагают в хронологической последовательности. В списке литературы приводят следующие данные: а) фамилию и инициалы автора (авторов), б) название работы, журнала (книги, диссертации), год, том, номер, первую и последнюю страницу (для книг сообщают место издания, издательство и количество страниц, для диссертации — институт, в котором выполнена работа). Название журнала дают в общепринятом сокращении, книги или диссертации — полностью. Обратите внимание на знаки препинания, а так же на то, что фамилии авторов даются курсивом. Указывать следует имена четырех авторов, если их число более четырех, то даются первые три фамилии, далее “и др.” или “et al.”.

Образец:

Иванов А. С., Петров, В. Н., Сидоров М. Ю. и др. Название статьи // Название журнала. 1994. Т. 26. С. 15–24.

Андреева С. А. Название книги. М.: Наука, 1990. Общее число страниц в книге (например, 230 с.) или конкретная страница (например, С. 75).

Иванов И. И. Название диссертации: Дис. ... канд. биол. наук. М.: Название института, 1992. 184 с.

В тексте следует ссылаться следующим образом на работы, напечатанные кириллическими шрифтами: (Юрцев, 1992) или “...в смысле А. И. Толмачева (1931)...” (**с непременно указанием инициалов!**); на работы, напечатанные латиницей: (Schulte, 1989) или “...по Ротмалеру (Rothmaler, 1976).” (**без инициалов автора!**). При ссылке на несколько работ одного автора их следует перечислять в хронологическом порядке, используя при необходимости буквенные индексы для обозначения разных работ, опубликованных в один и тот же год, например (Schaffer, 1984, 1985b) или Б. М. Миркин (1989b, 1996). При одновременной ссылке на несколько работ разных авторов их следует перечислять в хронологическом порядке, отделяя друг от друга точкой с запятой: (Шнюкова, 1977; Зимица, Сазыкина, 1987; Fogg, 1965). При ссылке на совместную работу двух авторов следует указывать фамилии обоих через запятую: (Tu-fail, Fogg, 1987). При ссылке на совместную работу более двух авторов следует использовать сокращения и др. или et al. после фамилии первого ав-

тора: (Бурковский и др., 1997; Tufail et al., 1989). При прямом цитировании текста необходимо в ссылке указывать номер страницы. Список литературы не должен превышать **120** источников.

Иллюстрации. К статье может быть приложено небольшое число рисунков и схем, предпочтительно в форматах **tiff** и **eps**. Не желательно использовать файлы в формате **jpg**. Все иллюстрации должны быть импортированы в конец файла статьи к соответствующим подрисуночным подписям. При наличии нескольких частей одной иллюстрации они должны быть отмечены как (а), (б), (в) и т.д., располагаться последовательно и иметь общую подпись. Внутри файла не нужно группировать иллюстрации по ячейкам таблицы или каким-либо аналогичным способом. При этом с рукописью обязательно должны быть сданы исходные файлы иллюстраций. Иллюстрации должны иметь размеры, соответствующие их информативности: 8–8.5 см (на одну колонку) или 17–17.5 см (на две колонки); для надписей и обозначений используйте стандартные TrueType шрифты. Просьба не добавлять на задний план иллюстраций серый (цветной) фон или сетки.

Графики и диаграммы желательно готовить в векторных графических редакторах с разрешением не ниже 600 dpi, толщина линий не должна быть меньше 0.5 pt; векторные иллюстрации не должны содержать точечных закрасок, таких как “Noise” “Black&white noise” “Top noise”; для векторной графики все использованные шрифты должны быть включены в файл. Полутонные иллюстрации должны иметь разрешение не ниже 300 dpi. **Иллюстрации, вставленные в WORD не являются оригиналами, должны быть представлены отдельные файлы.**

Цветные иллюстрации не принимаются. Представленные фотографии должны быть контрастными, хорошо проработанными в деталях, на белой глянцевой бумаге. На первом экземпляре фотографии не должно быть никаких пометок и обозначений.

При отсутствии хотя бы одного из указанных выше элементов рукопись может быть отклонена без рассмотрения по существу.

В случае отклонения статьи редакция высылает автору соответствующее уведомление. Редакция вправе не вступать в переписку с автором относительно причин (оснований) отказа в публикации статьи. Редакция оставляет за собой право на сокращение текста, не меняющее научного смысла статьи.

Дополнительные материалы к статьям. Для более полного описания исследования, к статье могут прилагаться дополнительные материалы (аудио- и видеофайлы, презентации, дополнительные таблицы и рисунки и пр.) при условии, если автор является правообладателем прилагаемых материалов, и автором ранее не были переданы авторские права на их использование иным (кроме издателя) лицам, либо автор имеет письменное разрешение правообладателя на их использование в целях опубликования и распространения в журнале. **Дополнительные материалы публикуются только в электронной версии журнала.**

Статья должна быть законченным произведением. Не допускается выносить в дополнительные файлы материалы, критически важные для понимания статьи. Дополнительные материалы издателем публикуются в исходном авторском исполнении. Файлы дополнительных материалов должны именоваться по порядку: “ESM_1.mpg”, “ESM_2.pdf”, “ESM_3.xls”. В тексте статьи будет указана ссылка на наличие дополнительных материалов: “Дополнительные материалы для этой статьи находятся по адресу <номер DOI> и доступны для авторизованных пользователей”.

Дополнительные материалы являются частью статьи, на которую распространяются все правила и требования, предъявляемые к статье издателем и действующим законодательством как к самостоятельному объекту авторских прав, в том числе условия о необходимости заключения авторского договора на прилагаемые материалы. Подробности см. на сайте <http://pleiades.online/ru/authors/guidlines/prepare-electronic-version/supplementary-materials/>.