

СОДЕРЖАНИЕ

Том 141, номер 5, 2021

Системные интеграторы жизни <i>В. Н. Шабалин, С. Н. Шатохина</i>	419
Современное понимание молекулярных механизмов адипогенеза и пластичности жировой ткани <i>О. П. Шатова, А. А. Заболотнева, А. В. Шестопалов</i>	428
Роль селена в жизнедеятельности растений, животных и человека <i>А. Ф. Титов, Н. М. Казнина, Т. А. Карапетян, Н. В. Доршакова, В. Н. Тарасова</i>	443
КОВИД-19. Клеточные и молекулярные механизмы поражения мозга <i>О. А. Гомазков</i>	457
Протеолитические ферменты мицелиальных грибов с плазминоподобной и активаторной к плазминогену активностью <i>А. А. Осмоловский, В. Г. Крейер, Н. А. Баранова, Н. С. Егоров</i>	467
Культура <i>in vitro</i> автономных зародышей как модельная система для исследования стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам (на примере злаков) <i>Н. Н. Круглова, А. Е. Зинатуллина</i>	483
Родентициды и гибель диких животных <i>Е. В. Ерофеева, Ю. Е. Суркова, А. В. Шубкина</i>	496
Токсичные фталаты в кормовых растениях сухих степей европейской части России <i>А. Е. Скопин, А. А. Анискина, Г. В. Пермякова, С. Р. Лоскутов, Б. Д. Абатуров, Р. Р. Джапова, Е. Ч. Аюшева</i>	508

Contents

Vol. 141, No. 5, 2021

Life's System Integrators <i>V. N. Shabalin and S. N. Shatokhina</i>	419
Modern Understanding of Molecular Mechanisms of Adipogenesis and Plasticity of Adipose Tissue <i>O. P. Shatova, A. A. Zabolotneva, and A. V. Shestopalov</i>	428
The Role of Selenium in the Life of Plants, Animals and Human <i>A. F. Titov, N. M. Kaznina, T. A. Karapetyan, N. V. Dorshakova, and V. N. Tarasova</i>	443
COVID-19. Cellular and Molecular Mechanisms of Brain Damage <i>O. A. Gomazkov</i>	457
Proteolytic Enzymes of Mycelial Fungi with Plasmin-Like and Plasminogen-Activator Activity <i>A. A. Osmolovskiy, V. G. Kreyer, N. A. Baranova, and N. S. Egorov</i>	467
<i>In Vitro</i> Culture of Autonomous Embryos as a Model System for the Study of Plant Stress Resistance to Abiotic Factors (on Example of Cereals) <i>N. N. Kruglova and A. E. Zinatullina</i>	483
Rodenticides and Wildlife Deletion <i>E. V. Erofeeva, Ju. E. Surkova, and A. V. Shubkina</i>	496
Toxic Phthalates in Forage Plants in the Dry Steppe of the European Part of Russia <i>A. E. Scopin, A. A. Aniskina, G. V. Permyakova, S. R. Loskutov, B. D. Abaturov, R. R. Dzhapova, and E. Ch. Ayusheva</i>	508

УДК 573.22

СИСТЕМНЫЕ ИНТЕГРАТОРЫ ЖИЗНИ

© 2021 г. В. Н. Шабалин¹, С. Н. Шатохина¹, *

¹Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

*e-mail: niopp@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.02.2021 г.

После доработки 14.03.2021 г.

Принята к публикации 14.03.2021 г.

Дан общий анализ основных механизмов эволюционного развития живой материи, которые сведены в семь важнейших принципов: 1) превращение простого в сложное; 2) самоорганизация; 3) метаболизм; 4) мутагенез; 5) комитация; 6) старение; 7) давление интеллекта. Показано системное, общебиологическое значение этих принципов, отмечена их интегральная взаимозависимость, что в целом обеспечивает эволюционное развитие живой материи. Подчеркнута позитивная роль мутагенеза и старения живых тканей в эволюционном процессе. Отмечена неясность перспективы вмешательства интеллекта в дальнейшее развитие жизни.

Ключевые слова: эволюция, самоорганизация, структура, метаболизм, мутагенез, комитация, старение

DOI: 10.31857/S0042132421050070

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос о возникновении жизни витает в умах человечества многие тысячелетия — с тех пор как возникло абстрактное мышление, открывшее возможность мысленно выйти как на бескрайные дали космоса, так и погрузиться в бесконечные глубины живой материи. Однако только в последнее столетие стала складываться парадигма, дающая общее представление о появлении и развитии живых организмов на Земле. При всей сложности понимания этого процесса, множественности и противоречивости его толкований, в нем условно можно выделить наиболее значимые разделы, которые мы свели в семь основных принципов, придав им значимость системных интеграторов.

ПРЕВРАЩЕНИЕ ПРОСТОГО В СЛОЖНОЕ

Большинство исследователей склонны считать, что жизнь на Земле возникла около 3.75 млрд лет тому назад. То есть, время жизни занимает значительную часть (82%) периода существования Земли (Хейзен, 2015; Dalrymple, 2001). Жизнь зародилась на дне океана вблизи горячих вулканических источников богатых металлами, углеродом, азотом, различными химическими соединениями. Взаимодействуя друг с другом, эти соединения формировали качественно новые молекулы. Так, в течение сотен миллионов лет на “химической кухне” Земли создавались компоненты для ее величества Жизни.

Первым “блюдом”, которое было приготовлено на этой “кухне” являлся так называемый первородный (предбиотический) бульон. Он представлял собой самоорганизующуюся, быстро усложняющуюся в процессе развития субстанцию. Другими словами, на ранних стадиях своего существования живая материя была представлена не отдельными организмами, это была особая, отличная от видов, неизвестная нам форма живого вещества (Вернадский, 1978). Живая материя на данной стадии развития была единой биожидкостной системой, имеющей сравнительно простую структурную организацию. Эта система стала прародителем всех существовавших и существующих на Земле биологических видов.

Начало живой материи положило возникновение простых органических молекул (Эйген, 1973). Все изумительное разнообразие жизненных форм природа создавала из весьма немногих химических элементов. Достаточно сказать, что на долю кислорода, углерода, азота и водорода приходится 96% всей массы живого вещества Земли — поразительна основа простого в сложном.

Живая материя начала свое активное развитие с того момента, когда органические молекулы самоорганизовались в структуры, способные воспроизводить самих себя. В ходе эволюции возникли специализированные молекулы ДНК — хранители биологической информации, и не менее специализированные молекулы белка — собиратели новой информации, направленной на со-

вершенствование структуры живой материи. Накопленная биоструктурная информация молекулярного уровня позволила эволюции сделать качественно новый шаг – перейти к индивидуализированной форме организации живой материи – клетке (Гусейнова, Мамедова, 2019).

Публий Сир (I в. до н. э.) отметил: “То, что должно вознестись на самый верх, начинается в самом низу”. Основной закон развития жизни во Вселенной гласит: всякое последующее действие происходит на основе памяти предыдущих действий. При этом формируется новая структура памяти, куда первая ее форма входит составной частью и не видоизменяется, а вписывается в качестве элемента новой структуры. Иными словами, эволюционное движение системной организации живой материи строго соблюдает принцип иерархичности: последовательное включение структурно-информационных систем нижних уровней в системы более высокого уровня. В результате каждый современный организм содержит информацию о структуре живых организмов прошлого. Известный биогенетический закон Геккеля, сводящийся к знаменитой фразе: “Онтогенез повторяет филогенез”, основан на том, что организм на стадиях эмбриона и раннего плода ускоренно проходит путь эволюции своего вида (Colonna, 2012). Универсальность этого закона опровергается современными биологами (Палмер Д., Палмер Л., 2003), однако его принципиальные положения имеют объективные доказательства.

При этом в результате громадного объема конформационных превращений молекулярных структур каждый индивид в течение жизненного цикла вносит свой оригинальный вклад корректирующей информации в генетический и соматический материал вида и живой материи в целом. К настоящему времени накопленный объем данной информации привел к созданию мыслящей материи.

САМООРГАНИЗАЦИЯ

Явление самоорганизации вещества в природе является наиболее сложной загадкой возникновения жизни (Эйген, 1973; Бауэр, 2002). Самоорганизация есть внутреннее свойство материи. Факторы внешней среды (температура, плотность, состав и др.) оказывают определенное неспецифическое влияние на процессы самоорганизации. Но специфические параметры образующейся системы формируются только ее имманентными механизмами. Самоорганизация осуществляет взаимодействие элементов и образует определенную систему, в которой возникают свойства, отсутствующие в ее элементах.

В основе самоорганизации живых систем лежит образование внутри- и межмолекулярных связей органических молекул. При этом первичные внутримолекулярные связи (цепочка аминокислот) белковых молекул определяются генетической программой. В то время как для образования вторичных молекулярных и межмолекулярных связей, геном определяет только потенциальные возможности, а реализация конкретных структурных вариантов происходит под воздействием внешних факторов.

Эволюция жизни является результатом самоорганизации определенных молекулярных структур, способных создавать по отношению к внешней среде формы устойчивого неравновесия высокой степени (Эйген, Шустер, 1982). В отличие от косных, живые системы имеют не только внешнее, но и выраженное внутреннее неравновесное состояние с отчетливой противоречивостью его составляющих. Именно внутреннее противоречие является побудительным моментом развития живой системы. Так, например, яйцеклетка и сперматозоид – две структуры, сливаясь в одну систему, создают зиготу, несущую в себе мощное внутреннее противоречие, которое определяет взрывоподобное развитие организма в эмбриональном периоде. Чем более совершенна живая структура, тем большим внутренним и внешним (по отношению к окружающей среде) неравновесием она обладает. Человек на текущем этапе эволюции является самой неравновесной, самой экстраполированной структурой материального мира.

Структура – это пространственная ориентация элементов, удерживаемая физико-химическими связями между ними. Что является более важным в живых системах: составляющие их элементы или связи, существующие между этими элементами? Если взять даже самую сложную биологическую систему – организм человека, то мы не найдем в нем никаких элементов, отсутствующих в окружающей природе. И только связи, существующие между этими элементами, превращают их в сложнейшую систему, наделенную исключительно высокими функциями. Таким образом, основное значение в определении структуры и функции живой материи имеет не вид элементов, а характер взаимосвязей между ними.

Внутримолекулярные и межмолекулярные связи – это энергетические связи, то есть, ни атомы, ни молекулы не соприкасаются друг с другом непосредственно. Между ними всегда существует “прослойка” физического (энергетического) поля, локальная организация которого формирует все существующие в мироздании физические (химические) связи. Первичность энергии в построении Мироздания отмечал Аристотель: “Нет, не с

одного хаоса, не с ночи, продолжавшейся бесконечное время, как объясняют наши жрецы-теологи, начало всего. Откуда взялось бы что-либо, если бы в самой действительности не было причины? Энергия есть высшее и первое” (Герцен ..., 1954–1966). Материя пребывает одновременно в двух фазах: вещества и физического поля, однако это единое материально-энергетическое состояние. С энергетических позиций процесс самоорганизации органических молекул следует рассматривать как двусторонние переходы кинетической энергии в потенциальную и обратно. Химические (физические) связи формируют единый энергетический союз. Внутримолекулярные связи – это устойчивые концентраты потенциальной энергии, определяемые имманентными свойствами материальных частиц. Однако эти свойства проявляются под воздействием внешних энергетических факторов с определенными параметрами. Изменение параметров внешней энергетической среды может перевести потенциальную энергию связей в кинетическую, то есть разрушить эти связи и построить другие. Такие энергетические переходы лежат в основе конформационных превращений органических молекул.

Благодаря энергетическим связям в белковых молекулах заложены потенциальные возможности, открывающие безграничные просторы для их конформационных превращений. Эти возможности обеспечивают адаптацию организма к изменениям внешней среды. Белковая молекула не имеет статической формы, она находится в процессе непрерывных конформационных превращений. Слабые связи, формирующие ее вторичную структуру, разрываются и на их место тут же приходят новые. При этом нужно учитывать, что общее число молекул белка в организме человека более 10^{25} – безграничная область поисковых преобразований.

Живой организм представляет собой открытую систему, которая постоянно “фильтрует” через себя внешние материально-энергетические потоки в виде пищевых, водных, воздушных масс, микрофлоры, тепловых, электромагнитных и других факторов окружающей среды. Цель этой “фильтрации” состоит в извлечении из внешних структур адекватной информации, которая используется в построении и коррекции собственных тканевых структур организма. Именно свойство белковой молекулы исключительно быстро менять структурную форму в ответ на изменение химического состава окружения позволяет ей “просчитывать” мириады структурных вариантов и выбирать наиболее эффективные для адаптивной реакции организма на внешнее информационное воздействие.

Этот постоянно текущий высокоскоростной широкоформатный процесс конформационных

превращений органических молекул является главным отличительным признаком живого вещества от неживого (Сахаров, Литвицкий, 2016). Трудно представить гигантский по объему, глубине и сложности процесс переработки информации, происходящий в биосфере в интересах эволюции. Бесчисленные множества атомов, молекул, клеток и многоклеточных организмов непрерывно работают в поиске более совершенных структур, обеспечивая их последовательное приближение к высшему уровню морфологических и функциональных параметров. Данный поиск является фундаментальным смыслом существования живой материи.

Виды преобразования биосферы носят временной характер. Базисные возможности эволюционной самоорганизации ушли в прошлое и не повторяются: живая материя уже не может в настоящее время сформироваться из неживого вещества, клетки не образуются из неклеточного вещества, из современной обезьяны, в отличие от ее исторического предка, не может развиваться эволюционная ветвь человечества. В настоящее время вся биосферная самоорганизация сосредоточена не на увеличение объема живой материи, а работает над ее качественным совершенствованием.

МЕТАБОЛИЗМ

Все живое на нашей планете объединено единым метаболическим процессом, в котором ткани одних организмов являются пищевым субстратом для других. Живые организмы питаются живой материей, они строят свои структуры из тканей, созданных различными предшествовавшими и сосуществующими биологическими видами. Говоря другими словами, ныне существующие организмы состоят из атомов и молекул, которые уже побывали в миллиардах иных организмов и приобрели определенный объем структурной памяти. Обработка имеющейся информации в биосфере осуществляется посредством перманентного глобального анализа вновь возникающих молекулярных структур и выбора перспективных элементов для построения живых структур более высокого уровня.

Вирусы вторгаются в бактериальные клетки, бактерии и грибы атакуют более высокоорганизованные формы жизни, а последние, в свою очередь, метаболизируют нижестоящие формы. При этом каждый биологический вид обладает лишь частью возможностей интегрального биосферного метаболизма. Сложенные метаболические взаимоотношения представителей микромира, растительного и животного миров – есть согласованный информационно-аналитический процесс, который лежит в основе эффективной переработки биосферной информации, постоянно попол-

няемой на молекулярном уровне отдельными организмами в процессе их жизнедеятельности.

Таким образом, метаболизм является когнитивно-креативным процессом круговорота веществ в биосфере, направленным на непрерывное самообновление структуры живой материи. Нет пищевой пирамиды, есть пищевой кругооборот. Его содержание представлено взаимосвязанными и сбалансированными механизмами ассимиляции (анаболизм) и диссимиляции (катаболизм). Иначе говоря, жизнь — это одновременно созидание и разрушение, рождение нового и умирание старого. Но это не “сизифов труд” — это направленный процесс совершенствования. Анаболизм не повторяет структуру органических молекул, подвергшихся катаболическому разрушению, а создает из их фрагментов новые более совершенные структуры органических молекул, что обеспечивает эволюционный прогресс.

МУТАГЕНЕЗ

Для живой материи характерны и детерминированность, и хаотичность. Полная детерминированность не может обеспечить адаптацию к изменяющимся факторам внешней среды. В то время как абсолютная хаотичность не позволит сформировать устойчивые связи между частями и целым, как в организме, так и в биосфере. Именно особое детерминированно-хаотическое состояние является основой преобразования живой материи, обеспечиваемое механизмами мутагенеза. Поскольку мутации считались единственным источником новых генов, многие генетики полагают, что эволюция двигалась вперед путем случайного накопления благоприятных мутационных изменений. Эта точка зрения получила название мутационизм (Де Фриз, 1973).

В узком понимании мутагенез трактуется как процесс изменения генетической информации, заложенной в нуклеотидной последовательности ДНК (Санаев и др., 1992). В качестве синонима термина “мутагенез” часто используют понятие “мутационный процесс”, которое включает в себя не только возникновение мутаций, но их накопление, распространение и элиминацию. Однако и такое понятие не отражает полноту сферы действия этого глобального биосферного явления. При широком анализе мутагенеза следует учитывать, что соматические элементы организма (белковые молекулы) являются продуктом реализации информации, заложенной в ядре клетки. В процессе выполнения своих функций белковые молекулы накапливают собственную информацию и, по принципу обратной связи, передают ее в ядерные структуры клетки. Информация, заложенная в белковых молекулах, оказывает влияние на генетический информационный комплекс и может вносить в него соответствующие измене-

ния посредством трансформации структуры ДНК. В организме постоянно протекает множество видов взаимосвязанных мутационных процессов во всех генетических и соматических структурах, что приводит к их конформационным изменениям различной локализации, степени выраженности и устойчивости. Таким образом, животные являются продуктами их эволюционной истории. Каждый индивид является уникальным результатом сложного взаимодействия между генными и соматическими структурами живой материи в условиях динамического изменения окружающей среды в течение эволюционного времени (From embryology ..., 2007).

Наиболее значимые для эволюции биологического вида ассимилированные мутации возникают в геноме половых клеток (гаметах), такие мутации называют генеративными. Эти мутации могут проявляться в следующих поколениях в виде различных фенотипических изменений (Nishikawa, Kinjo, 2018).

Огромное влияние на мутагенез макроорганизмов оказывают микроорганизмы, действующие посредством как своих генетических (прямое внедрение в геном макроорганизмов), так и соматических структур. При этом вирусы и бактерии также мутируют, что придает мутагенезу статус биосферного явления. Поэтому без преувеличения можно сказать, что все живые организмы находятся в состоянии перманентного мутагенеза. Таким образом, в отличие от широко распространенных представлений о мутагенезе как о сугубо негативных изменениях тканей организма, возникающих в результате ошибочного структурирования ДНК (Shendure, Akey, 2015), мутагенез следует понимать как непрерывный физиологический общебиологический процесс развития живой материи, распространяющийся на все органические молекулы (геномные и соматические) и далее — на построенную ими пирамиду различных надмолекулярных образований живой материи. Безусловно, в виде исключения, в процессе мутагенеза возникают негативные отклонения от физиологического течения. Такие отклонения снижают резистентность организма к неблагоприятным средовым факторам. Поэтому они удаляются из организма с помощью иммунной системы, а из биосферы — глобальными механизмами естественного отбора. Отсюда следует, что главное действие мутагенеза следует трактовать как процесс непрерывного совершенствования структуры органической материи.

КОМИТАЦИЯ

Биологическая память работает подобно хранилищу, который допускает движение только в одну сторону. Программа эволюции живой материи также не предусматривает возможности ее

обратного движения и значимых боковых ответвлений от заданного направления развития. Возникнув, живая структура (носитель памяти) порождает цепь будущих событий, где предыдущий шаг развития определяет последующий. Это происходит потому, что некая группа атомов в период химической эволюции получила комитацию (направленность структурных изменений) на построение органических молекул. В дальнейшем, на этапе биологической эволюции, органические молекулы получают комитационный толчок на создание определенных клеток, из которых построены микроорганизмы, грибы, растения, животные. Далее комитация определяет дифференцировку живой материи на типы, классы, отряды, семейства, роды, виды и т.д.

Принцип комитации действует и внутри организма, разделяя полипотентные клетки зародышевой ткани на клетки, формирующие головной мозг, печень, сердце, кровь и др. И это не предел. Так, например, стволовые кроветворные клетки, руководствуясь принципом комитации, разделяются на эритропоэтические, лейкопоэтические, мегакариоцитарные клетки. Процесс комитации на клеточном уровне реализуется путем дифференциации активности генов. По-видимому, неактивные в данной клетке гены блокируются некоторыми репрессорами, возможно, гистонами (Иорданский, 2001). В конечном итоге каждая клетка нашего организма представляет собой индивидуальную, неповторимую структуру с неповторимой функцией.

Комитация строго следит за тем, чтобы эволюционное движение живой материи осуществлялось только в направлении дальнейшего усложнения и совершенствования ее структуры и функции, не позволяя ей сойти с этой столбовой дороги. В то же время эволюционное развитие организма носит дискретный характер в отношении определенных систем и органов биологических видов. Уровень развития человека, по сравнению со многими животными, по таким системам, как пищеварительная, дыхательная, сердечно-сосудистая и другим, не имеет четких эволюционных преимуществ. Но это не относится к системе высшей нервной деятельности. По объему, скорости и качеству переработки информационных материально-энергетических потоков в интеллектуальной сфере человек намного превосходит любые другие биологические виды. Это означает, что человек коммитирован эволюцией на развитие интеллектуальной сферы живой материи.

На уровне человечества, как биологического вида, комитация потенциально понуждает его к формированию новой ветви эволюционного древа, то есть нового биологического вида, более развитого, чем человек. Таким образом, комитацию следует понимать как непрерывный глобальный

биосферный процесс создания биологических ветвей, не допускающий их пересечения и параллельного существования подобных.

СТАРЕНИЕ

Старость является таким же закономерным и неизбежным этапом развития организма, как эмбриональный, постэмбриональный, детский, юношеский и др. Тем не менее, старение в научной литературе получает самые противоречивые толкования и рассматривается, главным образом, с негативных позиций (Голубев, 2011; Сергиев и др., 2015; Bourke, 2007). Однако теоретический анализ фундаментальных механизмов процесса старения раскрывает его совершенно иную роль в эволюции жизни.

Непрерывный эволюционный поиск более совершенных структур является фундаментальным свойством живой материи, реализующимся на молекулярном уровне. При этом, создание новых структур невозможно без разрушения старых с последующим использованием составляющих их элементов для построения структур более высокого уровня. Этот процесс может происходить только с помощью механизмов старения структурных элементов организма. Новые структуры, которые несут в себе достаточно высокую адаптивную базу, закрепляются в определенных участках белковых молекул и архивируются. В результате эти участки становятся инертными и теряют свою функциональную активность, то есть они перестают реагировать на действие факторов окружающей среды и прекращают конформироваться.

По мере накопления архивной части в белковой молекуле уменьшается ее функционально активный фрагмент, что и является основой старения. Информация, накопленная белковыми молекулами, по принципу обратной связи передается геному клетки. Здесь происходит отбор ее наиболее ценных информационных элементов, что вызывает преобразование структуры генома и стабилизацию (архивацию) его определенных участков. Архивированная информация генома клетки закладывается в структуру вновь формирующихся белковых молекул. Таким образом, продуцируемые клеткой новые белковые молекулы уже несут в себе архивированные функционально инертные участки, число которых постоянно увеличивается в процессе онтогенеза. Эти белковые молекулы своими функционально активными участками собирают новую информацию и доставляют ее в геном клетки.

В процессе деления клетки ее потомки получают материнский геном с определенным объемом архивированной структурной памяти. Этот объем прогрессивно нарастает при каждом последую-

шем делении. По достижении критического уровня архивирования структуры генома клетки данной линии теряют свою функциональную активность и подвергаются апоптозу. Таким образом, в результате возрастных онтогенетических преобразований в организме происходит пошаговое увеличение архивной части геномных и соматических структур клеток. Эти базисные изменения, постоянно протекающие в организме, определяются непрерывным, направленным повышением ригидности химических связей, формирующих структуру живых тканей. В результате организм стареет в целом — постепенно накапливает и архивирует новую структурную информацию и одновременно теряет функциональную активность. Органические молекулы “свертываются в кокон”. Такие изменения в конечном итоге приводят к снижению уровня жизнеспособности организма и смерти.

Попадая после смерти организма в общую массу биосферы, его ткани метаболизируются различными представителями широкого пула живых систем, которые используют его архивы структурной информации для построения своих тканей. Таким образом, каждый вновь формирующийся организм “становится на плечи” своих предшественников и, участвуя в процессе глобального (биосферного) филогенеза, создает новые структуры более высокого качества, обеспечивая эволюционное прогрессирование живой материи.

В геном половых клеток соматические структуры организма передают наиболее ценную информацию, которая создает платформу для повышения скорости и качества структурного преобразования организма потомков. При этом геном половых клеток также накапливает архивы информации, что вызывает в процессе филогенеза старение биологического вида.

Геном человека в процессе онтогенеза прочно удерживает динамику структурно-функциональных изменений организма в узком коридоре допустимых пределов отклонения. В молодом возрасте при физиологическом развитии организма все белковые молекулы следуют указаниям генетической программы развития. Но вот приходит зрелый, пожилой, старческий возраст, активность генома снижается, системная организация организма теряет свою устойчивость, и процесс конформации белковых молекул начинает выходить за границы, допущенные генетической программой.

Важно также отметить, что старение организма никогда не протекает в чисто физиологическом русле, в его поток всегда вливаются “ручьи патологии”. Поэтому молекулы в период старости и патологических отклонений, частично выходя из подчинения геному, получают более широкие

возможности своих структурных преобразований, выходя за генетически детерминированные границы конформации. Их “свободное творчество” повышает вероятность создания абсолютно новой оригинальной структуры, которая броском (или крутым подъемом) может подвинуть живую материю к совершенству в тысячи раз быстрее, чем при их “системопослушном поведении” в молодом возрасте при физиологическом развитии. В то же время старение и болезнь снижают адаптационные возможности организма и сокращают продолжительность его жизни. Однако для биологического вида и живой материи в целом нахождение организмом качественно новой структуры означает приобретение “опорной точки” для интенсивного движения вперед. Другими словами, старость и патология пагубны для индивида, но повышают скорость эволюционного развития биологического вида и живой природы в целом.

Мириады органических молекул и миллиарды клеток нашего организма ежедневно умирают с тем, чтобы дать место и материал для жизни идущим на смену молодым образованиям. И организмы в целом умирают, освобождая место в общей биомассе Земли для вновь возникающих организмов, передавая им материальный субстрат и соответствующую информацию для построения более совершенных структур. Каждый индивид в течение жизненного цикла ежедневно сбрасывает в биосферу десятки миллиардов собственных клеток с “улучшенной”, по сравнению с родительской, структурой. Тем самым он вносит свой вклад корректирующей информации в “эволюционный котел” развития жизни.

Несмотря на то, что человек далек от совершенства, он есть “наиболее любимое” детище эволюции. Доказательством этому служит достаточно интенсивное вымирание различных видов животного и растительного мира без возникновения новых видов. В то время как увеличение человеческой популяции в течение короткого исторического отрезка носит взрывоподобный характер. Более того, в последнее время “любовь” к человеку эволюция начала концентрировать на представителях старшего возраста. Так, если в течение XX в. численность людей на земном шаре увеличилась в четыре раза, то людей старше 60 лет за этот период стало в десять раз больше и темпы увеличения их относительной и абсолютной численности сохраняются. Основные причины данных возрастных изменений следует искать не только в социально-экономических, но, прежде всего, в биологических категориях.

Однако возникает вопрос: зачем нужна эволюции старшая возрастная группа после прекращения возможности передачи генетической информации половым путем? Дело в том, что половой

(вертикальный) путь передачи биологической информации в эволюционном процессе не является единственным. Существует и горизонтальный путь передачи биологической информации, главным образом — через пищевой кругооборот в биосфере. Половым путем передается информация, систематизированная и четко структурированная (в этом его преимущество), но информация ограниченная — собранная одним организмом (в этом его слабость). Биосферным (горизонтальным) путем передается более объемная и разнообразная информация, собранная различными организмами (в этом его преимущество), но информация разрозненная, не структурированная (в этом его слабость). Сочетание вертикального и горизонтального пути передачи биологической информации обеспечивает эффективное эволюционное развитие живой материи.

Безусловно, человечество является промежуточным видом развития живой материи. Пройдет время, и оно уйдет с эволюционной сцены, как ушли до него миллионы других биологических видов. Такова драматическая история жизни. Человечество — еще молодой биологический вид, но оно уже чревато новым, более перспективным видом. Эта проблема может быть условно рассмотрена с позиций теории катастроф (Арнольд, 1990). Так, в определенный момент развития вида (точка бифуркации) его представители суммарно накапливают некую критическую массу информации, которая расщепляет вид на две ветви, одна из них переходит на дорогу принципиально новой, прогрессивной формы развития, другая — уходит по тропе стагнации и деградации.

ДАВЛЕНИЕ ИНТЕЛЛЕКТА

Для современных научных исследований доступны только отдельные фрагменты эволюционного движения живой материи. Поэтому пока нам еще не понятна общая парадигма информационно-энергетических превращений в этом движении. В микромире мы его не видим потому, что здесь движение по отношению к скорости нашей жизни совершается слишком быстро, а в макромире — слишком медленно. Но это движение есть объективная реальность, и к настоящему времени им создана мыслящая материя в виде структуры головного мозга человека. В результате эволюция получила новый инструмент, который обеспечил ее переход на этап интеллектуального преобразования биосферы. Современный уровень развития мыслящей материи уже позволяет ей осуществлять предметное вмешательство в генетическую программу человека и других биологических видов, проводить направленную коррекцию этой программы. В результате развитие живой материи одновременно с естественными

биологическими механизмами (метод проб и ошибок) приобретает искусственные способы (метод направленного поиска) дальнейшего самосовершенствования.

Интеллект человека — это искра грядущей революции в развитии живой материи. В настоящее время она возгорается пламенем Ноосферы — принципиально новой, интегральной формы разума, ныне “разбросанного” по индивидуальным носителям. В результате совместной деятельности биологической и интеллектуальной эволюции могут быть созданы живые системы, принципиально отличные от ныне известных биологических форм, с невероятными по силе функциональными способностями (Вернадский, 1978; Грешнова и др., 2019). Безусловно, это весьма отдаленные перспективы. Однако начальные успехи, достигнутые наукой в этом направлении, приводят некоторые “горячие головы” к иллюзорной уверенности легкого достижения великой цели.

Так, например, в конце XX в. возникла наука “сеттеретика”, основанная на гипотетической технологии считывания параметров личности (сознания) и переносе их на компьютерную матрицу. Сознание формирует межнейронные связи головного мозга. Сеттеретики полагают, что отсканированные и помещенные на адекватный носитель, эти связи позволят полностью сохранить все психологические и интеллектуальные функции головного мозга. Однако они упускают из виду, что межнейронные связи способны функционировать только совместно с нейронами, которые несут в себе сложнейший индивидуальный комплекс внутриклеточных связей, формирующих базовые элементы личности. Трудно даже представить, как сканировать эти связи. Таким образом, замахиваемся на искусственное формирование личности, а создавать живую клетку еще не научились. Более того, например, химики могут построить структуры, являющиеся полной копией белковых молекул. Но вдохнуть жизнь в эти искусственные белки никто не сумел. Так что жизнь еще хранит свои основные тайны, скрытые в механизмах биологической эволюции. А искусственное вмешательство в ее развитие играет лишь слабую вспомогательную роль с неясной перспективой. Поэтому интеллектуальной эволюции еще предстоит пройти сложную дорогу проб и ошибок с тем, чтобы стать равноправным партнером естественной биологической эволюции.

Вместе с тем мы должны всемерно поддерживать развитие интеллектуальной эволюции, поскольку она может преобразовать современную биологическую систему распределения сознания по индивидуальным носителям в интегральную форму на общей матрице. Это возможно будет одним из вариантов Ноосферы — “первичный бу-

льон” биотехнологической жизни, новая основа для совершенствования мироздания.

Но Ноосфера еще в “туманной дымке”, а современная реальность требует формирования принципиально новых социальных взаимосвязей. Интеллект, распределенный по индивидуальным носителям, в настоящее время опасен тем, что патологическое состояние “разума” отдельного индивида, вооруженного современными техническими средствами, может привести к гибели всего живого. Ноосфера устраняет глубоко заложенные в сознании человечества фундаментальные противоречия Эго и Социума, устанавливает принципы функционального единства интеллектуальной материи при поиске путей направленного преобразования нашего дома — Земли и выхода на широкие просторы Мироздания.

В итоге, важно подчеркнуть, что представленные основные принципы развития жизни не являются некими изолированными друг от друга процессами, а представляют собой тесно связанные, пересекающиеся между собой компоненты единого эволюционного движения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все изложенное можно суммировать следующим метафорическим суждением: “Жизнь человека — и мгновение, и вечность. Она стремительно пронесется, но вмещает в себя все, что было до него, что происходит с ним, что будет принадлежать будущим формам живой материи, будущим формам разума. Наша жизнь — благодарный поклон всем предшественникам. Наша смерть — благословение будущей жизни”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Бюджет института.

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

- Арнольд В.И. Теория катастроф. М.: Наука, 1990. 128 с.
 Бауэр Э. Теоретическая биология. СПб.: Росток, 2002. 149 с.
 Вернадский В.И. Живое вещество. М.: Наука, 1978. 358 с.
 Герцен А.И. Собрание сочинений в 30 томах / Ред. В.П. Волгин и др. Т. 3: Дилетантизм в науке;

Письма об изучении природы. 1842–1846 / Ред. Д.И. Чесноков, коммент. З.В. Смирновой. М.: АН СССР, Институт мировой литературы им. А.М. Горького 1954. 363 с.

- Голубев А.Г. Эволюция продолжительности жизни и старения // Биосфера. 2011. № 3 (3). С. 336–366.
 Грешнова А.К., Глухов Г.С., Шайтан А.К. Синтетическая биология: конструирование живого // Химия и жизнь. 2019. № 9. С. 32–38.
 Гусейнова Н.Т., Мамедова Р.Ф. Клетка — основа жизни на земле // Universum: химия и биология: электрон. научн. журн. 2019. № 11. (65). С. 36–41.
 Де Фриз Х. Теория мутаций. Цитируется по: Жизнь науки. Антология вступлений к классике естествознания / Сост. С.П. Капица. М.: Наука, 1973. С. 315–316.
 Иорданский Н.Н. Эволюция жизни. М.: Академия, 2001. 425 с.
 Палмер Д., Палмер Л. Эволюционная психология. Секреты поведения *Homo sapiens*. СПб.; М.: Прайм-Еврознак, 2003. 384 с.
 Санаев Н.Ф., Борисова Р.Н., Мышляков Г.М. и др. Проблемы экспериментального мутагенеза. Саранск: Мордов. гос. ун-т, 1992. 56 с.
 Сахаров В.Н., Литвицкий Н.Ф. Нестабильность конформации белка — общий компонент патогенеза болезней человека // Вестн. РАМН. 2016. № 71 (1). С. 46–51.
 Сергиев П.В., Донцова О.А., Березкин Г.В. Теории старения. Неустаревающая тема // Acta Naturae. 2015. Т. 7. № 1 (24). С. 9–20.
 Хейзен Р. История Земли: от звездной пыли — к живой планете: Первые 4.5 млрд. лет. М.: Альпина нон-фикшн, 2015. 364 с.
 Эйген М. Самоорганизация материи и эволюция биологических макромолекул. М.: Мир, 1973. 214 с.
 Эйген М., Шустер П. Гиперцикл. Принципы самоорганизации макромолекул. М.: Мир, 1982. 265 с.
 Bourke A.E. Kin selection and the evolutionary theory of aging // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 2007. № 38. P. 103–128.
 Colonna F.T. On the convergence of ontogeny and phylogeny into the evo-devo theory: why they did not integrate before and why they finally could // Stud. Hist. Biol. 2012. № 4 (4). P. 27–37.
 Dalrymple G.B. The age of the Earth in the twentieth century: a problem (mostly) solved // Geol. Soc. L. Spec. Public. 2001. V. 190. P. 205–221.
 From embryology to evo-devo: a history of developmental evolution / Eds M.D. Laubichler, J. Maienschein. Cambridge, Mass.; London: MIT Press, cop. 2007. 569 с.
 Nishikawa K., Kinjo A.R. Mechanism of evolution by genetic assimilation: equivalence and independence of genetic mutation and epigenetic modulation in phenotypic expression // Biophys. Rev. 2018. № 10 (2). P. 667–676.
 Shendure J., Akey J.M. The origins, determinants, and consequences of human mutations // Science. 2015. № 349 (6255). P. 1478–1483.

Life's System Integrators

V. N. Shabalin^a and S. N. Shatokhina^{a, *}

^a *Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia*

**e-mail: niiopp@yandex.ru*

A general analysis of the main mechanisms of the evolutionary development of living matter is given, which are summarized in seven major principles: 1) transformation of the simple into the complex, 2) self-organization, 3) metabolism, 4) mutagenesis, 5) committing, 6) aging, 7) pressure of intelligence. The systemic, general biological significance of these principles is shown, and their integral interdependence is noted, which in General ensures the evolutionary development of living matter. The positive role of mutagenesis and aging of living tissues in the evolutionary process is emphasized. It is noted that the prospect of intellectual intervention in the further development of life is unclear.

Keywords: evolution, self-organization, structure, metabolism, mutagenesis, commitment, aging

УДК 573.6

СОВРЕМЕННОЕ ПОНИМАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АДИПОГЕНЕЗА И ПЛАСТИЧНОСТИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

© 2021 г. О. П. Шатова^{1,*}, А. А. Заболотнева¹, А. В. Шестопапов^{1,2}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

²НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

*e-mail: shatova.op@gmail.com

Поступила в редакцию 25.03.2021 г.

После доработки 03.04.2021 г.

Принята к публикации 03.04.2021 г.

Обсуждается современное понимание гетерогенности жировой ткани и ее клеточного состава. Описываются пять основных типов адипоцитов, при этом для каждого типа идентифицированы свои подтипы и их функциональные и морфологические особенности. Дискутируется роль метаболического и клеточного микроокружения преадипоцитов в адипогенезе, описываются его этапы и ключевые механизмы регуляции. Ведущая роль в терминальной дифференцировке преадипоцитов выделяется рецепторам, активируемым пероксисомными пролифераторами- γ , и морфогенетическим белкам костной ткани. Проводится анализ высокой пластичности адипоцитов и их способности к трансдифференцировке и дедифференцировке в другой тип клеток. Обсуждаются вопросы сенесценции и апоптоза адипоцитов, а также хронического воспаления как фактора, влияющего на нарушение адипогенеза. Высказывается мысль, что изменение скорости адипогенеза, ранняя сенесценция и апоптоз жировых клеток приводят к развитию инсулинорезистентности и метаболически нездорового ожирения.

Ключевые слова: жировая ткань, адипоциты, адипогенез, трансдифференцировка

DOI: 10.31857/S0042132421050082

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время происходит существенный пересмотр позиций в понимании биологической роли жировой ткани в организме человека. За последние десятилетия были идентифицированы и охарактеризованы различные типы адипоцитов — белые, бурые, бежевые, желтые, розовые. Стало понятным, что жировая ткань обладает высокой степенью гетерогенности даже в пределах одного жирового депо. Важной особенностью жировой ткани является ее высокая пластичность и способность жировых клеток к трансдифференцировке и дедифференцировке в другой тип клеток. При этом путь трансформации зависит не столько от характеристик самих преадипоцитов, сколько от их клеточного и метаболического микроокружения. Было обнаружено, что преадипоциты образуются из разных клеток-предшественников: так, термогенные адипоциты могут иметь миогенное (бурый тип клеток) или адипогенное (бежевый тип) происхождение. Остаются не до конца изученными механизмы адипогенеза и способы его регуляции. Ведущую роль в терминальной дифференцировке преадипоцитов отводят рецепторам, активируемым пероксисомными

пролифераторами γ (PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptors γ), морфогенетическим белкам костной ткани (BMP, bone morphogenetic proteins), инсулину и кортизолу. Следует отметить, что фактор некроза опухоли α (ФНО α) также стимулирует адипогенез, однако при хроническом воспалении происходит подавление адипогенеза, старение адипоцитов и повышенная продукция провоспалительных цитокинов, что однозначно приводит к гибели воспаленных и гипертрофии соседних адипоцитов. Нарушение адипогенеза, преждевременное старение белых адипоцитов, изменение метаболического и клеточного микроокружения преадипоцитов и ранний апоптоз жировых клеток служат причиной развития инсулинорезистентности и метаболически нездорового ожирения.

ТИПЫ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

В настоящее время жировая ткань классифицируется по анатомическому расположению и типу жировых клеток на четыре основных вида (Bahmad et al., 2020). Так, все жировые клетки, или адипоциты, подразделяются на: белые (95%), бурые (1–2%), бежевые (Kahn et al., 2019), розо-

вые (Cinti et al., 2018) и желтые. Последние были не так давно идентифицированы в красном костном мозге (Suchacki et al., 2020).

Белая жировая ткань (white adipose tissues, WAT) в значительной степени гетерогенна по локализации и клеточному составу (Kahn et al., 2019). Выделяют несколько типов белой жировой ткани: висцеральную и невисцеральную, которая, в свою очередь, может быть подкожной (подкожно-жировая клетчатка) и внутрикожной (интердермальная) (Driskell et al., 2014). Внутрикожная жировая ткань участвует в заживлении ран и развитии волос (Kahn et al., 2019), тогда как подкожная жировая ткань является главной в выполнении резервно-энергетической и эндокринной функций организма (Driskell et al., 2014). К клеткам, из которых состоит белая жировая ткань, относятся: белые адипоциты, белые преадипоциты, мезенхимальные стволовые клетки (МСК), перициты, моноциты и макрофаги (Kahn et al., 2019). Висцеральная белая жировая ткань отличается от подкожной жировой ткани не только по клеточному составу, но также повышенной продукцией резистина, низкой секрецией лептина (Debette et al., 2010) и низкой чувствительностью к инсулину (Fox et al., 2007). Поэтому накопление висцерального жира согласуется с развитием метаболического синдрома (Fox et al., 2007), сахарного диабета 2-го типа (СД 2-го типа), сердечно-сосудистых заболеваний и жировой инфильтрацией печени (Speliotes et al., 2010). Также существуют и метаболические отличия: в висцеральной жировой ткани повышена скорость липолиза и образование большого количества свободных жирных кислот (СЖК) (Debette et al., 2010). Интересно отметить, что депонирование жира именно на бедрах и туловище значительно снижает риск возникновения метаболического синдрома (Fox et al., 2007), а высокая секреция лептина подкожными адипоцитами предотвращает развитие нейродегенеративных заболеваний (Debette et al., 2010). В случаях липодистрофических заболеваний у человека (например, при семейной частичной липодистрофии или при липодистрофии, вызванной антиретровирусной терапией у ВИЧ-инфицированных) наблюдается потеря белых адипоцитов подкожных жировых депо на конечностях и при этом накопление висцерального жира, в том числе в областях локализации бурой жировой ткани (Ogtega-Molina et al., 2012; Enzi et al., 2015). Одновременно с этим наблюдается гипертрофия бежевой (индуцированной бурой) жировой ткани и ее замещение белой жировой тканью в дорсо-цервикальной области у ВИЧ-инфицированных пациентов (Sereijo et al., 2015). Вследствие этих явлений у больных наблюдается метаболический парадокс: липодистрофия сочетается с симптомами-спутниками ожирения — инсулинорезистентностью, гипергликемией, гепатостеатозом,

гипертензией и дислипидемией (Huang-Doran et al., 2010; Grundy, 2015). Это говорит о том, что не только патологический избыток, но и недостаток жировой ткани вызывает серьезные метаболические нарушения.

Бурая жировая ткань (brown adipose tissues, BAT) локализована в шейной, подмышечной, паравертебральной и надключичной областях. Ключевая функция бурых адипоцитов заключается в их участии в адаптивном (не дрожательном) термогенезе (Rui, 2017), а также в эндокринной регуляции липогенеза и адипогенеза (Pinckard et al., 2021). Большое количество бурых адипоцитов наблюдается в детском возрасте, а при взрослении их количество уменьшается, что филогенетически объясняется поведенческой адаптацией (ношение одежды) (Rui, 2017). Кроме того, в экспериментах на животных (Sbarbati et al., 1991), а также при исследовании биопсийных проб перикаротидных шейных жировых депо у людей (Vijgen et al., 2011; Rossato, 2016) были обнаружены значительное уменьшение количества бурых адипоцитов и увеличение числа белых адипоцитов (в том числе за счет увеличения трансдифференцировки бурой жировой ткани в белую жировую ткань), связанные со старением организмов. Следует отметить, что полное отсутствие бурой жировой ткани в организме лабораторных мышей приводит к фатальной гипотермии и является несовместимым с жизнью (Chen et al., 2019).

В настоящее время у человека описаны два вида термогенных адипоцитов: бурые и бежевые адипоциты (Rui, 2017). Так как бурые адипоциты экспрессируют существенно более высокие уровни разобщающего белка 1 (uncoupling proteins 1, UCP-1), чем бежевые адипоциты, ранее считалось, что бежевый жир играет незначительную роль в термогенезе. Однако недавние исследования продемонстрировали решающую роль бежевого жира в регуляции энергетического гомеостаза всего организма через UCP-1-независимые термогенные механизмы (Chen et al., 2019).

Важно отметить, что жировая ткань костного мозга (BMAT, bone marrow adipose tissues) также является отдельным депо жировой ткани в организме человека (Suchacki et al., 2020) и включает в себя: конститутивную жировую ткань, локализованную в дистальных отделах костей конечностей, а также регулируемую жировую ткань, которая диффузно распределена в позвоночнике и костях проксимальных сегментов конечностей и реагирует на факторы окружающей среды (Craft et al., 2019). Жировая ткань костного мозга играет важную роль в метаболизме костной ткани и регуляции активности остеобластов (Cawthorn et al., 2017). В отличие от бурых и бежевых адипоцитов, жировая ткань костного мозга не экспрессирует

UCP-1 (Craft et al., 2019). Реакции на адренергические стимулы в адипоцитах костного мозга выражены в меньшей степени, чем в белых адипоцитах (Scheller et al., 2019). Такая резистентность желтых адипоцитов в большей степени проявляется в дистальных отделах костей конечностей, где адипоциты крупнее и где они являются конститутивными. Считается, что на адренергическую чувствительность адипоцитов влияет клеточное микроокружение. Также следует отметить, что у женщин резистентность к липидно-капельному ремоделированию желтых адипоцитов ниже, чем у мужчин (Scheller et al., 2019). При голодании жировая ткань костного мозга не расходуется и при этом становится основным источником циркулирующего гормона адипонектина (Cawthorn et al., 2014).

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ АДИПОЦИТОВ

Адипоциты даже в пределах одного вида жировой ткани являются достаточно гетерогенными клетками. Было показано, что преадипоциты белой жировой ткани с низким уровнем CD9 (мембранный белок, гликопротеин из надсемейства тетраспанинов) являются более адипогенными, тогда как преадипоциты с высоким уровнем CD9 являются более профибротическими и провоспалительными (Marcelin et al., 2017). В настоящее время с помощью метода одноклеточного транскриптомного профилирования преадипоцитов человека и мезенхимальных клеток-предшественников идентифицировано четыре подтипа жировых клеток из белой жировой ткани, включая бежевый термогенный подтип и подтип, специализированный на секреции лептина (Rojas-Rodriguez et al., 2019).

Бурая жировая ткань является гетерогенной, как и белая жировая ткань. В бурой жировой ткани выделяют бурые адипоциты с высоким и низким термогенным эффектом. Низкотермогенные адипоциты экспрессируют низкий уровень UCP-1 и адипонектина, содержат жировые капли большего размера и меньшее количество митохондрий (Song et al., 2020).

Бежевые адипоциты представлены двумя типами клеток. Это обычные бежевые адипоциты и гликолитические бежевые адипоциты (g-beige adipocytes) (Chen et al., 2019). Так, показано, что гликолитические бежевые адипоциты контролируют термогенез и гомеостаз глюкозы в отсутствие β -адренергической стимуляции, а тепловой стресс индуцирует образование данных адипоцитов из предшествующих им белых адипоцитов (Chen et al., 2019).

Следует отметить, что в различных жировых депо в зависимости от условий (стресс, холодовая стимуляция, избыток или недостаток калорий в

пище, период лактации и т.д.) изменяется соотношение белых, бежевых и бурых адипоцитов (Ibrahim, 2010; Esteve Ràfols, 2014). За счет пластичности жировой ткани и способности адипоцитов к дифференцировке и дедифференцировке количество и фенотип клеток непостоянны (Pellegri-nelli et al., 2016) (рис. 1).

ПРОИСХОЖДЕНИЕ АДИПОЦИТОВ

Бурая жировая ткань развивается в процессе эмбриогенеза из мезодермы, в то время как бежевые адипоциты образуются из белых адипоцитов в постнатальном периоде. Белые преадипоциты развиваются из Myf5-негативных (Myf5, myogenic factor) клеток-предшественников, и дифференцировка белых преадипоцитов в зрелые белые адипоциты происходит, скорее всего, постнатально (Leiva et al., 2020). Так, дифференцировка белых адипоцитов в бежевые адипоциты называется ремоделированием белой жировой ткани или браунингом (Rui, 2017). Бурые и бежевые адипоциты имеют различные источники происхождения, но при этом морфологически и метаболически они очень похожи. Классические бурые адипоциты (эволюционно запрограммированные) являются производными клеток-предшественников, которые имеют происхождение из мышечной линии клеток Myf5 (Cawthorn et al., 2017). Бурые адипоциты могут быть локализованы вместе с белыми адипоцитами, например, в межлопаточной области и паранефрально. Кроме того, в результате браунинга при длительном воздействии холода или при активации β -адренергических рецепторов во многих депо белой жировой ткани появляются UCP-1-позитивные клетки, и данные бурые жировые клетки, которые не являются производными от Myf5-положительной линии, называются индуцибельными бежевыми или коричнево-белыми клетками (иначе brite-адипоцитами) (Vozec, Hannemann, 2016). При этом холодовая стимуляция или воздействие агонистами β_3 -адренорецепторов не одинаково увеличивают уровень UCP-1-позитивных клеток в различных депо белого жира — возникает так называемый “феномен Арлекина” (при иммуногистохимическом анализе на UCP-1 жировая ткань выглядит неоднородно окрашенной из-за разной степени экспрессии термогенина) (Cinti et al., 2002; Rui, 2017). Однако хроническое холодное воздействие ослабляет этот эффект (клетки окрашиваются более равномерно), что связывают с повышением экспрессии белков теплового шока, предохраняющих адипоциты от повреждений, связанных с избыточной выработкой тепла (Mogroni et al., 1995). Одновременно с этим происходит стимуляция браунинга большего количества белых адипоцитов, что позволяет более равномерно распределять продукцию тепла между клетками (Lee et al., 2015).

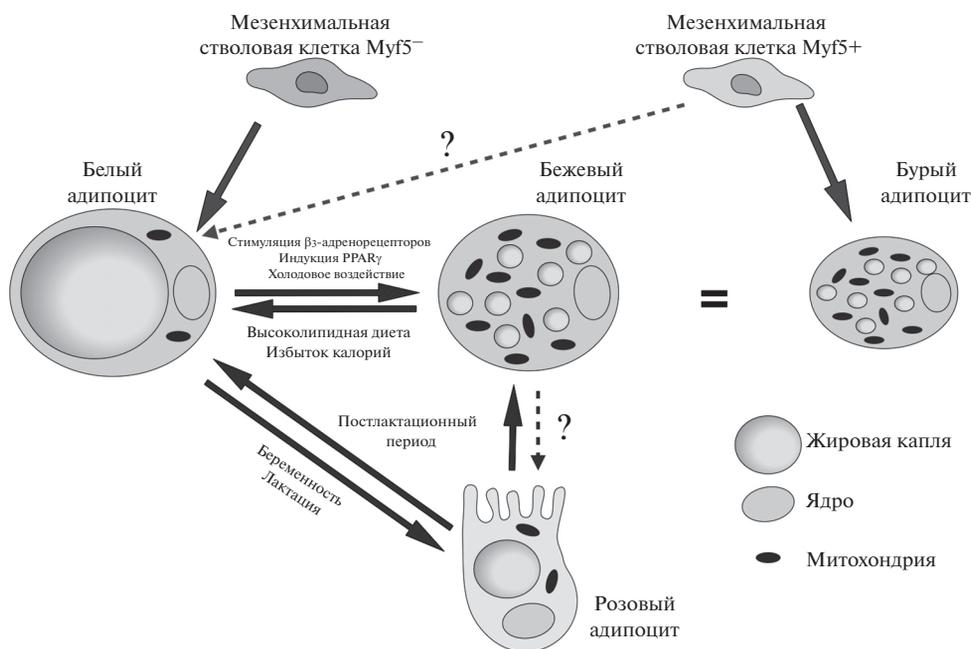


Рис. 1. Пластичность адипоцитов. Адипоциты белой и бурой жировой ткани дифференцируются из различных мезенхимальных предшественников (Cawthorn et al., 2017; Leiva et al., 2020). В некоторых исследованиях показана возможность образования белых адипоцитов из $Muft^+$ -стволовых клеточных линий, дающих начало бурой жировой ткани (Sanchez-Gurmaches et al., 2012). Бежевые адипоциты образуются из белых адипоцитов при действии холода или адренергической стимуляции (Vozec et al., 2016). При этом фенотипически бежевые адипоциты напоминают бурые и экспрессируют одни и те же маркерные молекулы. Белые адипоциты могут трансдифференцироваться в альвеолярные клетки (розовые адипоциты) молочной железы во время лактации, которые, в свою очередь, могут возвращаться в исходное состояние белых жировых клеток или превращаться в бежевые адипоциты после окончания лактации (Cinti et al., 2018). Не показана, но теоретически возможна дифференцировка бежевых адипоцитов в розовые.

Следует отметить, что в некоторых исследованиях было показано происхождение белых жировых клеток из $Muft^+$ -клеточной линии. Это указывает на высокую пластичность мезенхимальных клеток при определенных условиях (Sanchez-Gurmaches et al., 2012). Более того, путь дифференцировки в белую или бурую жировую ткань определяют не только клетки-предшественники, но и нишевые локальные факторы, образующие микроокружение преадипоцитов. Например, было показано, что донорские преадипоциты, изолированные из подкожного и висцерального депо, проходят последующую дифференцировку в соответствии с местом инъекции, а не с местом происхождения при высоколипидной диете (преадипоциты дифференцируются только в висцеральном, но не подкожном жировом депо) (Jeffery et al., 2016). Этот факт подтверждается данными недавних исследований, показывающих, что экспрессия *PPAR γ* , стимулирующая адипогенез в культурах фибробластов, не способна инициировать адипогенез *in vivo*, если сама физиологическая способность к адипогенезу лимитирована (как в подкожном жировом депо или при соблюдении низколипидной диеты) (Lee et al., 2012).

Все эти данные неизбежно подводят нас к вопросам о том, какие же факторы являются направляющими при дифференцировке предшественников жировых клеток, каковы источники этих факторов и как осуществляется их дифференциальная регуляция в различных жировых депо? Эти вопросы остаются нерешенными в настоящее время, а поиск ответа на них усложняется еще и тем, что не так давно с помощью метода транскриптомного профилирования отдельных клеток были обнаружены различные популяции стромальных клеток в разных жировых депо, каждая из которых состоит из субпопуляций, причем некоторые из них имеют антиадипогенное действие (Burl et al., 2018; Schwalie et al., 2018). Все это указывает на высокую гетерогенность, пластичность и зависимость от эндо- и экзогенных факторов адипоцитарных клеток. В качестве иллюстрации вышесказанного в табл. 1 и 2 приведены, соответственно, некоторые характеристики различных жировых депо человека и факторы, влияющие на адипогенез в этих депо, а также гены, дифференциально экспрессирующиеся в клетках-предшественниках различных адипоцитов (Craft et al., 2018).

Таблица 1. Стимуляция адипогенеза в разных нишах преадипоцитов (Ghaben, Scherer, 2019)

Параметры	Жировые депо				
	костный мозг	висцеральное депо	подкожное депо	мышечное депо	интердермальное депо
Стимуляторы адипогенеза	Анорексия, облучение, старение	Избыточное питание	Холодовое воздействие	Избыточное питание, травма	Заживление ран, смена фаз развития волосяных фолликулов
Маркеры преадипоцитов	LepR+	PDGFR α + PDGFR β +	PDGFR α +	PDGFR α +	PDGFR α + и/или Zfp423+ Дедифференцировка миофибробластов
Сигналы, регулирующие адипогенез	Лептин Сигнальный путь Hedgehog (ингибирование)	Инсулин, глюкокортикоиды	Неизвестно	Сигнальный путь Hedgehog (ингибирование)	Wnt (ингибирование) NOTCH (дедифференцировка)

Примечание: PDGF (platelet derived growth factor) – тромбоцитарный фактор роста; LepR – рецептор лептина; Zfp423 (zinc finger protein 423) – белок цинковый палец 423; Wnt (Wg (wingless) и Int) – сигнальный путь регулирующий эмбриогенез и дифференцировку клеток; NOTCH – семейство трансмембранных белков, которые принимают участие в юстакринном сигналинге.

Таблица 2. Гены, дифференциально экспрессируемые в клетках-предшественниках различных адипоцитов (Craft et al., 2018)

Гены	Гены, специфичные для мезодермы <i>MEOX1, PAX3/7, Myf5</i>	<i>WNT1</i> <i>SOX10</i>	<i>PRX-1</i>	<i>HOXB6</i>
Локализация жировой ткани	Забрюшинные и межлопаточные адипоциты	Адипоциты лица и шеи	Подкожные адипоциты	Паховые брыжеечные и парагонадные адипоциты

Примечание: *MEOX1* – ген, кодирующий белок MOX-1; *PAX3/7* – ген, кодирующий фактор транскрипции семейства PAX; *SOX10* – ген, кодирующий фактор транскрипции SOX10; *PRX-1* – ген, кодирующий белок paired related homebox 1; *HOXB6* – ген, кодирующий белок homebox B6.

ЭТАПЫ АДИПОГЕНЕЗА

Адипогенез – это процесс дифференцировки мультипотентных МСК в адипоциты (Schwale et al., 2018).

Белые адипоциты возникают из МСК, которые находятся в строме жировой ткани. Когда МСК становятся преадипоцитами, они теряют способность дифференцироваться в другие мезенхимальные клоны. Первая фаза дифференцировки адипоцитов известна как детерминация. Вторая фаза адипогенеза – терминальная дифференцировка, при которой преадипоциты приобретают характеристики зрелых адипоцитов, накапливая липидные капли и получая способность реагировать на гормоны, в частности на инсулин (Sarjeant, Stephens, 2012). Таким образом, МСК дифференцируются в липобласты, затем в преадипоциты и, в конечном счете, в зрелые адипоциты (Bahmad et al., 2020).

Общепринятой на настоящий момент является теория происхождения предшественников адипоцитов (как белой, так и бурой жировых тканей) и в период онтогенеза, и во взрослом организме из клеток, локализованных в стенках

кровеносных капилляров жировой ткани – эндотелиоцитов и перицитов (Berry et al., 2013). Капиллярная сеть, равно как и суспензия из отдельных клеток микрососудов эксплантов жировой ткани человека, обладают способностью образовывать предшественников адипоцитов, автономно дифференцирующихся в зрелые адипоциты (Min et al., 2016). Более того, в экспериментах показано, что изолированные человеческие адипоциты дедифференцируются в эндотелиоподобные клетки (Planat-Benard et al., 2004), а эндотелиальные клетки могут быть дедифференцированы в мезенхимальные клетки, дифференцирующиеся в адипоциты, хондроциты и остеобласты (Medici et al., 2010). Мезенхимально-эндотелиальный переход связан с активацией сигнального пути BMP/TGF β (см. ниже) (Maddaluno et al., 2013). Последние исследования, проведенные среди групп пациентов, а также на мышах, показывают, что, по крайней мере, некоторые субпопуляции адипоцитов имеют происхождение из гемопоэтических клеток красного костного мозга (Horowitz et al., 2017). Кроме того, в некоторых исследованиях показано мезотелиальное происхождение

висцеральных адипоцитов (Chau et al., 2014). Следует отметить, что вопрос биогенеза адипоцитов остается все еще открытым и активно исследуется в настоящее время.

Известно, что для адипогенеза белых и бурых адипоцитов требуется активация одних и тех же ключевых транскрипционных факторов. К ним относятся: рецептор, активируемый PPAR γ , белки, связывающие ССААТ/энхансер (СЕВР, ССААТ-enhancer-binding proteins), Krüppel-подобный фактор (KLF, Krüppel-like factor), а также белки – сигнальные преобразователи и активаторы транскрипции (STAT, signal transducer and activator of transcription) (Bahmad et al., 2020). Также дифференцировка адипоцитов регулируется BMP, данные белки относятся к суперсемейству трансформирующих факторов роста β (TGF- β , transforming growth factor β). При этом дифференцировка белых адипоцитов регулируется BMP-2 и BMP-4, тогда как BMP-7 является главным фактором в дифференцировке преадипоцитов в зрелые бурые адипоциты. Кроме того, важным регулятором дифференцировки бурых и белых адипоцитов является активация пути p38 (Leiva et al., 2020).

Наиболее универсальные маркеры преадипоцитов белой жировой ткани – PDGFR α и PPAR γ , экспрессирующиеся в клетках-предшественниках, но не в зрелых адипоцитах (Berry, Rodeheffer, 2013). В адипоцитарных депо клетки PDGFR α + и PPAR γ + локализуются в области стенок кровеносных капилляров (Lee et al., 2012). PPAR γ + -клетки напоминают гладкомышечные клетки стенок кровеносных сосудов, иначе называемые перипитами, и экспрессируют общие маркеры гладкомышечных клеток – гладкомышечный актин α (α SMA, α -smooth muscle actin) и PDGFR β (Tang et al., 2008). Исследования на мышах *in vivo* показали, что клетки α SMA+ и PDGFR β + превращаются в белые адипоциты при высоколипидной диете (Vishvanath et al., 2016). Однако последние исследования, проведенные с помощью метода профилирования транскриптомов одиночных клеток, указывают на гетерогенность предшественников адипоцитов из разных депо и, вероятно, на разные стимулы, активирующие программу адипогенеза в них (Hepler et al., 2018).

Ранние исследования на культурах фибробластов показали, что для инициации их дифференцировки *in vitro* (стадии детерминации) достаточно связывания BMP-2 и BMP-4 со своими рецепторами для активации транскрипционного фактора SMAD4 (Huang et al., 2009). Активированный SMAD4, в свою очередь, стимулирует транскрипцию PPAR γ – главного регулятора адипогенеза. С другой стороны, в адипогенных фибробластах была обнаружена повышенная экспрессия еще одного транскрипционного фактора – Zfp423,

который увеличивал чувствительность фибробластов к проадипогенным стимулам BMP (Gupta et al., 2010). При этом экспрессия Zfp423 требуется для образования подкожного жира у плода, но не является необходимой для образования висцерального жира при высоколипидной диете (Shao et al., 2016; Hepler et al., 2017). Были выявлены и многие другие факторы, направляющие дифференцировку фибробластов на путь адипогенеза, однако все еще остаются невыясненными способы активации и регуляции экспрессии этих факторов.

Несмотря на множество белых пятен в этом вопросе, главным регулятором адипогенеза считается PPAR γ , поскольку его экспрессия является абсолютно необходимой для терминальной дифференцировки преадипоцитов как в культурах клеток, так и *in vivo* (Barak et al., 1999; Rosen et al., 1999). В качестве эндогенных лигандов-активаторов PPAR γ были предложены многие липидные метаболиты – полиненасыщенные жирные кислоты, эйкозаноиды, простагландины. Однако аффинность или представленность таких потенциальных активаторов в жировой ткани низкая, поэтому в настоящее время остается неизвестным истинный физиологический лиганд PPAR γ (Schupp, Lazar, 2010).

Одним из важнейших эффектов PPAR γ является активация транскрипционного фактора С/ЕВР α (Wu et al., 1999). В культурах фибробластов для дифференцировки в зрелые адипоциты достаточно индукции экспрессии С/ЕВР α и PPAR γ (Freytag et al., 1994). Транскрипционные факторы С/ЕВР α и PPAR γ находятся в функциональном синергизме. Более 90% сайтов связывания PPAR γ с ДНК также связывают и С/ЕВР α ; для того, чтобы полностью активировать транскрипцию генов, экспрессируемых в зрелых адипоцитах (например, гены, кодирующие инсулиновые рецепторы, глюкозные транспортеры, адипонектин, белок, связывающий жирные кислоты AP2 – adipocyte fatty acid-binding protein, перилипины, лептин и другие), PPAR γ должен активировать транскрипцию белков семейства С/ЕВР (Lefterova et al., 2008). Интересно, что для адипогенеза в эмбриональном периоде не требуется активации С/ЕВР α , возможно, из-за активности другого родственного транскрипционного фактора – С/ЕВР β . Однако экспрессия С/ЕВР α является абсолютно необходимым условием для всех форм адипогенеза во взрослом организме (Wang et al., 2015) (рис. 2).

Белая жировая ткань по праву считается самой динамичной и изменчивой тканью в организме человека (Lowe et al., 2011). Известно, что дифференцировка преадипоцитов не является односторонним процессом и при влиянии определенных стимулов адипоциты могут дедифференциро-

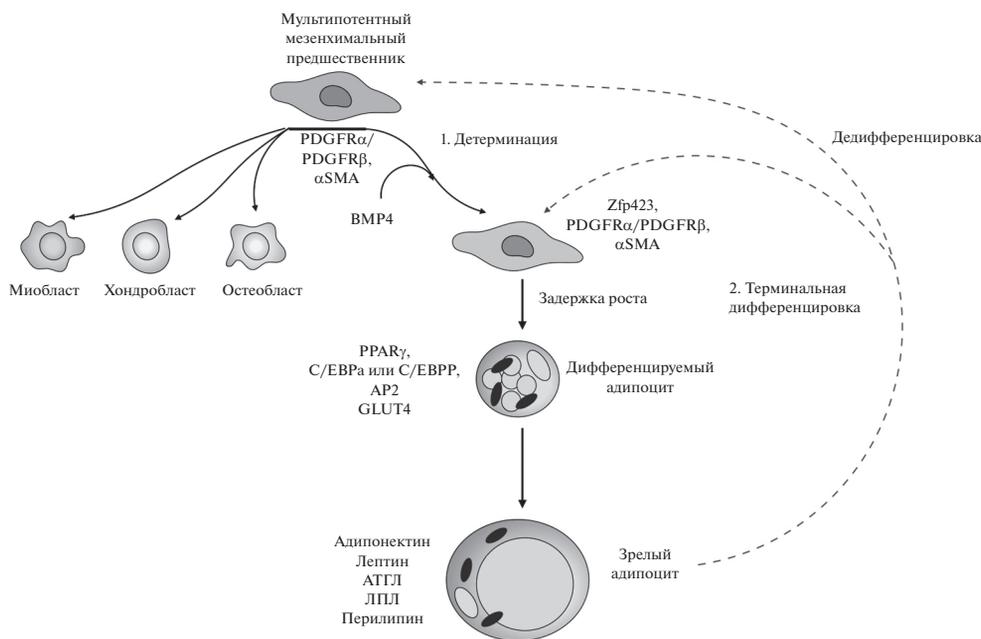


Рис. 2. Ключевые этапы адипогенеза. Мультипотентные фибробластоподобные мезенхимальные клетки-предшественники (экспрессирующие α SMA и PDGFR β) являются предшественниками адипоцитов, но также могут давать начало миобластам, хондробластам и остеобластам (Tang et al., 2008). Для этапа детерминации требуется сигнальная активность белков BMP, после чего предшественники адипоцитов начинают экспрессировать транскрипционный фактор Zfp423 (Huang et al., 2009; Gupta et al., 2010). На стадии терминальной дифференцировки происходит активация главных регуляторов адипогенеза – транскрипционных факторов PPAR γ и C/EBP α /C/EBP β (Barak et al., 1999; Rosen et al., 1999; Wang et al., 2015). В зрелом адипоците экспрессируются как маркеры ранних этапов дифференцировки, так и гормоны и ферменты, характерные для зрелых адипоцитов (адипонектин, лептин, адипоцитарная триглицеридлипаза – АТГЛ, липопротеинлипаза – ЛПЛ, перилипин 1) (Lefterova et al., 2008). В настоящее время известно, что адипоциты подвергаются делиференцировке обратно в фибробластоподобные преадипоциты (Bi et al., 2016; Plikus et al., 2017; Wang et al., 2018).

ваться в фибробластоподобные клетки (рис. 2). Этот процесс наблюдается при заживлении ран, росте опухолей и лактации (Bi et al., 2016; Plikus et al., 2017; Wang et al., 2018). Причем альвеолярные клетки молочной железы, образовавшиеся из адипоцитов (называемых также “розовыми адипоцитами” из-за их характерного окрашивания во время беременности), могут неоднократно проходить процесс трансдифференцировки (возвращаться в исходный фенотип белых жировых клеток при окончании лактации и дифференцироваться в ацинарные клетки при новой беременности) (рис. 1). Более того, в экспериментах на мышцах была показана возможность трансдифференцировки альвеолярных клеток в бежевые адипоциты в раннем постлактационном периоде (Cinti et al., 2018).

РЕГУЛЯЦИЯ АДИПОГЕНЕЗА

Увеличение объема жировой ткани может происходить благодаря увеличению размеров адипоцитов – гипертрофии и/или увеличению количества адипоцитов – гиперплазии (за счет образования новых адипоцитов путем дифференцировки

преадипоцитов) (Kahn et al., 2019). Факторы, определяющие жировую массу у взрослых людей, до конца не изучены, но считается, что наиболее важным является повышенное накопление липидов в уже развитых жировых клетках (адипоцитах), а количество адипоцитов детерминировано генетически (Spalding et al., 2008). Так, количество белых адипоцитов остается постоянным в зрелом возрасте, как у худых, так и у тучных людей, даже после заметной потери веса, что указывает на то, что количество адипоцитов устанавливается в детском и подростковом возрасте. Однако следует отметить, что недавние исследования на грызунах с использованием стабильных изотопов в качестве меток показали, что преадипоциты подкожного жирового депо проходят дифференцировку в эмбриональном периоде, а в постнатальном периоде увеличиваются за счет гипертрофии в ответ на переизбыток (Wang et al., 2013). В то же время развитие висцеральной жировой ткани происходит, главным образом, постнатально, в равной степени, как путем гиперплазии, так и гипертрофии (Jeffery et al., 2015). Более того, известно, что около 10% адипоцитов ежегодно обновляется во всех возрастных группах, и это не за-

висит от индекса массы тела (ИМТ) (Spalding et al., 2008).

Ранний рекрутинг новых жировых клеток зависит от перекрестного взаимодействия между сигналами Wnt и BMP-4. Так, Wnt усиливает пролиферацию преадипоцитов, тогда как BMP-4 отвечает за их терминальную дифференцировку в зрелые адипоциты. Wnt-белки ингибируют адипогенез, подавляя экспрессию SEBP- α и PPAR- γ (Lowe et al., 2011). Wnt-белки представляют собой семейство секретлируемых гликопротеинов, которые регулируют ремоделирование тканей взрослого человека и, в том числе, это относится и к белой жировой ткани. Считается, что сигнальная сеть Wnt необходима для обеспечения кросс-коммуникации жировых клеток. Ключевой регуляторной молекулой сигнального каскада Wnt является белок β -катенин, участвующий, в том числе, в координации транскрипции генов. В отсутствие Wnt цитоплазматический β -катенин фосфорилируется киназой I и киназой гликогенсинтазы 3- β , что приводит к его убиквитинированию и последующей протеасомной деградации. В том случае, если Wnt связывается с рецепторами Frizzled (FZD, семейство белков G-белковых рецепторов) и корецепторами белков -5 или -6 рецепторов ЛППП (липопротеины низкой плотности, LRP5/6, low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6), комплекс деградации инактивируется. Это приводит к гипофосфорилрованию β -катенина и его транслокации в ядро, где он связывается с белками семейства транскрипционных факторов TCF – факторами связывания лимфоидного энхансера/T-клеточного фактора транскрипции (LEF/T-cell transcription factor, lymphoid enhancer binding factor), для активации генов-мишеней Wnt (рис. 3). Нарушение регуляции этих сигнальных путей связано с неправильным течением адипогенеза и изменением способности реагировать на потребность организма в накоплении избыточных липидов в подкожной жировой ткани. В свою очередь, это приводит к гипертрофии, дисфункции и инсулинорезистентности белых адипоцитов, что сопровождается снижением синтеза и активации GLUT-4 (глюкозный транспортер тип 4 – инсулинзависимый белок-переносчик глюкозы) и нарушением транспорта глюкозы в адипоциты (Smith, Kahn, 2016).

Очень важным звеном в активации адипогенеза на этапе детерминации являются реактивные формы кислорода (РФК), образование которых влияет на стабильность фактора, индуцируемого гипоксией 1 α (HIF-1 α , hypoxia-inducible factor), ингибирующего PPAR γ (Lowe et al., 2011). Кроме того, показана способность физиологических концентраций РФК усиливать инсулиновый сигналинг, что стимулирует адипогенез (Mahadev et al., 2004). Однако высокие уровни РФК, обра-

зуемые НАДФН-оксидазами при ожирении, связаны с развитием инсулиновой резистентности и подавлением адипогенеза (Furukawa et al., 2004).

МикроРНК обеспечивают дополнительный механизм контроля адипогенеза (Lowe et al., 2011). В недавних исследованиях было показано, что некоторые микроРНК ингибируют экспрессию лейкозного ингибиторного фактора (LIF, leukemia inhibitory factor), а данное событие способствует адипогенезу. Например, микроРНК-130, -378 и -27 регулируют экспрессию адипогенных и липогенных генов (Lowe et al., 2011).

Безусловно, важнейшими проадипогенными факторами являются глюкокортикоидные гормоны и инсулин, напрямую влияющие на экспрессию транскрипционных факторов PPAR γ и C/EBP α , направляющих дифференцировку преадипоцитов (Chapman et al., 1985; Bäck, Arnqvist, 2009). Сигнальный путь Hedgehog, напротив, ингибирует адипогенез путем супрессии проадипогенных сигнальных каскадов (Fontaine et al., 2008).

Другими регуляторными факторами адипогенеза являются: холодное воздействие, которое, как и стимуляция β_3 -адренорецепторов, индуцирует адипогенез бурой жировой ткани (Wang, Seale, 2016); провоспалительные молекулы: фактор некроза опухолей, трансформирующий фактор β , NO и др. – являются важными стимуляторами адипогенеза, однако хроническое воспаление подавляет адипогенез и стимулирует адипоциты к большей секреции воспалительных факторов, что ускоряет старение клеток и усиливает метаболический дисбаланс (Alessi et al., 2000; Weisberg et al., 2003); циркадианные ритмы: экспрессия главного регулятора адипогенеза – PPAR γ – является цикличной и зависит от суточных ритмов, поэтому развитие ожирения и нарушение адипогенеза ассоциированы с нарушением этих ритмов (Sun et al., 2018) (рис. 3).

СТАРЕНИЕ И ГИБЕЛЬ АДИПОЦИТОВ

Адипоциты человека живут приблизительно 10 лет, и за время своей жизни триацилглицеролы (ТАГ) внутри адипоцитов обновляются около 6 раз. Также показано, что адипоцитарные ТАГ постоянно метаболизируются, и нет конститутивных ТАГ, которые не подвергаются липолизу (Spalding et al., 2017).

Считается, что редукция бурой жировой ткани с возрастом происходит по причинам уменьшения репродуктивной способности стволовых клеток, снижения продукции триидротиронина и конверсии тироксина в триидротиронин, нарушения функционирования митохондрий и сниженной активности симпатической нервной системы (Graja, Schulz, 2015). Общепринятой является теория развития хронического воспалительного

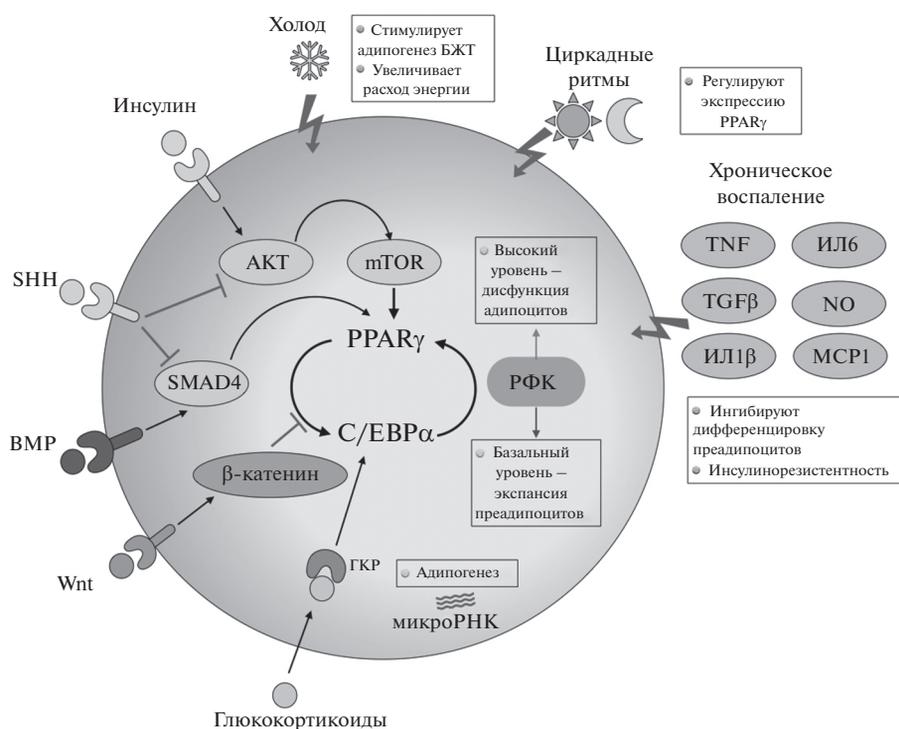


Рис. 3. Регуляция адипогенеза. Множество внеклеточных сигналов направляет процесс дифференцировки преадипоцитов. Некоторые сигнальные молекулы, такие как инсулин, глюкокортикоиды, костные морфогенетические белки (BMP), напрямую активируют PPAR γ и/или C/EBP α для активации дифференцировки преадипоцитов (Barak et al., 1999; Rosen et al., 1999; Wang et al., 2015). Другие стимулы (например, белки семейств Wnt или Hedgehog (SHH)) ингибируют адипогенез через прямую репрессию комплекса PPAR γ –C/EBP α или путем супрессии других проадипогенных сигнальных каскадов (например, ингибирование инсулинового сигнального каскада белками Hedgehog) (Fontaine et al., 2008; Lowe et al., 2011). Помимо этого, другие стимулы, такие как окислительный стресс и продукция РФК (Mahadev et al., 2004; Furukawa et al., 2004), воспаление (Alessi et al., 2000; Weisberg et al., 2003), циркадные ритмы (Sun et al., 2018), холододовая стимуляция, также принимают участие в регуляции адипогенеза (Wang et al., 2016). ИЛ – интерлейкин, TGF β – трансформирующий фактор β (transforming growth factor β), TNF – фактор некроза опухолей (tumour necrosis factor), MCP1 – хемоаттрактантный белок моноцитов (monocyte chemoattractant protein 1).

процесса как ключевого фактора старения или сенесценции тканей (Franceschi, 2017). С возрастом в жировой ткани увеличивается число клеток (наиболее вероятно, макрофагов и Т-лимфоцитов), секретирующих определенные факторы (известные как SASP, senescence-associated secretory phenotype), повреждающие окружающие клетки, приводящие к их дегенерации и развитию хронического воспалительного процесса (так называемый inflammaging) (Franceschi et al., 2017).

Так, сенесценцию адипоцитов определяли с помощью генного и секреторного профилирования по активности β -галактозидазы в парных биоптатах подкожной и сальниковой жировой ткани у пациентов с выраженным ожирением. Установили, что активность β -галактозидазы в семь раз выше в подкожной жировой клетчатке, чем в жировой ткани сальника. При этом было показано что более высокая активность β -галактозидазы сопряжена с высокой концентрацией сывороточного лептина и, соответственно, с раз-

витием инсулинорезистентности и выраженной дислипидемии. Несколько факторов, включая белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста-3 (IGFBP-3, insulin-like growth factor-binding protein), ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1, plasminogen activator inhibitor 1), хемокиновый лиганд С-С мотива 2 (CCL2) и ИЛ-6, были повышены в подкожной жировой ткани. В то же время сенолитическое лечение уменьшало активность β -галактозидазы и приводило к нормализации описанных факторов (Rouault et al., 2021).

Люди с ожирением имеют целый ряд метаболических сдвигов. При увеличении размеров адипоциты испытывают механический стресс, поскольку увеличивается их контактирование с соседними клетками и компонентами экстрацеллюлярного матрикса (Halberg et al., 2009). Кроме того, возникает состояние гипоксии из-за ограниченной диффузии кислорода к адипоцитам. Механический и гипоксический стресс приводят к развитию воспаления, что сопровождается уси-

лением липолиза, секрецией воспалительных цитокинов и снижением секреции противовоспалительных адипокинов, например, лептина и адипонектина (Meyer et al., 2013). Кроме того, размер адипоцитов положительно коррелирует не только с различными воспалительными факторами, но также и с количеством CD206⁺-макрофагов, участвующих в фагоцитозе погибших клеток (Murano et al., 2008). Таким образом, не само ожирение, а именно размер адипоцитов является ключевым фактором, определяющим их гибель. Но следует отметить, что висцеральные адипоциты имеют меньший критический размер смерти (размер адипоцита, при котором происходит индукция его гибели), по сравнению с подкожными адипоцитами (Cinti et al., 2018).

В гипертрофированных адипоцитах наблюдается ряд важных патологических изменений: меняется число и размер митохондрий, происходит гипертрофия эндоплазматической сети и аппарата Гольджи (что связано, в том числе, с гиперпродукцией провоспалительных факторов, например, MCP-1, CXCL14, MIP-1 α , MCP-2, MCP-3, RANTES), накопление гранул холестерина и гиперпродукция коллагена и амилоида во внеклеточном матриксе (Xu et al., 2003; Kanda et al., 2006; Sun et al., 2011). Присутствие холестерина и модификация клеточных органелл являются потенциальными молекулярными паттернами, ассоциированными с повреждением клетки (DAMPs, damage-associated-molecular patterns), выступающими в качестве активаторов рецепторов NLR (NOD-like receptors; nucleotide oligomerization domain receptors), которые вместе с белками – прокаспазой-1 и PYCARD (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, апоптоз-ассоциированный спрек-подобный белок, содержащий CARD) формируют единый белковый комплекс (Dewell et al., 2010). Активация NLRs приводит к образованию активной каспазы-1, которая инициирует особый вид клеточной смерти, связанной с гипервоспалением, – пироптозом (Martinon, Tschopp, 2007). С учетом того, что с возрастом увеличивается число клеток, продуцирующих воспалительные факторы, все большее число адипоцитов подвергается пироптозу, что в свою очередь способствует большей гипертрофии оставшихся клеток и развитию метаболических нарушений, ассоциированных с их гипертрофией.

Однако около 20–30% от общего числа больных с ожирением являются метаболически здоровыми людьми. Более того, корреляционные клинические исследования показывают, что стимуляция адипогенеза у людей с низким ИМТ может положительно сказываться на метаболическом здоровье. Например, люди, предрасположенные к гипертрофическому ожирению, имеют сниженную чувствительность к инсулину, поэтому даже при нормальной массе тела (без ожирения) у та-

ких пациентов развивается инсулинорезистентность. Так, в исследованиях *in vivo* было показано, что ингибирование адипогенеза во взрослом возрасте с помощью делеции PPAR γ приводит к патологической гипертрофической экспансии белой жировой ткани в условиях избыточного питания. Напротив, стимуляция висцерального адипогенеза за счет гиперэкспрессии PPAR γ имела благоприятный эффект – наблюдалось снижение уровня локального воспаления, сохранение нормальной секреции адипонектина без повышения массы тела. Также было высказано предположение, что нарушение адипогенеза может привести к неспособности секвестрировать липотоксичные жирные кислоты (Petrus et al., 2018).

СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ АДИПОЦИТОВ

Эндокринная функция жировой ткани общеизвестна. Жировая ткань секретирует гормоны, цитокины, ростовые факторы белково-пептидной природы: лептин, адипонектин, резистин, висфатин, апелин, аспросин, фактор роста фибробластов (FGF21, fibroblast growth factor 21) и др. (рис. 4). Эти факторы имеют множество мишеней действия (печень, скелетная мускулатура, нервная ткань, сердце, кишечник, поджелудочная железа и др.) и играют важнейшую роль в поддержании их функционирования и метаболизма в целом (Galic et al., 2010).

Однако в настоящее время описаны совершенно новые сигнальные молекулы, образуемые жировой тканью. К ним относятся разветвленные эфиры жирных кислот и гидроксильных жирных кислот (FANFA) и 12,13-дигидроксиоктадек-9Z-еновая кислота (12,13-diHOME) (Kahn et al., 2019). Наиболее изученным FANFA является соединение пальмитиновой кислоты с гидроксистеаратом. Также было установлено, что уровень FANFA увеличен у мышей с повышенной экспрессией ГЛЮТ-4 в жировой ткани и у животных с метаболически здоровым фенотипом. Также FANFA проявляют противовоспалительные свойства, снижая индуцированную липополисахаридами активацию макрофагов (Kuda, 2017; Kahn et al., 2019). Липокин diHOME является продуктом метаболизма линолевой кислоты. При этом высокий уровень 12,13-diHOME обнаруживается в белой жировой ткани, ее функция заключается в увеличении утилизации СЖК. Физические нагрузки и воздействие холода положительно коррелируют с высоким уровнем 12,13-diHOME в сыворотке крови, что обусловлено ее регуляторной ролью в процессе окисления СЖК в миоцитах (Ortega-Molina et al., 2012; Vidal, Stanford, 2020).

- during morbid obesity // *Diabetes*. 2000. V. 49. № 8. P. 1374–1380.
- Bäck K., Arnqvist H.J.* Changes in insulin and IGF-I receptor expression during differentiation of human preadipocytes // *Growth Horm. IGF Res.* 2009. V. 19. № 2. P. 101–111.
- Bahmad H.F., Daouk R., Azar J. et al.* Modeling adipogenesis: current and future perspective // *Cells*. 2020. V. 9. № 10. P. 2326.
- Barak Y., Nelson M.C., Ong E.S. et al.* PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development // *Mol. Cell*. 1999. V. 4. № 4. P. 585–595.
- Berry R., Rodeheffer M.S.* Characterization of the adipocyte cellular lineage *in vivo* // *Nat. Cell Biol.* 2013. V. 15. № 3. P. 302–308.
- Bi P., Yue F., Karki A. et al.* Notch activation drives adipocyte dedifferentiation and tumorigenic transformation in mice // *J. Exp. Med.* 2016. V. 213. № 10. P. 2019–2037.
- Bozec A., Hannemann N.* Mechanism of regulation of adipocyte numbers in adult organisms through differentiation and apoptosis homeostasis // *J. Vis. Exp.* 2016. V. 3. № 112. P. 53822.
- Burl R.B., Ramseyer V.D., Rondini E.A. et al.* Deconstructing adipogenesis induced by β 3-adrenergic receptor activation with single-cell expression profiling // *Cell Metab.* 2018. V. 28. № 2. P. 300–309.
- Cawthorn W.P., Scheller E.L., Learman B.S. et al.* Bone marrow adipose tissue is an endocrine organ that contributes to increased circulating adiponectin during caloric restriction // *Cell Metab.* 2014. V. 20. P. 368–375.
- Cawthorn W.P., Scheller E.L.* Editorial: bone marrow adipose tissue: formation, function, and impact on health and disease // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2017. V. 8. P. 112.
- Cereijo R., Gallego-Escuredo J.M., Moure R.* The molecular signature of HIV-1-associated lipomatosis reveals differential involvement of brown and beige/brite adipocyte cell lineages // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 8. P. e0136571.
- Chapman A.B., Knight D.M., Ringold G.M.* Glucocorticoid regulation of adipocyte differentiation: hormonal triggering of the developmental program and induction of a differentiation-dependent gene // *J. Cell Biol.* 1985. V. 101. № 4. P. 1227–1235.
- Chau Y.Y., Bandiera R., Serrels A. et al.* Visceral and subcutaneous fat have different origins and evidence supports a mesothelial source // *Nat. Cell Biol.* 2014. V. 16. № 4. P. 367–375.
- Chen Y., Ikeda K., Yoneshiro T.* Thermal stress induces glycolytic beige fat formation *via* a myogenic state // *Nature*. 2019. V. 565. P. 180–185.
- Cinti S.* Adipose organ development and remodeling // *Comp. Physiol.* 2018. V. 8. № 4. P. 1357–1431.
- Cinti S., Cancellor R., Zingaretti M.C. et al.* CL316,243 and cold stress induce heterogeneous expression of UCP1 mRNA and protein in rodent brown adipocytes // *J. Histochem. Cytochem.* 2002. V. 50. № 1. P. 21–31.
- Craft C.S., Li Z., MacDougald O.A. et al.* Molecular differences between subtypes of bone marrow adipocytes // *Curr. Mol. Biol. Rep.* 2018. V. 4. P. 16–23.
- Craft C.S., Robles H., Lorenz M.R. et al.* Bone marrow adipose tissue does not express UCP1 during development or adrenergic-induced remodeling // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 17427.
- Debette S., Beiser A., Hoffmann U. et al.* Visceral fat is associated with lower brain volume in healthy middle-aged adults // *Ann. Neurol.* 2010. V. 68. P. 136–144.
- Driskell R.R., Jahoda C.A., Chuong C.M. et al.* Defining dermal adipose tissue // *Exp. Dermatol.* 2014. V. 23. P. 629–631.
- Duwell P., Kono H., Rayner K.J. et al.* NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals // *Nature*. 2010. V. 464. № 7293. P. 1357–1361.
- Esteve Ràfols M.* Adipose tissue: cell heterogeneity and functional diversity // *Endocrinol. Nutr.* 2014. V. 61. № 2. P. 100–112.
- Enzi G., Busetto L., Sergi G. et al.* Multiple symmetric lipomatosis: a rare disease and its possible links to brown adipose tissue // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2015. V. 25. № 4. P. 347–353.
- Fontaine C., Cousin W., Plaisant M. et al.* Hedgehog signaling alters adipocyte maturation of human mesenchymal stem cells // *Stem Cells*. 2008. V. 26. № 4. P. 1037–1046.
- Fox C.S., Massaro J.M., Hoffmann U. et al.* Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study // *Circulation*. 2007. V. 116. P. 39–48.
- Franceschi C.* Healthy ageing in 2016: obesity in geroscience – is cellular senescence the culprit? // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2017. V. 13. № 2. P. 76–78.
- Franceschi C., Garagnani P., Vitale G. et al.* Inflammaging and “Garb-aging” // *Tr. Endocrinol. Metab.* 2017. V. 28. № 3. P. 199–212.
- Freytag S.O., Paielli D.L., Gilbert J.D.* Ectopic expression of the CCAAT/enhancer-binding protein alpha promotes the adipogenic program in a variety of mouse fibroblastic cells // *Gen. Dev.* 1994. V. 8. № 14. P. 1654–1663.
- Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Shimomura I.* Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome // *J. Clin. Invest.* 2004. V. 114. № 12. P. 1752–1761.
- Galic S., Oakhill J.S., Steinberg G.R.* Adipose tissue as an endocrine organ // *Mol. Cell Endocrinol.* 2010. V. 316. № 2. P. 129–139.
- Ghaben A.L., Scherer P.E.* Adipogenesis and metabolic health // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019. V. 20. № 4. P. 242–258.
- Graja A., Schulz T.J.* Mechanisms of aging-related impairment of brown adipocyte development and function // *Gerontology*. 2015. V. 61. № 3. P. 211–217.
- Grundy S.M.* Adipose tissue and metabolic syndrome: too much, too little or neither // *Eur. J. Clin. Invest.* 2015. V. 45. № 11. P. 1209–1217.

- Gupta R.K., Arany Z., Seale P. et al.* Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp423 // *Nature*. 2010. V. 464. № 7288. P. 619–623.
- Halberg N., Khan T., Trujillo M.E.* Hypoxia-inducible factor 1 α induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue // *Mol. Cell Biol.* 2009. V. 29. № 16. P. 4467–4483.
- Hepler C., Shao M., Xia J.Y. et al.* Directing visceral white adipocyte precursors to a thermogenic adipocyte fate improves insulin sensitivity in obese mice // *Elife*. 2017. V. 6. P. e27669.
- Hepler C., Shan B., Zhang Q. et al.* Identification of functionally distinct fibro-inflammatory and adipogenic stromal subpopulations in visceral adipose tissue of adult mice // *Elife*. 2018. V. 7. P. e39636.
- Horowitz M.C., Berry R., Holtrup B.* Bone marrow adipocytes // *Adipocyte*. 2017. V. 6. № 3. P. 193–204.
- Huang H., Song T.J., Li X. et al.* BMP signaling pathway is required for commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to the adipocyte lineage // *PNAS USA*. 2009. V. 106. № 31. P. 12670–12675.
- Huang-Doran I., Sleight A., Rochford J.J. et al.* Lipodystrophy: metabolic insights from a rare disorder // *J. Endocrinol.* 2010. V. 207. № 3. P. 245–255.
- Ibrahim M.M.* Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences // *Obes. Rev.* 2010. V. 11. № 1. P. 11–18.
- Jeffery E., Church C.D., Holtrup B.* Rapid depot-specific activation of adipocyte precursor cells at the onset of obesity // *Nat. Cell Biol.* 2015. V. 17. № 4. P. 376–385.
- Jeffery E., Wing A., Holtrup B.* The adipose tissue microenvironment regulates depot-specific adipogenesis in obesity // *Cell Metab.* 2016. V. 24. № 1. P. 142–150.
- Kahn C.R., Wang G., Lee K.Y.* Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome // *J. Clin. Invest.* 2019. V. 129. P. 3990–4000.
- Kanda H., Tateya S., Tamori Y.* MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity // *J. Clin. Invest.* 2006. V. 116. № 6. P. 1494–505.
- Kuda O.* Bioactive metabolites of docosahexaenoic acid // *Biochimie*. 2017. V. 136. P. 12–20.
- Lee Y.H., Petkova A.P., Mottillo E.P. et al.* In vivo identification of bipotential adipocyte progenitors recruited by β 3-adrenoceptor activation and high-fat feeding // *Cell Metab.* 2012. V. 15. № 4. P. 480–491.
- Lee Y.H., Petkova A.P., Konkar A.A. et al.* Cellular origins of cold-induced brown adipocytes in adult mice // *FASEB J.* 2015. V. 29. № 1. P. 286–299.
- Lefterova M.I., Zhang Y., Steger D.J. et al.* PPAR γ and C/EBP factors orchestrate adipocyte biology via adjacent binding on a genome-wide scale // *Gen. Dev.* 2008. V. 22. № 21. P. 2941–2952.
- Leiva M., Matesanz N., Pulgarin-Alfaro M. et al.* Uncovering the role of p38 family members in adipose tissue physiology // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2020. V. 11. P. 572089.
- Lowe C.E., O’Rahilly S., Rochford J.J. et al.* Adipogenesis at a glance // *J. Cell. Sci.* 2011. V. 124. P. 2681–2686.
- Maddaluno L., Rudini N., Cattano R. et al.* EndMT contributes to the onset and progression of cerebral cavernous malformations // *Nature*. 2013. V. 498. № 7455. P. 492–496.
- Mahadev K., Motoshima H., Wu X. et al.* The NAD(P)H oxidase homolog Nox4 modulates insulin-stimulated generation of H₂O₂ and plays an integral role in insulin signal transduction // *Mol. Cell Biol.* 2004. V. 24. № 5. P. 1844–1854.
- Marcelin G., Ferreira A., Liu Y. et al.* A PDGFR α -mediated switch toward CD9(high) adipocyte progenitors controls obesity-induced adipose tissue fibrosis // *Cell Metab.* 2017. V. 25. P. 673–685.
- Martinon F., Tschopp J.* Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation // *Cell Death Diff.* 2007. V. 14. № 1. P. 10–22.
- Medici D., Shore E.M., Lounev V.Y. et al.* Conversion of vascular endothelial cells into multipotent stem-like cells // *Nat. Med.* 2010. V. 16. № 12. P. 1400–1406.
- Meyer L.K., Ciaraldi T.P., Henry R.R. et al.* Adipose tissue depot and cell size dependency of adiponectin synthesis and secretion in human obesity // *Adipocyte*. 2013. V. 2. № 4. P. 217–226.
- Min S.Y., Kady J., Nam M. et al.* Human “brite/beige” adipocytes develop from capillary networks, and their implantation improves metabolic homeostasis in mice // *Nat. Med.* 2016. V. 22. № 3. P. 312–318.
- Morroni M., Barbatelli G., Zingaretti M.C. et al.* Immunohistochemical, ultrastructural and morphometric evidence for brown adipose tissue recruitment due to cold acclimation in old rats // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 1995. V. 19. № 2. P. 126–131.
- Murano I., Barbatelli G., Parisani V. et al.* Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice // *J. Lipid. Res.* 2008. V. 49. № 7. P. 1562–1568.
- Ortega-Molina A., Efeyan A., Lopez-Guadamillas E. et al.* Pten positively regulates brown adipose function, energy expenditure, and longevity // *Cell Metab.* 2012. V. 15. № 3. P. 382–394.
- Pellegrinelli V., Carobbio S., Vidal-Puig A. et al.* Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues // *Diabetologia*. 2016. V. 59. № 6. P. 1075–1088.
- Petrus P., Mejhert N., Corrales P. et al.* Transforming growth factor- β 3 regulates adipocyte number in subcutaneous white adipose tissue // *Cell Rep.* 2018. V. 25. P. 551–560.
- Pinckard K.M., Shettigar V.K., Wright K.R. et al.* A novel endocrine role for the BAT-released lipokine 12,13-diHOME to mediate cardiac function // *Circulation*. 2021. V. 143. P. 145–159.
- Planat-Benard V., Silvestre J.S., Cousin B. et al.* Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives // *Circulation*. 2004. V. 109. № 5. P. 656–663.

- Plikus M.V., Guerrero-Juarez C.F., Ito M. et al.* Regeneration of fat cells from myofibroblasts during wound healing // *Science*. 2017. V. 355. № 6326. P. 748–752.
- Rojas-Rodriguez R., Lujan-Hernandez J., Min S.Y.* Generation of functional human adipose tissue in mice from primed progenitor cells // *Tiss. Eng. Part A*. 2019. V. 25. P. 842–854.
- Rossato M.* Aging and brown adipose tissue activity decline in human: does the brain extinguish the fire? // *Aging Clin. Exp. Res.* 2016. V. 28. № 3. P. 579–581.
- Rouault C., Marcelin G., Adriouch S. et al.* Senescence-associated beta-galactosidase in subcutaneous adipose tissue associates with altered glycaemic status and truncal fat in severe obesity // *Diabetologia*. 2021. V. 64. P. 240–254.
- Rui L.* Brown and beige adipose tissues in health and disease // *Compr. Physiol.* 2017. V. 7. P. 1281–1306.
- Rosen E.D., Sarraf P., Troy A.E. et al.* PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue *in vivo* and *in vitro* // *Mol. Cell*. 1999. V. 4. № 4. P. 611–617.
- Sarjeant K., Stephens J.M.* Adipogenesis // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. V. 4. P. a008417.
- Sanchez-Gurmaches J., Hung C.M., Sparks C.A. et al.* PTEN loss in the Myf5 lineage redistributes body fat and reveals subsets of white adipocytes that arise from Myf5 precursors // *Cell Metab.* 2012. V. 16. № 3. P. 348–362.
- Sbarbati A., Morroni M., Zancanaro C., Cinti S.* Rat interscapular brown adipose tissue at different ages: a morphometric study // *Int. J. Obes.* 1991. V. 15. № 9. P. 581–587.
- Scheller E.L., Khandaker S., Learman B.S.* Bone marrow adipocytes resist lipolysis and remodeling in response to beta-adrenergic stimulation // *Bone*. 2019. V. 118. P. 32–41.
- Schupp M., Lazar M.A.* Fingered for a fat fate // *Cell Metab.* 2010. V. 11. P. 244–245.
- Schwalie P.C., Dong H., Zachara M. et al.* A stromal cell population that inhibits adipogenesis in mammalian fat depots // *Nature*. 2018. V. 559. № 7712. P. 103–108.
- Shao M., Hepler C., Vishvanath L. et al.* Fetal development of subcutaneous white adipose tissue is dependent on Zfp423 // *Mol. Metab.* 2016. V. 6. № 1. P. 111–124.
- Smith U., Kahn B.B.* Adipose tissue regulates insulin sensitivity: role of adipogenesis, *de novo* lipogenesis and novel lipids // *J. Int. Med.* 2016. V. 280. P. 465–475.
- Song A., Dai W., Jang M.J. et al.* Low- and high-thermogenic brown adipocyte subpopulations coexist in murine adipose tissue // *J. Clin. Invest.* 2020. V. 130. P. 247–257.
- Spalding K.L., Arner E., Westermarck P.O. et al.* Dynamics of fat cell turnover in humans // *Nature*. 2008. V. 453. P. 783–787.
- Spalding K.L., Bernard S., Naslund E. et al.* Impact of fat mass and distribution on lipid turnover in human adipose tissue // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. P. 15253.
- Speliotes E.K., Massaro J.M., Hoffmann U.* Fatty liver is associated with dyslipidemia and dysglycemia independent of visceral fat: the Framingham Heart Study // *Hepatology*. 2010. V. 51. P. 1979–1987.
- Suchacki K.J., Tavares A.S., Mattiucci D. et al.* Bone marrow adipose tissue is a unique adipose subtype with distinct roles in glucose homeostasis // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. P. 3097.
- Sun K., Kusminski C.M., Scherer P.E.* Adipose tissue remodeling and obesity // *J. Clin. Invest.* 2011. V. 121. № 6. P. 2094–2101.
- Sun M., Feng W., Wang F.* Meta-analysis on shift work and risks of specific obesity types // *Obes. Rev.* 2018. V. 19. № 1. P. 28–40.
- Tang W., Zeve D., Suh J.M.* White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature // *Science*. 2008. V. 322. № 5901. P. 583–686.
- Vidal P., Stanford K.I.* Exercise-induced adaptations to adipose tissue thermogenesis // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2020. V. 11. P. 270.
- Vijgen G.H., Bouvy N.D., Teule G.J.* Brown adipose tissue in morbidly obese subjects // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 2. P. e17247.
- Vishvanath L., MacPherson K.A., Hepler C. et al.* Pdgfr β + mural preadipocytes contribute to adipocyte hyperplasia induced by high-fat-diet feeding and prolonged cold exposure in adult mice // *Cell Metab.* 2016. V. 23. № 2. P. 350–359.
- Wang Q.A., Tao C., Gupta R.K. et al.* Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration // *Nat. Med.* 2013. V. 19. № 10. P. 1338–1344.
- Wang Q.A., Tao C., Jiang L. et al.* Distinct regulatory mechanisms governing embryonic *versus* adult adipocyte maturation // *Nat. Cell. Biol.* 2015. V. 17. № 9. P. 1099–1111.
- Wang Q.A., Song A., Chen W. et al.* Reversible de-differentiation of mature white adipocytes into preadipocyte-like precursors during lactation // *Cell Metab.* 2018. V. 28. № 2. P. 282–288.
- Wang W., Seale P.* Control of brown and beige fat development // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2016. V. 17. № 11. P. 691–702.
- Weisberg S.P., McCann D., Desai M. et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue // *J. Clin. Invest.* 2003. V. 112. № 12. P. 1796–1808.
- Wu Z., Rosen E.D., Brun R. et al.* Cross-regulation of C/EBP alpha and PPAR gamma controls the transcriptional pathway of adipogenesis and insulin sensitivity // *Mol. Cell*. 1999. V. 3. № 2. P. 151–158.
- Xu H., Barnes G.T., Yang Q.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance // *J. Clin. Invest.* 2003. V. 112. № 12. P. 1821–1830.

Modern Understanding of Molecular Mechanisms of Adipogenesis and Plasticity of Adipose Tissue

O. P. Shatova^{a, *}, A. A. Zabolotneva^a, and A. V. Shestopalov^{a, b}

^a Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

^b Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

*e-mail: shatova.op@gmail.com

This article discusses the current understanding of the heterogeneity of adipose tissue and its cellular composition. Five main types of adipocytes are described, and each type has its own subtypes and their functional and morphological features. The role of the metabolic and cellular microenvironment of preadipocytes in adipogenesis is discussed, its stages and key mechanisms of regulation are described. The leading role in the terminal differentiation of preadipocytes is assigned to the receptors activated by peroxisomal proliferators- γ and bone morphogenetic proteins. The analysis of the high plasticity of adipocytes and their ability to transdifferentiation and dedifferentiation into another cell type is carried out. The issues of senescence and apoptosis of adipocytes, chronic inflammation as a factor affecting the violation of adipogenesis are discussed. It is suggested that changes in the rate of adipogenesis, early senescence and apoptosis of fat cells lead to the development of insulin resistance and metabolic unhealthy obesity.

Keywords: adipose tissue, adipocytes, adipogenesis, transdifferentiation

УДК 546.2:57.084+612.014.46

РОЛЬ СЕЛЕНА В ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ, ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

© 2021 г. А. Ф. Титов¹, Н. М. Казнина^{1,*}, Т. А. Карапетян², Н. В. Доршакова², В. Н. Тарасова²

¹Институт биологии – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр РАН”, Петрозаводск, Россия

²Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

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

Поступила в редакцию 21.01.2021 г.

После доработки 16.03.2021 г.

Принята к публикации 19.03.2021 г.

Представлен обзор литературных данных о роли селена в жизнедеятельности растений, животных и человека. Приведены концентрации селена в разных по составу почвах и в почвах разных регионов России. Рассмотрен вопрос о содержании селена в растениях как основном источнике его поступления в организм человека. Отмечено положительное влияние небольших доз селена на продуктивность и качество урожая ряда сельскохозяйственных культур. Указаны возможные причины дефицита селена в растениях. Отдельный раздел посвящен роли селена в жизнедеятельности животных. Показано его участие в функционировании целого ряда ферментов и белков, описаны некоторые заболевания у животных при дефиците этого микроэлемента. Особое внимание уделено влиянию селена на здоровье человека. Рассматриваются основные функции селена в организме человека, в том числе его канцеропротекторное действие. Суммированы данные о селенсодержащих белках с указанием их участия в конкретных биологических процессах. Подробно описаны заболевания, вызываемые дефицитом селена. Указаны возможные пути устранения дефицита этого элемента у человека. Названы вопросы, связанные с исследованием влияния селена на живые организмы, которые требуют изучения в ближайшее время.

Ключевые слова: селен, дефицит селена, растения, животные, человек

DOI: 10.31857/S0042132421050094

ВВЕДЕНИЕ

Селен является микроэлементом, который в малых концентрациях необходим для всех живых организмов, включая человека. Несмотря на то, что в организме человека его содержание невелико, селен непосредственно участвует в выполнении большого числа жизненно важных функций в клетке. В частности, он необходим для тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования, функционирования пентозофосфатного цикла и цикла трикарбоновых кислот, участвует в гормональном балансе щитовидной железы, а также в работе антиоксидантной системы организма (Vianco et al., 2002; Duntas, Benvenega, 2015; Preda et al., 2017). Поэтому дефицит селена отрицательно сказывается на здоровье человека. Например, обнаружено, что при недостатке этого микроэлемента увеличивается восприимчивость людей к инфекциям, в том числе к вирусу СПИД (Rayman, 2012), снижается продолжительность жизни. Дефицит селена обуславливает развитие ряда эндемических заболеваний (болезнь Кешана и Кашина–Бека), ускоряет развитие атеросклероти-

ческих процессов, повышает вероятность развития сердечно-сосудистых заболеваний и инсультов, приводит к развитию катаракты и многим формам рака, бесплодию у мужчин, а также к задержке роста у детей (Бабенко, 2001; Болотников, 2008).

По мнению ряда авторов, физиологический оптимум (диапазон безопасных поступлений) селена для человека составляет 350–400 мкг/день (Levander, 1991). Дефицит микроэлемента у взрослого человека отмечается при его поступлении в дозе 16–21 мкг/день и ниже (Yang et al., 1989). Согласно последним данным, в настоящее время дефицит селена выявлен у 1 млрд людей на земном шаре, включая и Россию (по: Аристархов и др., 2018). Основной причиной его возникновения является недостаточное поступление микроэлемента с продуктами питания, что в свою очередь обусловлено его низким содержанием в окружающей среде (Ермаков, 2001).

Одной из наиболее эффективных мер по устранению дефицита селена в организме человека считается использование биологически активных добавок к пище, однако чаще всего это не ре-

шает проблему недостатка микроэлемента в полном объеме. Более успешным решением может стать увеличение содержания селена в продуктах питания, особенно растительного происхождения, поскольку именно растения являются основными источниками этого микроэлемента и продуцентами, находящимися в начале пищевой цепи. Кроме того, в растениях он находится в форме метилированного селена (селенметионина), доступность которого в 5–10 раз выше, чем его доступность из неорганических соединений (Кашин, Шубина, 2011).

В настоящее время имеется довольно большое количество исследований, касающихся роли селена в жизнедеятельности растений, животных и человека, результаты которых нашли свое отражение в экспериментальных статьях (Серегина, 2007; Голубкина и др., 2017; Lubos et al., 2010; Misra et al., 2015 и др.), обзорах (Finley, 2005; Fajt et al., 2009; Mangiarane et al., 2014 и др.) и монографиях (Ермаков, Ковальский, 1974; Тутельян и др., 2002; Голубкина, Папазян, 2006; Вихрева и др., 2012 и др.). Тем не менее, интерес к этому микроэлементу не ослабевает, и исследования влияния дефицита селена на живые организмы продолжают. Однако в основном эти работы отражают отрицательное влияние недостатка этого микроэлемента на организм человека. В настоящем обзоре предпринята попытка обобщения данных литературы, касающихся роли селена в жизнедеятельности растений, животных и человека.

СОДЕРЖАНИЕ СЕЛЕНА В ПОЧВЕ

В почве содержание селена колеблется в очень широких пределах и зависит главным образом от материнской породы, на которой сформированы почвы, от вида почвы и ее физико-химического состава (Ермаков, Ковальский, 1974). Повышенный уровень селена (20 мг/кг и выше) встречается довольно редко, и он характерен для почв, сформированных на материнских породах, богатых этим микроэлементом, а также для вторично засоленных почв. Наиболее широко они распространены в США, Канаде, Южной Америке, Австралии, Индии и Китае (White, 2016). Достаточный для растений уровень селена (200–300 мкг/кг) имеют лишь типичные черноземы (Голубкина и др., 2012). Большинство же почв характеризуются дефицитом этого микроэлемента (менее 100 мкг/кг) (Иванов, 1996). Например, в России в той или иной мере выраженный дефицит селена встречается в почвах 27 регионов, включая республики Бурятия, Карелия, Коми, Марий Эл, Мордовия, а также Архангельскую, Вологодскую, Ивановскую, Иркутскую, Ленинградскую, Московскую, Мурманскую, Новгородскую, Тверскую, Читинскую и Ярославскую области. Наибольший дефицит микроэлемента выявлен в Бурятии, Читин-

ской области и Хабаровском крае (Голубкина, Папазян, 2006). Для таких территорий характерны в основном подзолистые, дерново-подзолистые или болотные почвы (Голубкина и др., 2017).

В целом, общее содержание селена в почве складывается из его неорганических соединений и органических форм, попадающих в почву вместе с умершими растениями и животными организмами. Важным источником поступления селена в почву является и антропогенный фактор, в частности, внесение селенсодержащих удобрений (Шеуджен и др., 2018) или сжигание ископаемого топлива (Сидельникова, 1999).

СЕЛЕН В РАСТЕНИЯХ

Растения представляют собой первое звено в пищевой цепи переноса селена в организм человека и его основной источник. Вместе с тем для растений селен является одним из наиболее труднодоступных химических элементов. Его низкая доступность связана с малой подвижностью и плохой растворимостью некоторых из его солей, в частности, селенитов и сульфидов селена, часто встречающихся в разных типах почв (Li et al., 2008). Лучше всего растениями поглощаются селенаты, хорошо растворимые в воде. Поглощение селенатов клетками корня из ризосферы осуществляется белками-транспортерами серы, гомологичными белкам арабидопсиса AtSULTR1.1 и AtSULTR1.2 (Sulfate transporter 1.1 и 1.2) (White, 2016).

Поглощение селена растениями зависит и от физико-химических свойств почвы (рН почвы, содержание солей, органических веществ и др.), а также от видовых (сортовых) особенностей (Ермаков, Ковальский, 1974; Вихрева, Лебедева, 2010; Шеуджен и др., 2013). По способности накапливать селен растения можно разделить на три группы (Ермаков, Ковальский, 1974). Первая — наиболее многочисленная, включает растения, которые накапливают этот элемент в небольших количествах (0.1–1.0 мг/кг сухой массы), гораздо меньших, чем его содержится в почве. Растения второй группы характеризуются способностью к накоплению селена в количествах, превышающих его концентрацию в почве. При этом содержание элемента в растениях может достигать 200 мг/кг сухой массы. К третьей группе относятся растения, способные к сверхнакоплению селена. Это так называемые гипераккумуляторы, содержание селена в которых может достигать 1000–15000 мг/кг сухой массы. К ним, в частности, относятся представители родов *Astragalus* (сем. Fabaceae), *Stanleya* (сем. Brassicaceae), *Oenopsis* (сем. Asteraceae) и *Xylorhiza* (сем. Asteraceae). Внутри указанных трех групп содержание селена также может значительно различаться. Так, все сельскохозяйственные культуры относятся к первой группе. Однако, по

данным литературы, наибольшее количество селена накапливают растения сем. Brassicaceae (в том числе, брокколи, белокочанная капуста, цветная капуста и капуста кольраби) (Wiesner-Reinhold et al., 2017) и семейства Poaceae (в частности, хлебные злаки). Из злаков ведущую позицию в качестве источника селена занимает мягкая пшеница. Продукты ее переработки обеспечивают около 50% всего селена, потребляемого жителями России. Обнаружены также внутривидовые колебания содержания селена. Например, в зерне разных сортов мягкой пшеницы содержание селена может варьировать от менее 60 до 880 мкг/г сухой массы (Голубкина, Папазян, 2006).

В растениях селен находится в виде селенатов, селенитов, аналогов серосодержащих аминокислот и селенопептидов. В транспорте этих соединений по растению участвует ряд транспортных белков, среди которых ABC-транспортёры (Burne et al., 2010) и транспортёры серы, гомологичные AtSULTR2.1, AtSULTR2.2, AtSULTR3.5, AtSULTR4.1 и AtSULTR4.2 (White, 2016). Обладая способностью замещать серу, селен образует Se-содержащие аминокислоты (селеноцистеин SeCys и селенометионин SeMet) и белки (Голубкина и др., 2017). Обнаружено, что метилированные формы Se-содержащих аминокислот — селенометионин (SeMet), селенометилселеноцистеин (SeMe-SeCys) и дипептид гамма-глутамилселенометилселеноцистеин (γ -Glu-SeMe-SeCys) — обладают антиканцерогенным действием, что дополнительно повышает интерес к исследованиям, направленным на поиск путей увеличения содержания селена в растениях (Голубкина, Папазян, 2006; Zeng, Combs, 2008). Включение селена в метаболизм высших растений происходит тем же путем, что и включение серы (Zayed et al., 1998), поэтому важным определяющим фактором влияния селена на белковый обмен растительного организма является неспецифическое включение селена вместо серы в селеносодержащие аминокислоты (Stadlober et al., 2001; Whanger, 2002). Метаболизм селена в клетке растений, не являющихся гипераккумуляторами, представлен на рис. 1.

Необходимость селена для растений в настоящее время изучается. Например, обнаружено его участие в реакциях образования хлорофилла, синтеза трикарбоновых кислот, в метаболизме длинноцепочечных жирных кислот (Whanger, 2002). Однако одной из наиболее важных функций селена в растительном организме, по мнению многих авторов, считается его способность активизировать антиоксидантную защиту клеток за счет усиления активности целого ряда антиоксидантных ферментов, в том числе, супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы, а также синтеза не ферментных антиоксидантов, таких как аскорбат, флавоноиды, алкалоиды и каротиноиды (Feng et al., 2013). Помимо этого, се-

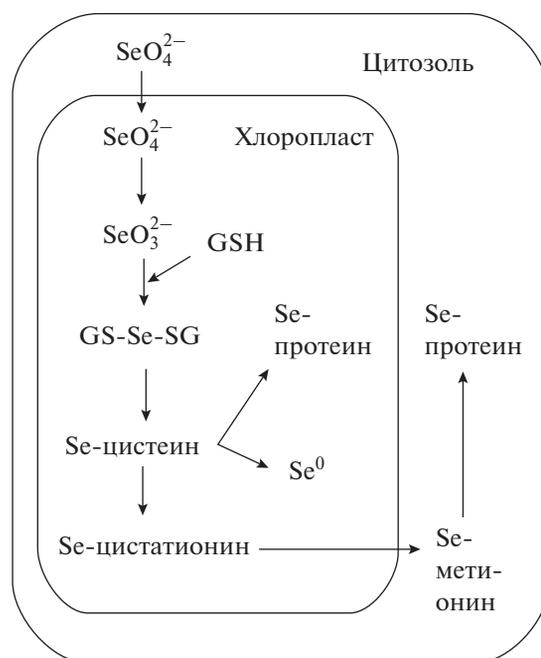


Рис. 1. Метаболизм селена в растениях, не являющихся его гипераккумуляторами (по: van Hoeyuk, 2013, с модификациями). GSH — глутатион; GS-Se-SG — селеноди-глутатион.

лен в форме селеноцистеина входит в состав активных центров одного из важнейших антиоксидантных ферментов — Se-зависимой глутатионпероксидазы (Аристархов и др., 2018). Полагают, что именно с участием селена в регуляции активности компонентов антиоксидантной системы связана его важная роль в защите растений от воздействия стресс-факторов (Блинохватов и др., 2001; Yao et al., 2011b; Durán et al., 2015).

Нетрудно предположить, что недостаток селена в почве должен отрицательно сказываться на жизнедеятельности растений, однако пока такого рода данных в литературе крайне мало. Известно лишь, что основным внешним признаком дефицита селена у растений является появление больших белых штрихов на листьях. Обнаружена также задержка развития растений при недостатке этого микроэлемента в почве. Большинство же из известных работ касается изучения ответной реакции растений на внесение селена в почву в тех или иных концентрациях. При этом доказано положительное влияние небольших доз микроэлемента на продуктивность и качество урожая целого ряда сельскохозяйственных культур. Например, у пшеницы добавление малых концентраций селенита натрия в субстрат приводило к увеличению урожая семян, а также вызывало повышение содержания протеина в вегетативных и репродуктивных органах (Кашин, Шубина, 2011).

У обработанного селеном картофеля увеличивался урожай клубней (Прудников, 2007).

На настоящий момент механизмы стимулирующего эффекта селена на растения неизвестны, высказан лишь ряд предположений на этот счет. Так, некоторые авторы считают, что в основе этого лежит участие селена в азотном обмене (Серегина, Ниловская, 2002). Повышение же содержания азотистых соединений, обладающих гидрофильными свойствами и более высокой водоудерживающей способностью, по-видимому, может являться основным фактором, определяющим положительное влияние селена на водный обмен растений (Кашин, Шубина, 2011). На картофеле показано, что растения, обработанные низкими дозами селенита натрия, характеризовались более интенсивным дыханием, большей скоростью фотохимических реакций в хлоропластах, увеличением чистой продуктивности фотосинтеза, что обеспечивало их более интенсивный рост и большую продуктивность по сравнению с контрольными растениями (Прудников, 2007). У пшеницы разные виды обработки селенитом натрия (предпосевная, внекорневая и комплексная) приводили к повышению содержания фотосинтетических пигментов и увеличению сухой биомассы побега (Кулагина, Головацкая, 2011). Обнаружено также положительное влияние селена на скорость нетто-фотосинтеза, что, отчасти, может быть связано с повышением фотохимической активности хлоропластов (Прудников, 2007)

Выявлен также положительный эффект малых доз селена на устойчивость растений к стрессовым воздействиям. Например, при обработке растений козлятника восточного (*Galega orientalis*) селеном усиливался синтез пролина, что увеличивало устойчивость растений к засолению и тепловому стрессу (Вихрева, 2001). Растения картофеля в присутствии селена оказались более устойчивы к низким (-2°C) температурам (Прудников, 2007), что, по мнению автора, связано в первую очередь с изменением гормонального баланса, в частности, с увеличением содержания ауксинов и гиббереллинов, а также снижением интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), вызванных действием низкой температуры. Кроме того, обработка семян ряда сельскохозяйственных культур водными растворами селената натрия в концентрации 10^{-3} – $10^{-5}\%$ оказывала положительное воздействие на всхожесть и начальный рост проростков в стрессовых условиях, например: козлятника – при водном дефиците, засолении, гипертермии и гипоксии; ячменя – при фунгицидной обработке семян; пшеницы – при повышении кислотности среды (Вихрева, 2011). Это, по мнению автора, во многом обеспечивается способностью микроэлемента усиливать протеолиз за счет усиления активности про-

теолитических ферментов и увеличивать антиоксидантный потенциал растений.

В целом, можно заключить, что селен в малых дозах положительно влияет на жизнедеятельность растений, однако его роль в регуляции основных физиологических процессов у растений до сих пор изучена крайне слабо, а в вопросе о механизмах его влияния на растения существуют только предположения. Практически нет данных о влиянии дефицита этого элемента на растения.

РОЛЬ СЕЛЕНА В ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЖИВОТНЫХ

Роль селена для животных в основном изучена на одомашненных видах, что связано с большей практической значимостью этого вопроса. Исходя из данных литературы, потребности животных в этом микроэлементе различаются в зависимости от вида, пола, возраста и физиологического состояния функциональных систем организма (Stec et al., 2005). Для селена главным путем поступления в организм является алиментарный, при этом 90% микроэлемента поступает с пищей, преимущественно с растительной, в виде селеноцистеина (SeCys) и селенометионина (SeMet) и 10% – с водой (Степанов и др., 2012). Всасывание селена наиболее интенсивно происходит в двенадцатиперстной кишке и в несколько меньшей степени – в тощей и подвздошной кишках, а выведение осуществляется в основном с мочой и калом или с выдыхаемым воздухом (Авцын и др., 1991). Высокие концентрации селена отмечены в печени (30% от общего содержания в организме), мышцах (30%) и почках (15%). Печень и почки – это так называемые депо селена для поддержания синтеза селенопротеинов при недостатке этого микроэлемента (Schrauzer, 2000).

Важная роль селена для животных во многом связана с тем, что он входит в состав активного центра глутатионпероксидазы в виде селеноцистеина (Holovská et al., 2003). Селеноцистеин – аналог цистеина, у которого серосодержащая тиольная группа заменена на селеносодержащую. Он имеет более низкую, чем у цистеина, константу диссоциации и более высокий восстановительный потенциал, благодаря чему селеноцистеин задействован в белках, обладающих антиоксидантной активностью (Byun, Kang, 2011). Глутатионпероксидаза – первый селеносодержащий фермент, обнаруженный в организме млекопитающих – участвует в детоксикации избыточных количеств продуктов ПОЛ и обеспечивает защиту клеток от окислительного стресса (Зайцев, Конопатов, 2004). Поскольку в составе глутатионпероксидазы находится 30–40% общего содержания селена, уровень ее активности в крови часто используется как показатель содержания этого микроэлемента у животных (Holovská et al., 2003).

Помимо глутатионпероксидазы, в организме животных имеется большое количество селенсодержащих ферментов. Среди них: глицинредуктаза, моноселенофосфат-синтетаза (катализирует синтез селенофосфата из селенида и АМФ), селеноцистеинсинтетаза, тиоредоксинредуктазы 1, 2 и 3 (катализируют NADPH-зависимое восстановление окисленного тиоредоксина в цитозоле и митохондриях) (Касумов, 1979; Зайцев, Конопатов, 2004). Селенсодержащие ферменты играют важную роль в контроле клеточного деления, апоптозе, процессах детоксикации (Кармолиев, 2005). Селен также входит в состав селенопротеинов.

В силу большой функциональной значимости селена, его дефицит приводит к различным нарушениям метаболизма, в том числе связанным с нарушениями клеточных мембран. В этом плане наиболее изучен недостаток одного из селенопротеинов – селенопротеина W, с дефицитом которого связывается развитие алиментарной мышечной дистрофии или беломышечной болезни (БМБ), которая наиболее остро проявляется у молодых особей (Radostits et al., 2000; Streeter et al., 2012). Свое название заболевание получило из-за специфического белого цвета мышц. БМБ развивается при содержании селена менее 0.1 мг/кг сухого вещества корма и имеет преимущественно очаговый, энзоотический характер. Предполагают, что это заболевание усугубляется недостатком витамина Е (Усольцева и др., 2010). В патологический процесс вовлекается миокард и поперечнополосатая мускулатура переднего и заднего пояса, реже поражаются жевательные мышцы и диафрагма. Как отмечено у ряда видов сельскохозяйственных животных, БМБ начинает развиваться вскоре после рождения – в первые две недели и последующие два–три месяца жизни. Клинические симптомы включают скованность мышц, слабость и малоподвижность (Radostits et al., 2000), изменение частоты и ритма сердцебиения (Żarczyńska et al., 2013). Так, на ЭКГ больных телят была обнаружена повышенная частота сердечных сокращений, увеличивалась амплитуда зубца Р, укорачивались интервалы PR, QT и ST (Żarczyńska et al., 2013). При развитии БМБ смертность среди молодняка может достигать 60%. Дефицит селенопротеина W возможен и у взрослых особей, но, как правило, болезнь у них протекает в скрытой форме.

У молодых животных, в частности, у ягнят и телят, при дефиците селена наблюдается дистрофия миокарда, что зачастую приводит к их гибели, у поросят отмечена алиментарная дистрофия, гепатоз, язва желудка, у жеребят – полимиозит и азотурия (Koller, Exon, 1986).

Дефицит селена и витамина Е также может быть причиной стеатита, при котором происхо-

дит дегенерация и замещение жировой ткани соединительной с отложениями кальция, что, например, было обнаружено у лошадей и ослов (Cardona, Reza, 2011; van Loon et al., 2015). В результате у животных отмечаются малоподвижность, снижение аппетита, потеря веса, лихорадка, вентральный отек и пр. У свиней дефицит селена и витамина Е вызывает так называемый синдром VESD (vitamin E/selenium deficit) (Fajt et al., 2009). Селеновая недостаточность под названием “энзоотический гепатит поросят” была впервые обнаружена и описана Е.М. Земмером еще в 1882 г.

Необходимо указать и на важную роль селена в фертильности, имплантации эмбриона, удержании плаценты, синтезе тестостерона и сперматозоидов и их подвижности. Как результат, дефицит этого микроэлемента отрицательно влияет на репродуктивные параметры и продуктивность животных. В частности, отмечено, что на селенодефицитных территориях чаще регистрируются случаи бесплодия у коров, тогда как добавление селена в растительный корм увеличивает их плодовитость (Aréchiga, Vázquez-Flores, 1998). Кроме того, у крупного рогатого скота дефицит селена приводит к абортам (Kamada et al., 2014) и мертворождениям (Uematsu et al., 2016). Предполагают, что наиболее вероятными причинами этого являются возникающая недостаточная концентрация прогестерона, необходимая для нормального протекания беременности (Kamada et al., 2014), и формирующаяся сердечная недостаточность у плода (Underwood, Suttle, 2004).

Обнаружено также, что селен стимулирует синтез антител, активность Т-хелперов, миграцию фагоцитарных клеток и фагоцитоз (Finch, Turner, 1996). Некоторые метаболиты селена и селенопротеины (например, глутатионпероксидаза и тиоредоксинредуктаза), участвуют в иммунных и воспалительных реакциях, в антиоксидантном ответе клетки (Sordillo, 2013). Дефицит селена приводит к ослаблению иммунной защиты, обуславливает воспалительные реакции и иммунодефициты. Так, известно, что у коров при дефиците селена снижается способность нейтрофилов крови и молока нейтрализовывать патогены, что способствует развитию маститов (Sordillo, 2013; Mangiapane et al., 2014).

Таким образом, селен является элементом, который участвует во многих жизненно важных процессах в организме, влияет на метаболизм и репродуктивные свойства животных. Его дефицит приводит к развитию нарушений практически во всех органах и системах и вызывает ряд специфических заболеваний, симптоматика которых ослабевает или полностью исчезает при добавлении селена в рацион питания. Вместе с тем до настоящего времени не в полной мере изучен механизм развития болезней, связанных с недо-

статком селена у животных, не определены методы их дифференциальной диагностики, а также наиболее эффективные методы и формы введения селена в организм животных. Дальнейшее изучение роли селена в отдельных процессах у животных представляется весьма важным, поскольку открывает возможности для профилактического добавления этого микроэлемента с целью исключения развития патологий, обусловленных его дефицитом.

ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА СЕЛЕНА НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Для человека главным источником селена является пища, в основном растительного происхождения, поэтому его содержание в организме во многом определяется рационом питания. “Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации” определяют потребление селена для мужчин и женщин в возрасте от 18 лет и старше в 70 и 55 мкг/сут соответственно. Однако, как правило, обычный пищевой рацион человека не может обеспечить необходимую суточную потребность в этом микроэлементе. Поэтому дефицит селена испытывает довольно большой процент населения земного шара, в том числе около 80% жителей России (Тутельян и др., 2002; Drytel et al., 2013).

Отрицательное воздействие дефицита селена на организм человека объясняется большим числом разнообразных функций, которые он выполняет в клетке. В первую очередь они связаны с функционированием селенсодержащих белков: оксидоредуктаз (дейодиназ), глутатионпероксидаз, тиоредоксинредуктаз и селенопротеинов, роль и значение которых чрезвычайно многообразны, хотя до сих пор до конца не известны (табл. 1).

Одна из наиболее важных функций селена связана с его канцеропротекторным действием, заключающимся в том, что система тиоредоксинредуктаз способствует индукции белка p53 (опухолевого супрессора) и запуску репарации ДНК (или активации апоптоза при необратимых нарушениях). При дефиците селена существенно снижается уровень метилирования ДНК, как за счет изменения доступности метильных доноров, так и за счет модулирования активности ДНК-метилтрансфераз, и вследствие этого повышается риск повреждения клеток (Свиридова и др., 2012). Кроме подавления экспрессии онкогенов, селен усиливает активность противоопухолевых клонов НК, стимулирует синтез ИЛ-1, ИЛ-2, ингибирует протеинкиназу С и обладает токсическим воздействием на клетки опухоли на разных стадиях развития патологического процесса (Schrauzer, 2000). Протеинкиназа С имеет структурную основу для

взаимодействия с селеном: редокс-активные селеносоединения могут инактивировать фермент, особенно Ca^{2+} -зависимые изоформы, реагируя с богатыми цистеином областями, присутствующими в каталитическом домене, а в некоторых случаях – с остатками цистеина в доменах под названием “цинковые пальцы”. Однако подробное изучение роли селена в канцерогенезе все еще находится на начальных этапах и требует проведения дополнительных экспериментальных исследований.

Рядом автором отмечалось, что в регионах с избыточным поступлением селена в организм человека наблюдается более низкая заболеваемость раком легких, прямой кишки, шейки матки и молочной железы, чем в регионах, где наблюдается дефицит этого элемента (Голубкина и др., 2002). В репрезентативной выборке из 13887 человек была обнаружена обратная зависимость между уровнем селена в сыворотке крови и смертностью от рака при концентрациях микроэлемента менее 130 нг/мл (Bleys et al., 2008). Очень показательны результаты внедрения государственной программы по коррекции дефицита микроэлементов и прежде всего – селенодефицита, проводимой в Финляндии, благодаря которой общая смертность от онкологических заболеваний снизилась почти в 2 раза.

Необходимо отметить важную роль селена в регуляции функций иммунной системы, обеспечении клеточного и гуморального иммунитета, модуляции фагоцитарной функции полиморфноядерных лейкоцитов (Koller, Exon, 1986). Кроме того, селен потенцирует выработку иммуноглобулинов (IgG, IgM), повышает активность Т-клеток и макрофагов (McKenzie et al., 2002). Как неспецифический иммуномодулятор селен оказывает положительный эффект при бронхиальной астме, атопических дерматитах, отдельных инфекционных заболеваниях (Кохан и др., 2009; Shaw et al., 1994). При этом его иммуностропное действие усиливается при сочетании с цинком, витаминами А, Е и С. Селен также незаменим для нормального функционирования щитовидной железы: он принимает активное участие как в метаболизме тиреоидных гормонов, так и в антиоксидантной защите (Шабалина и др., 2010; Drutel et al., 2013). Проведенные исследования продемонстрировали положительное влияние селена на течение хронического гастродуоденита, хронического и неспецифического язвенного колита, хронических гепатитов.

Недостаток поступления селена в организм человека вызывает одну из разновидностей гипомикроэлементозов, называемую гипоселенозом. Гипоселенозы наиболее вероятно развиваются у жителей, проживающих в районах с выраженным недостатком селена в почвах и продуктах пита-

Таблица 1. Селеносодержащие белки и их функции (по: Трошина и др., 2018; Ibrahim et al, 2019)

Белок	Символ	Uniport	Функция
Глутатионпероксидаза 1	GPX1	P07203	Участвует в детоксикации избытка перекиси водорода, обеспечивая сохранение про-антиоксидантного равновесия в клетке
Глутатионпероксидаза 2	GPX2	P18283	Участвует в апоптозе и клеточной пролиферации. Уменьшает перекисидацию в кишечнике
Глутатионпероксидаза 3	GPX3	P22352	Уменьшает перекисидацию в крови. Участвует в защите сердечно-сосудистой системы, возможно, посредством регуляции уровня оксида азота
Глутатионпероксидаза 4	GPX4	P36969	Участвует в антиоксидантной защите клеточных мембран. Вовлечена в процесс апоптоза, ингибирования липоксигеназ. Необходима для нормального функционирования сперматозоидов
Глутатионпероксидаза 5	GPX5	O075715	Предположительно выполняет резервную функцию для других глутатионпероксидаз в сперме
Глутатионпероксидаза 6	GPX6	P59796	Функция неизвестна. Предположительно участвует в обонянии
Глутатионпероксидаза 7	GPX7	Q96SL4	Выполняет протекторную роль при раке молочной железы
Йодтирониндейодиназа 1	DIO1	P49895	Катализирует конверсию тироксина в трийодтиронин преимущественно в щитовидной железе
Йодтирониндейодиназа 2	DIO2	Q92813	Катализирует конверсию тироксина в трийодтиронин преимущественно вне щитовидной железы (в сердце, центральной нервной системе, гипофизе, скелетной мускулатуре, бурой жировой ткани и плаценте)
Йодтирониндейодиназа 3	DIO3	P55073	Инактивирует тиреоидные гормоны: конверсия тироксина в реверсивный трийодтиронин и трийодтиронина в дийодтиронин
Тиоредоксинредуктаза 1	TXNRD1	Q16881	Уменьшает уровень цитозольного тиоредоксина, участвуя в регулировании некоторых факторов транскрипции (NF-κB, Ref-1, P53) и экспрессии генов, репарации ДНК, клеточном сигналинге, апоптозе и клеточной пролиферации. Участвует в антиоксидантных процессах
Тиоредоксинредуктаза 2	TXNRD2	Q9NNW7	Уменьшает уровень митохондриального тиоредоксина
Тиоредоксин-глутатионредуктаза	TXNRD3	Q86VQ6	Уменьшает уровень тиоредоксина. Участвует в восстановлении глутатиона
Селенопротеин F	SELENOF	O60613	Возможно, участвует в фолдинге белка
Селенопротеин H	SELENOH	Q81ZQ5	Возможно, участвует в транскрипции некоторых белков. Участвует в антиоксидантной защите клеток
Селенопротеин I	SELENOI	Q9C0D9	Возможно, участвует в биосинтезе фосфолипидов

Таблица 1. Окончание

Белок	Символ	Uniport	Функция
Селенопротеин К	SELENOK	Q9Y6D0	Участвует в кальциевом гомеостазе в иммунных клетках. Выступает как антиоксидант преимущественно в кардиомиоцитах
Селенопротеин М	SELENOM	Q8WWX9	Возможно, участвует в фолдинге белка. Необходим для работы головного мозга. Низкий уровень белка определяется при болезни Альцгеймера
Селенопротеин N	SELENON	Q9NZV5	Участвует в функционировании мышечной ткани
Селенопротеин O	SELENOO	Q9BVL4	Возможно, участвует в регуляции окислительных процессов
Селенопротеин P	SELENOP	P49908	Основное внеклеточное депо селена. Секретируется в плазму из печени и осуществляет транспорт селена к тканям, особенно мозга и яичка. В фагоцитах и в сосудистой эндотелии выступает в качестве антиоксиданта. Участвует в инактивации тяжелых металлов. Блокирование синтеза этого белка приводит к неврологическим проблемам и мужскому бесплодию
Селенопротеин R	SELENOR	P49908	Участвует в восстановлении протеинов, поврежденных в окислительных процессах
Селенопротеин S	SELENOS	Q9BQE4	Трансмембранный белок обнаружен в плазматической мембране и эндоплазматическом ретикулуме. Уменьшает окислительный стресс и регулирует внутриклеточное окислительно-восстановительное равновесие
Селенопротеин T	SELENOT	P62341	Участвует в мобилизации кальция
Селенопротеин V	SELENOV	P59797	Потенциально участвует в мужской репродукции
Селенопротеин W	SELENOW	P63302	Выступает как антиоксидант. Возможно, необходим для мышечного роста. Изучается его влияние на развитие онкологической патологии
Селенофосфатсинтаза 2	SEPHS2	Q99611	Участвует в синтезе всех селенопротеинов

ния. В частности, они были описаны у людей и животных, населяющих территорию Китая, Египта, Тайланда (Tariero et al., 2003), а также в Центральной и Восточной Сибири (Тутельян и др., 2002). Симптоматика заболеваний, вызванных недостаточным поступлением микроэлемента в организм человека, в высокой степени разнообразна. В частности, дефицит селена ускоряет развитие атеросклероза, ишемической болезни сердца, повышает вероятность развития инфаркта миокарда и инсультов, сердечной недостаточности и аритмий. У больных с острым коронарным синдромом описано снижение содержания селена в сыворотке крови (среднее значение —

61.6 ± 1.6 мкг/л), что меньше среднего уровня этого микроэлемента у здоровых лиц (82.5 ± 1.8 мкг/л) и почти в 2 раза ниже оптимального уровня (Пятницкая и др., 2012). Определено значительное снижение уровня селена в крови больных с острым крупноочаговым и трансмуральным инфарктом миокарда, а снижение показателей элемента в плазме, по мнению авторов, может свидетельствовать о тяжести патологического процесса в миокарде и указывает на продолжающийся процесс активации свободнорадикальных реакций (Чаяло и др., 1992). Низкая концентрация селена ассоциируется и с будущей сердечно-сосудистой смертностью у пациентов с острым коронарным

синдромом: у умерших от сердечных причин уровень селена был ниже по сравнению с выжившими (61.0 мкг/л против 71.5 мкг/л; $p < 0.0001$) (Lubos et al., 2010). Дефицит селена у пациентов с сердечной недостаточностью связан со снижением устойчивости к физической нагрузке и повышением смертности на 50%, а также с нарушением функции митохондрий *in vitro* в кардиомиоцитах человека, что отчасти связано с нарушениями переноса электронов по дыхательной цепи. В результате тормозится синтез АТФ, увеличивается продукция активных форм кислорода, развивается внутриклеточное окислительное повреждение (Bomer et al., 2020). Результаты исследований, проводившихся в регионах с низким потреблением селена, свидетельствуют о высоком риске сердечно-сосудистых заболеваний, особенно в случае сочетания дефицитов этого микроэлемента и витамина Е (Gavat, Voronius, 1999).

Умеренный дефицит селена увеличивает риск развития нефропатии, неврологических заболеваний, бесплодия у мужчин (Rayman, 2012), холестаза беременных, дисфункции щитовидной железы и гестационного диабета (Mistry et al., 2012). Тан с соавт. (Tan et al., 2001) показали, что среднее значение уровня сывороточного селена у женщин с нормально протекающей беременностью было 0.0741 ± 0.0167 мг/л, тогда как с нарушенной толерантностью к глюкозе — 0.0631 ± 0.0132 мг/л, с гестационным сахарным диабетом — 0.0635 ± 0.0120 и 0.108 ± 0.0170 мг/л у женщин фертильного возраста. Уровень селена в сыворотке крови был с большей степенью достоверности ниже у беременных с нарушенной толерантностью к глюкозе и с гестационным сахарным диабетом, чем у женщин с нормально протекающей беременностью.

Как показывают исследования, недостаток селена во время беременности может вызывать окислительный стресс, приводящий к выкидышам, преэклампсии, преждевременным родам (Mistry et al., 2012). Кроме того, дефицит селена способствует задержке внутриутробного развития плода и оказывает неблагоприятное воздействие на формирование его нервной системы. Так, у беременных женщин с диагностированным дефектом нервной трубки плода имели место достоверно более низкие уровни селена в сыворотке крови по сравнению с женщинами контрольной группы с документированным нормальным исходом у плода: 55.16 ± 11.3 мкг/л против 77.4 ± 5.5 мкг/л; $p < 0.001$ (Cengiz et al., 2004).

К состояниям, связанным с тяжелым дефицитом селена, относят болезни Кешана и Кашина–Бека. Болезнь Кешана — это ювенильная кардиомиопатия, встречающаяся в основном у детей от 2 до 10 лет и у молодых женщин репродуктивного возраста. Для нее характерны: увеличение размеров сердца с фокальными некрозами миокарда,

развитие сердечной недостаточности, аритмий и тромбоэмболических осложнений. Болезнь Кашина–Бека проявляется поражением суставов, укорочением пальцев и конечностей, нарушением роста вследствие окислительного повреждения гиалинового хряща с его дегенерацией, атрофией и некрозом. Это заболевание чаще всего поражает детей в возрасте от 5 до 13 лет. В качестве важной этиологической причины рассматривается сопутствующий дефицит йода в организме и воздействие ряда токсикантов (Yao et al., 2011a).

В настоящее время доказано, что отрицательное действие дефицита селена на организм человека во многом связано с уменьшением активности селенопротеинов и, как следствие, нарушением биохимических процессов, в которых они участвуют (Pedrero, Madrid, 2009; Ruseva et al., 2013).

Таким образом, селен — это незаменимый для человека микроэлемент, принимающий участие в важнейших физиологических процессах в организме, поэтому его дефицит является причиной развития широкого спектра патологий, среди которых заболевания, занимающие ведущие позиции в структуре смертности населения развитых стран. Эссенциальность селена, крайняя неравномерность распределения его в различных регионах, отсутствие систематизированных данных о содержании селена в продукции растительного и животного происхождения, недостаток сведений о распределении селена в пищевых цепях, конечным звеном которых является человек, вызывают большой интерес с точки зрения профилактики и коррекции дефицита селена в организме человека.

ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ УСТРАНЕНИЯ ДЕФИЦИТА СЕЛЕНА

Среди возможных путей решения проблемы устранения дефицита селена в организме человека следует назвать: расширение ассортимента продуктов питания, обогащение готовых пищевых продуктов микроэлементами, использование биологически активных добавок, а также повышение его содержания в сельскохозяйственных растениях путем внесения в почву селеносодержащих удобрений или использования методов биофортификации.

В настоящее время именно биофортификации (обогащения) сельскохозяйственных растений селеном, как наиболее перспективной технологии, уделяется повышенное внимание. Как известно, цель биофортификации — улучшение поглощения и накопления элементов минерального питания в органах растений, используемых в пищу, путем селекции растений и генной инженерии, а также агрономическими методами (Wu et al., 2015). В случае селена можно указать и дру-

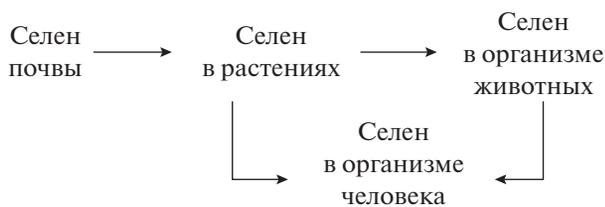


Рис. 2. Пищевая цепь переноса селена.

гие преимущества биофортификации, в частности, снижение уровня нитратов, повышение содержания природных антиоксидантов, увеличение устойчивости растений к различного рода стрессовым воздействиям.

На настоящий момент в промышленном масштабе выпускаются обогащенные селеном чеснок (США), томаты (Великобритания) и чай (Китай). В Финляндии для выращивания злаков применяются комплексные удобрения, обогащенные селенатом натрия (Ekholm et al., 2007). В качестве одной из стратегий биофортификации селеном предлагается использование микроорганизмов, в частности бактерий, обеспечивающих лучшее поглощение растениями целого ряда микроэлементов, в том числе селена (Durán et al., 2015). В России разработана технология получения обогащенного селеном стручкового перца. Доказана эффективность некорневой обработки селеном пшеницы, при которой его поступление происходит по безбарьерному типу (Кашин, Шубина, 2011).

Генная инженерия – еще одна стратегия для получения биообогащенных селеном пищевых продуктов, которая обычно направлена на усиление активности ферментов, участвующих в поглощении и ассимиляции селена. Возможность биофортификации селена с помощью методов генной инженерии была проверена на нескольких видах сельскохозяйственных культур, в том числе мягкой (Govasmark, Salbu, 2011) и твердой (Poblaciones et al., 2014) пшенице, рисе (Premarathna et al., 2012), чечевице (Rahman et al., 2013).

Вместе с тем увеличение содержания селена в органах растений как путем внесения селеносодержащих удобрений, так и за счет применения технологий биофортификации, не должно приводить к чрезмерному повышению его концентрации, поскольку высокие концентрации этого элемента токсичны как для растений (30 мг/кг сухой массы и более), так и для животных и человека (5 мг/день) (Finley, 2005; Cabata-Pendias, 2010).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре предпринята попытка обобщить имеющиеся в литературе данные, каса-

ющиеся главным образом биологических последствий, связанных с дефицитом селена в почве, растениях, в организме животных и человека. О важной роли селена для человека начали говорить еще с 1960-х гг., когда впервые установили его роль в ответе клеток на окислительный стресс и в поддержании окислительно-восстановительного баланса клеток. До этого селен рассматривали только с точки зрения его токсичности для живых организмов. К настоящему времени важность селена для человека доказана многочисленными исследованиями и не подвергается сомнению. Помимо антиоксидантной роли, во многом это объясняется его участием в функционировании большого числа (порядка 30) белков, необходимых для регуляции клеточного роста и апоптоза, метаболизма ряда гормонов, в том числе гормонов щитовидной железы. Поэтому дефицит этого микроэлемента отрицательно сказывается на целом ряде метаболических процессов в организме человека и служит причиной развития широкого спектра патологических состояний и заболеваний. Особую значимость имеют исследования, направленные на изучение антиканцерогенного действия селена.

Недостаток селена в организме человека во многом связан с ограниченным поступлением его с пищей (рис. 2). Поскольку именно растительная пища является основным поставщиком селена для человека и животных, изучение поступления этого химического элемента в растения из почвы и накопления в органах, его роли для жизнедеятельности растений, а также влияние низких концентраций селена на физиологические процессы и продуктивность сельскохозяйственных культур являются в настоящее время особенно актуальными. Отметим, что хотя селен не считается необходимым микроэлементом для растений, многие исследования убедительно доказывают стимулирующий эффект обработки растений (или семян) этим элементом в низких концентрациях на продуктивность. Однако механизмы положительного воздействия селена на растения до сих пор остаются почти не изученными. Практически нет данных и о воздействии дефицита этого микроэлемента на жизнедеятельность растений. Вместе с тем такого рода данные чрезвычайно важны, и в первую очередь для выработки мероприятий по коррекции селенового статуса населения. Поэтому особую актуальность приобретают исследования, направленные на поиск возможных путей обогащения растений селеном (с помощью внесения селеносодержащих удобрений или использования методов биофортификации и генной инженерии), а также организация перевозок продуктов растительного происхождения из регионов с высоким содержанием селена в почвах в регионы с его низким содержанием.

Что касается животных и человека, то по-прежнему крайне важны исследования, направленные на изучение биохимических и молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе различных патологических состояний и заболеваний, вызванных дефицитом селена. Эти знания необходимы не только для решения вопроса о повышении продуктивности сельскохозяйственных животных, но и, что особенно важно, для разработки новых методов, направленных на улучшение здоровья человека.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках проекта Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 18-013-00311 и государственного задания КарНЦ РАН (№ 0218-2019-0074).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991. 496 с.
- Аристархов А.Н., Бусыгин А.С., Яковлева Т.А. Дефицит селена в почвах и растениях северо-восточного Нечерноземья как индикатор необходимости применения селеновых удобрений // Междунар. сельскохозяйств. журн. 2018. № 1 (361). С. 31–36.
- Бабенко Г.А. Микроэлементозы человека: патогенез, профилактика, лечение // Микроэлементы в медицине. 2001. Т. 2. Вып. 1. С. 2–5.
- Блинохватов А.Ф., Денисова Г.В., Ильин Д.Ю. и др. Селен в биосфере. Пенза: РИО ПГСХА, 2001. 324 с.
- Болотников И.Ю. Экологические факторы и показатели здоровья детского населения Астраханской области // Мат. 6-й междунар. биогеохим. школы. Астрахань, 22–25 сентября 2008 г. С. 105.
- Вихрева В.А. Влияние селена на рост, развитие и адаптивный потенциал козлятника восточного (*Galega orientalis*): Дис. ... канд. биол. наук. Пенза: Пенз. ГПУ, 2001. 154 с.
- Вихрева В.А., Лебедева Т.Б. Содержание селена в почвах и растениях лесостепи Среднего Поволжья // Молодой ученый. 2010. Т. 2. № 11. С. 195–198.
- Вихрева В.А. Эколого-агрохимические аспекты применения селена под зерновые культуры и козлятник на черноземах лесостепи Среднего Поволжья: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Владимир: ВлГУ, 2011. 53 с.
- Вихрева В.А., Блинохватов А.А., Клейменова Т.В. Селен в жизни растений. Пенза: РИО ПГСХА, 2012. 222 с.
- Голубкина Н.А., Папазян Т.Т. Селен в питании. Растения, животные, человек. М.: Печатный город, 2006. 269 с.
- Голубкина Н.А., Скальный А.В., Соколов Я.А., Щелкунов Л.Ф. Селен в медицине и экологии. М.: КМК, 2002. 135 с.
- Голубкина Н.А., Капитальчук И.П., Капитальчук М.В. Селен в почвах на разных высотных уровнях рельефа Днестровско-Прутского междуречья // Вестн. МГОУ. Сер. Естест. науки. Раздел III: География. 2012. № 1. С. 98–101.
- Голубкина Н.А., Синдирева А.В., Зайцев В.Ф. Внутрорегиональная вариабельность селенового статуса населения // Юг России: экология, развитие. 2017. Т. 12. № 1. С. 107–127.
- Ермаков В.В., Ковальский В.В. Биологическое значение селена. М.: Наука, 1974. 298 с.
- Зайцев С.Ю., Конопатов Ю.В. Биохимия животных. Фундаментальные и клинические аспекты. СПб.: Лань, 2004. 384 с.
- Иванов В.В. Экологическая геохимия элементов. Кн. 3: Редкие р-элементы. М.: Недра, 1996. 352 с.
- Кармолиев Р.Х. Свободнорадикальная патология в этиопатогенезе болезней животных // Ветеринария. 2005. № 4. С. 42–47.
- Касумов С.Н. Биологическое значение селена для жвачных животных. М.: ВНИИТЭИСХ, 1979. 49 с.
- Кашин В.К., Шубина О.И. Биологическое действие и накопление селена в пшенице в условиях селенодефицитной биогеохимической провинции // Химия в интересах устойчивого развития. 2011. № 19. С. 151–156.
- Кохан С.Т., Намоконов Е.В., Захарова О.А. и др. Влияние изменения селенового статуса на показатели цитокинов у больных с внебольничными пневмониями // Сиб. мед. журн. 2009. № 8. С. 30–32.
- Кулагина Ю.М., Головацкая И.Ф. Влияние селенита натрия на рост и развитие растений пшеницы в зависимости от способа обработки // Вестн. ТГУ. Биология. 2011. № 2 (14). С. 56–64.
- Прудников П.С. Влияние селена на физиолого-биохимические процессы при адаптации растений картофеля к гипотермии: Дис. ... канд. биол. наук. М.: МСХА, 2007. 146 с.
- Пятницкая С.В., Рудь С.С., Ковальский Ю.Г. и др. Содержание селена и состояние свободнорадикального окисления в сыворотке крови у больных с острым коронарным синдромом без стойкого подъема сегмента ST // Дальневост. мед. журн. 2012. № 2. С. 18–21.
- Свиридова С.П., Кашия Ш.Р., Обухова О.А., Чучуев Е.С. Возможности эссенциального селена в онкологии // Вестн. РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2012. Т. 23. № 3. С. 8–9.
- Сергина И.И. Влияние селена на продуктивность яровой пшеницы в зависимости от азотного питания и водообеспечения // Плодородие. 2007. № 5. С. 15–17.

- Серегина И.И., Ниловская Н.Т.* Биологическая роль селена в растениях // *Агрохимия*. 2002. № 10. С. 76–85.
- Сидельникова В.Д.* Геохимия селена в биосфере // *Проблемы биогеохимии и геохимической экологии*. М.: Наука, 1999. Т. 23. С. 81–99.
- Степанов Ю.М., Белицкий В.В., Косинская С.В.* Селен как микроэлемент: характеристика и значение для человека // *Сучасна гастроентерологія*. 2012. № 3 (65). С. 91–96.
- Трошина Е.А., Сеньюшкина Е.С., Терехова М.А.* Роль селена в патогенезе заболеваний щитовидной железы // *Клин. эксперим. тиреоидол.* 2018. Т. 14. № 4. С. 192–205.
- Тутельян В.А., Княжев В.А., Хотимченко С.А. и др.* Селен в организме человека: метаболизм, антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе. М.: РАМН, 2002. 224 с.
- Усольцева И.И., Гатаулина Л.Р., Гасанов А.С., Зиятдинов Р.Н.* Беломышечная болезнь поросят, лечение и профилактика // *Уч. записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана*. 2010. № 5. Т. 204. С. 293–296.
- Чаяло П.П., Соловьев А.В., Ена Я.М. и др.* Содержание церулоплазмينا, фибронектина и селена в крови больных острым инфарктом миокарда // *Врачебное дело*. 1992. Т. 996. № 3. С. 15–17.
- Шабалина Е.А., Моргунова Т.Б., Орлова С.В., Фадеев В.В.* Селен и щитовидная железа // *Клин. эксперим. тиреоидол.* 2010. Т. 7. № 2. С. 7–18.
- Шеуджен А.Х., Лебедевский И.А., Бондарева Т.Н.* Биогеохимия и агрохимия селена [Эл. ресурс] // *КубГАУ*. 2013. № 92 (08). С. 781–798.
- Шеуджен А.Х., Аканова Н.И., Хурум Х.Д. и др.* Селен в черноземе выщелоченном [Эл. ресурс] // *КубГАУ*. 2018. № 138. С. 160–170.
- Aréchiga C.F., Vázquez-Flores S., Ortiz O. et al.* Effect of injection of β -carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows // *Theriogenology*. 1998. V. 50. P. 65–76.
- Bianco A.C., Salvatore D., Gereben B. et al.* Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronineselenodeiodinases // *Endocr. Rev.* 2002. V. 23 (1). P. 38–89.
- Bleys J., Navas-Acien A., Guallar E.* Serum selenium levels and all-cause, cancer, and cardiovascular mortality among US adult // *Arch. Int. Med.* 2008. V. 168 (4). P. 404–410.
- Bomer N., Beverborg N.G., Hoes M.F. et al.* Selenium and outcome in heart failure // *Eur. J. Heart Fail.* V. 2020. № 22 (8). P. 1415–1423.
- Byrne S.L., Durandea K., Nagy I., Barth S.* Identification of ABC transporters from *Lolium perenne* L. that are regulated by toxic levels of selenium // *Planta*. 2010. V. 231. № 4. P. 901–911.
<https://doi.org/10.1007/s00425-009-1096-y>
- Byun B.J., Kang Y.K.* Conformational preferences and pKa value of selenocysteine residue // *Biopolymer*. 2011. V. 95. № 5. P. 345–353.
<https://doi.org/10.1002/bip.21581>
- Cabata-Pendias A.* Trace elements in soils and plant. FL: CrcPress, 2010. 548 p.
- Cardona Á.J., Reza L.G.* Esteatosis en un burro (*Equus asinus*). Primer reporte en Colombia // *Rev. MVZ Córdoba*. 2011. V. 16. P. 2793–2798.
- Drutel A., Archambeaud F., Caron P.* Selenium and the thyroid gland: more good news for clinicians // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2013. V. 7. № 2. P. 155–164.
- Durán P., Acuña J.J., Gianfreda L. et al.* Endophytic selenobacteria as new inocula for selenium biofortification // *Appl. Soil. Ecol.* 2015. V. 96. P. 319–326.
- Duntas L.H., Benvenega S.* Selenium: an element for life // *Endocrine*. 2015. V. 48. № 3. P. 756–775.
- Ekholm P., Reinivuo H., Mattila P. et al.* Changes in the mineral and trace element contents of cereal, fruits and vegetables in Finland // *J. Food Comp. Anal.* 2007. V. 20. P. 487–495.
- Ermakov V.V.* Problems of extremal geochemical ecology and biogeochemical study of the biosphere // *Biogeochem. Geochem. Ecol. (NPC TMG MZ RF, Moscow)*. 2001. P. 98–144.
- Fajt Z., Svoboda M., Drábek J., Dubanský V.* Selen a jeho význam pro zdravotní stav prasat – review // *Veterinářství*. 2009. V. 59. P. 221–224.
- Finley J.W.* Selenium accumulation in plant foods // *Nutr. Rev.* 2005. V. 63 (6). P. 196–202.
- Finch J.M., Turner R.J.* Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals // *Res. Vet. Sci.* 1996. V. 60. P. 97–106.
- Feng R., Wei C., Tu S.* The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses // *Environ. Exp. Bot.* 2013. V. 87. P. 58–68.
- Gavati V., Voroniuc O.* Oxidative stress and antioxidants in the diet in pathological processes at the level of the cardiovascular system // *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi*. 1999. V. 103. № 1–2. P. 37–41.
- Govasmark E., Salbu B.* Translocation and re-translocation of selenium taken up from nutrient solution during vegetative growth in spring wheat // *J. Sci. Food Agric.* 2011. V. 91. P. 1367–1372.
- Holovská K.Jr., Holovská K., Boldžárová K. et al.* Antioxidant enzyme activities in liver tissue of chickens fed diets supplemented with various forms and amounts of selenium // *J. Anim. Feed Sci.* 2003. V. 12. P. 143–152.
- Ibrahim S.A.Z., Kerkadi A., Agouni A.* Selenium and health: an update on the situation in the Middle East and North Africa // *Nutrients*. V. 11 (7). P. 1457.
- Kamada H., Nonaka I., Takenouchi N., Amari M.* Effects of selenium supplementation on plasma progesterone concentrations in pregnant heifers // *Anim. Sci. J.* 2014. V. 85. P. 241–246.
- Koller L.D., Exon J.H.* The two faces of selenium – deficiency and toxicity – are similar in animals and man // *Can. J. Vet. Res.* 1986. V. 50. P. 297–306.
- Levander O.A.* Scientific rationale for the 1989 recommended dietary allowance for selenium // *J. Am. Diet. Assoc.* 1991. V. 91 (12). P. 1572–1576.
- Li H.-F., McGrath S.P., Zhao F.-J.* Uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite // *New Phytologist*. 2008. V. 178. P. 92–102.
- Lubos E., Sinning C.R., Schnabel R.B. et al.* Serum selenium and prognosis in cardiovascular disease: results from

- the AtheroGene study // *Atherosclerosis*. 2010. V. 209 (1). P. 271–277.
- McKenzie R.C., Arthur J.R., Miller S.M. et al. Selenium and the immune system // *Nutrition and immune function*. UK, Wallingford: CABI Publishing, 2002. P. 239–250.
- Mangiapane E., Pessione A., Pessione E. Selenium and selenoproteins: an overview on different biological systems // *Curr. Protein. Pept. Sci.* 2014. V. 15. P. 598–607.
- Misra S., Boylan M., Selvam A. et al. Redox-active selenium compounds – from toxicity and cell death to cancer treatment // *Nutrition*. 2015. V. 7. P. 3536–3556.
- Mistry H.D., Pipkin F.B., Redman C.W., Poston L. Selenium in reproductive health // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012. V. 206. № 1. P. 21–30.
- Pedrero Z., Madrid Y. Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: a review // *Anal. Chim. Acta.* 2009. V. 634. № 2. P. 135–152.
- Poblaciones M.J., Rodrigo S., Santamaría O. et al. Agronomic selenium biofortification in *Triticum durum* under Mediterranean conditions: from grain to cooked pasta // *Food Chem.* 2014. V. 146. P. 378–384.
- Preda C., Vasiliu I., Mihalache L. et al. Selenium – essential antioxidant element. The example of autoimmune thyroiditis // *Rev. Chim.* 2017. V. 68 (7). P. 1617–1621.
- Radostits O.M., Arundel J.H., Gay C.C. et al. *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 9th ed. London, UK: WB Saunders Company Ltd., 2000. 1877 p.
- Premarathna L., McLaughlin M.J., Kirb J.K. et al. Selenate-enriched urea granules are a highly effective fertilizer for selenium biofortification of paddy rice grain // *J. Agric. Food Chem.* 2012. V. 60. P. 6037–6044.
- Rahman M.M., Erskine W., Zaman M.S. et al. Selenium biofortification in lentil (*Lens culinaris* Medikus subsp. *culinaris*): farmers, field survey and genotype × environment effect // *Food Res. Int.* 2013. V. 54. P. 1596–1604.
- Rayman M.P. Selenium and human health // *Lancet*. 2012. V. 397 (9822). P. 1256–1268.
- Ruseva B., Himcheva I., Nankova D. Importance of selenoproteins for the function of the thyroid gland // *Medicine*. 2013. № 3. P. 60–64.
- Schrauzer G.N. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity // *J. Nutr.* 2000. V. 130. P. 1653–1656.
- Shaw R., Woodman K., Crane J. et al. Risk factors for asthma symptoms in Kawerau children // *N Z Med. J.* 1994. № 12. V. 107 (987). P. 387–391.
- Sordillo L.M. Selenium-dependent regulation of oxidative stress and immunity in periparturient dairy cattle // *Vet. Med. Int. Article ID 154045*. 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/154045>
- Stadlober M., Sager M., Irgolic K.J. Effects of selenate supplemented fertilisation on the selenium level of cereals – identification and quantification of selenium compounds by HPLC-ICP-MS // *Food Chem.* 2001. V. 73. P. 357–366.
- Streeter R.M., Divers T.J., Mittel L. et al. Selenium deficiency associations with gender, breed, serum vitamin E and creatine kinase, clinical signs and diagnoses in horses of different age groups: a retrospective examination 1996–2011 // *Equine Vet. J. Suppl.* 2012. V. 44. P. 31–35.
- Stec A., Mochon J., Kurek L. et al. The influence of different factors on selenium levels in dairy cow herds in the Central-Eastern region of Poland // *Pol. J. Vet. Sci.* 2005. № 8. P. 225–229.
- Tan M., Sheng L., Qian Y. et al. Changes of serum selenium in pregnant women with gestational diabetes mellitus // *Biol. Trace Elem. Res.* 2001. V. 83 (3). P. 7231–7237.
- Tapiero H., Townsend D.M., Tew K.D. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds // *Biomed. Pharmacother.* 2003. № 57 (3–4). P. 134–144.
- Uematsu M., Kitahara G., Sameshima H., Osawa T. Serum selenium and liposoluble vitamins in Japanese Black cows that had stillborn calves // *Vet. Med. Sci. V.* 2016. № 78. P. 1501–1504.
- Underwood E.J., Suttle N.F. *Selenium in the mineral nutrition of livestock*. 3rd ed. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2004. P. 421–475.
- van Loon G., Lefère L., Bauwens C. et al. Yellow fat disease (steatitis): description of 20 cases with emphasis on typical ultrasonographic findings // *Equine Vet. J.* 2015. V. 47. Suppl. V. 48. P. 19. https://doi.org/10.1111/evj.12486_43
- van Hoewyk D. A tale of two toxicities: malformed selenoproteins and oxidative stress both contribute to selenium stress in plants // *Ann. Bot.* 2013. V. 112. P. 965–972.
- White P.J. Selenium accumulation by plants // *Ann. Bot.* 2016. V. 117. P. 217–235.
- Whanger P.D. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance // *J. Am. Coll. Nutr.* 2002. V. 21. P. 223–232. <https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719214>
- Wiesner-Reinhold M., Schreiner M., Baldermann S. et al. Mechanisms of selenium enrichment and measurement in brassicaceous vegetables, and their application to human health // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 1365. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01365>
- Wu Z., Bañuelos G.S., Lin Z.Q. et al. Biofortification and phytoremediation of selenium in China // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 136. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00136>
- Yang G., Yin S., Zhou R. et al. Studies of safe maximal daily dietary Se-intake in a seleniferous area in China. Part II: Relation between Se-intake and the manifestation of clinical signs and certain biochemical alterations in blood and urine // *J. Trace Elem. Electr. Health Dis.* 1989. № 3 (3). P. 123–130.
- Yao Y., Pei F., Kang P. Selenium, iodine, and the relation with Kashin–Beck disease // *Nutrition*. 2011a. V. 27. № 11–12. P. 1095–1100.
- Yao X., Chu J., He X., Ba C. Protective role of selenium in wheat seedlings subjected to enhanced UV-B radiation // *Russ. J. Plant Physiol.* 2011b. V. 58. P. 283–289.
- Żarczyńska K., Sobiech P., Radwińska J., Rękawek W. Effects of selenium on animal health // *J. Elementol.* 2013. V. 18. P. 329–340.
- Zayed A.M., Lytle C.M., Terry N. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants // *Planta*. 1998. V. 206. P. 284–292.
- Zeng H., Combs G.F.Jr. Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion // *J. Nutr. Biochem.* 2008. V. 19. P. 1–7.

The Role of Selenium in the Life of Plants, Animals and Human

A. F. Titov^a, N. M. Kaznina^{a,*}, T. A. Karapetyan^b, N. V. Dorshakova^b, and V. N. Tarasova^b

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

^b *Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia*

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

The current review of the literature presents the data about the selenium (Se) role in vital function of plants, animals and humans. The Se concentrations in different compositions soils and in soils of different regions of Russia were presented. Also the Se content in plants one of the main source of Se for human, discussed. Moreover in review demonstrated the positive effect of high Se concentration on yield quality of agricultural crops. The putative reasons of Se deficiency in plants are also described. The part of the review described the role of Se in vital function of animals. The presented data summarize information about proteins containing Se and their role in biological processes. The Se involvement in functioning of several enzymes and proteins were shown as well as a provided description of diseases caused by Se deficiency. Special focus was made on Se requirement for human health. Additionally, the Se functions in human, including its role as a cancer protector were described. Moreover, the potential solutions how to eliminate the Se deficiency at humans were presented. Along with this, in the review were pointed the questions about effect of Se on living organisms, that need further investigations.

Keywords: selenium, selenium deficiency, plants, animals, humans

УДК 612

КОВИД-19. КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОРАЖЕНИЯ МОЗГА

© 2021 г. О. А. Гомазков*

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

*e-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.04.2021 г.

После доработки 31.05.2021 г.

Принята к публикации 31.05.2021 г.

Наиболее распространенным клиническим проявлением COVID-19 служит двусторонняя пневмония – диффузное альвеолярное повреждение с выраженной микроангиопатией. Системная инфекция сопровождается увеличением циркулирующих в крови хемокинов и интерлейкинов, которые, проникая через гематоэнцефалический барьер, попадают в мозг. Клинические материалы свидетельствуют о поражениях головного мозга и периферической нервной системы, о нейродегенеративных и психических расстройствах. Вследствие нарушений системы церебрального эндотелия и изменений равновесия АПФ2 (ACE2) – сопряженных цитохимических процессов – развивается коагулопатия, ведущая к микротромбозам и закупорке сосудов. Обсуждается концепция “нейротропизма” SARS-CoV-2 как обоснование проникновения вируса в мозг. Инфекция может развиваться как аксональный транспорт через бульбарную зону в ольфакторную область коры мозга. Еще более распространен “гематогенный путь” вирусной трансфекции, который включает повреждения сосудистого эндотелия и нарушение защитной роли ГЭБ. Основная концепция, объясняющая механизм поражения мозга, относится к феномену нейровоспаления. Астроциты и микроглия рассматриваются как потенциальные мишени коронавируса SARS-CoV-2. Диссонанс биохимических процессов оси АПФ2/АПФ и изменения функций ангиотензиновых пептидов ведут к активации астроглии с развитием нейродеструктивных процессов при COVID-19.

Ключевые слова: пандемия COVID-19, цитокиновый стресс, гематоэнцефалический барьер, нейротропность коронавируса, ангиотензин-превращающий фермент 2, нейровоспаление, нейродегенеративная патология

DOI: 10.31857/S0042132421050033

ВВЕДЕНИЕ

Развитие событий, связанных с пандемией COVID-19, привело к масштабному анализу патогенеза заболевания – сложного комплекса негативных процессов. Вспышка инфекции вызвана вариантом коронавирусов группы SARS-CoV. Международный комитет по таксономии присвоил новому возбудителю официальное название SARS-CoV-2. Всемирная организация здравоохранения определила заболевание как пандемию COVID-19 (Coronavirus disease 2019).

Клинические исследования установили, что в качестве характерного проявления патогенеза COVID-19 диагностируется острое повреждение легких с инвертированной реакцией иммунных систем. Вызываемый исходно вирусной атакой цитокиновый шторм демонстрирует симптоматику провоспалительной этиологии с явлениями гемодинамической нестабильности, дисфункции многих органов тела, неврологического диссонанса.

ИСХОДНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ КОВИД-19. ОБЩИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

Принципиальным положением, которое определяет специфичность и масштабность инфекции COVID-19, оказывается совпадение химических структур, благодаря которому коронавирусы SARS-CoV-2 обладают исключительной способностью связываться с особым белком, обозначенным как “angiotensin-converting enzyme” (ACE2), или ангиотензин-превращающий фермент второго типа (АПФ2). Уровень связывания SARS-CoV-2 с АПФ2 в 10–20 раз выше, его аффинность предыдущего вирусного штамма – SARS-CoV. Новый вирус, благодаря особой структуре шипов, использует АПФ2 в качестве троянского коня для внедрения в клетку-хозяина (Tai et al., 2020). Это обстоятельство, с одной стороны, выделяет начальные этапы сложного заболевания, а с другой – определяет целевую направленность в разработке

специфических вакцин в качестве блокаторов вирусов и ограничения последствий.

Связывание с АПФ2 и перенос процесса в эндосому запускают репликацию вируса в клетках легочного альвеолярного эпителия и васкулярного эндотелия. За счет очень высокого патогенного аффинитета SARS-CoV-2 нарушает естественные реакции цитоиммунного и гемоваскулярного контроля. Поскольку АПФ2 экспрессируется во многих органах человека, альвеолярные эпителиальные клетки легких оказываются первичной мишенью коронавируса. Патохимический анализ установил также локализацию фермента АПФ2 у человека в эндотелии артериальных и венозных сосудов и в артериях гладких мышц практически всех органов. Молекулы АПФ2 были обнаружены в слизистой оболочке носа, рта, желудка, кишечника и др. как первая ступень вирусной инвазии (Hamming et al., 2004). Эта информация о распространении АПФ2 свидетельствует о высокой патогенности инфекции и разнообразных манифестациях заболевания COVID-19, включая тяжелую пневмонию, полиорганные и неврологические расстройства.

Характерной чертой патогенеза COVID-19 является цитокиновый шторм с повышенными уровнями интерлейкинов IL-6 и IL-1 β , фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), хемокинового лиганда 2 (CCL2), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF). Иммунологический дистресс, приводящий к синдрому цитокинового шторма и острому респираторному синдрому, является типичным для пациентов с COVID-19. Провоцирующие клеточное воспаление цитокины, включая TNF- α , IFN γ , IL-1, IL-6, IL-18 и др., секретируются в большом количестве, образуя поле стохастического диссонанса (Kempuraj et al., 2020).

Типичными клиническими проявлениями COVID-19 служит двусторонняя пневмония – с выраженной микроангиопатией. Гиперкоагуляционный синдром, который развивается у части больных, может поражать, помимо легких, сердце, мозг, почки и другие органы. Развитие васкулярной эндотелиальной дисфункции сопровождается внутриклеточной диффузией, коагулопатией и тромбозами (Tang et al., 2020).

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ КАК МИШЕНЬ СИСТЕМНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПРИ КОВИДЕ-19. КОНЦЕПЦИЯ ШТОРМ-2

Многообразие проявлений коронавирусной болезни позволяет говорить о комплексе диссонансов патохимических процессов в организме. Основной клеточной мишенью SARS-CoV-2 служит АПФ2, естественный фактор гемососудистой

регуляции. Коронавирус блокирует активность фермента, нарушая баланс цитоиммунного и гемоваскулярного контроля. В нормальных физиологических условиях эту регуляторную миссию осуществляет комплекс родственных белков – АПФ и АПФ2, контролирующих синтез и активность физиологически активных пептидов – ангиотензинов и брадикинина. Специфическая ацепция коронавирусом фермента АПФ2 ведет к диссонансу гемоваскулярного контроля и множественными нарушениями в системе гемостаза. В первых публикациях по АПФ2 этот белок уже рассматривается как первичное звено патологий, вызываемых вирусными штаммами SARS (Hamming et al., 2004; Kuba et al., 2005).

Второй аспект проблемы относится к роли эндотелия – клеток, выстилающих эндоваскулярную поверхность. Поскольку основным местом локализации ферментов АПФ и АПФ2, регулирующих систему гемоваскулярного гомеостаза, служит сосудистый эндотелий, его нарушение оказывается основным местом диссонанса. Нарушение ренин-ангиотензиновой ферментной оси за счет блокирования АПФ2 и усиления негативной активности АПФ ведет к реализации прооксидативных и провоспалительных процессов на плацдарме сосудистого эндотелия.

На этом основании, с учетом клинических материалов COVID-19, сформулирована концепция ШТОРМ-2. Сущность ее относится к манифестации множественных расстройств, когда вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2 клеточное воспаление перерастает в полиорганную дисфункцию (Гомазков, 2021). При остром течении заболевания зафиксированы проблемы в работе сердца, мозга, почек, эндокринной системы и др., выраженные как расстройства микрогемодинамики, коагулопатии, диссеминированных микротромбозов.

КОВИД-19 И ПОРАЖЕНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Сведения о неврологических осложнениях при COVID-19 свидетельствуют о поражениях головного мозга и периферической нервной системы, их локализации и сопутствующих психических расстройствах. Первые клинические публикации описывали неврологические эксцессы, выявляемые у одной трети больных, инфицированных вирусом SARS-CoV-2 (Mao et al., 2020). В течение 2020–2021 гг. число статей, посвященных неврологическим осложнениям при COVID-19, в журналах базы данных PubMed превысило две с половиной тысячи. Накапливается все больше доказательств, что SARS-CoV-2 является причиной нейроинвазии, распространяемой от периферии к мозгу (Li et al., 2020a,b).

В целом, показатели таких расстройств включали:

- поражения центральной нервной системы (ЦНС) – вестибулопатия, головная боль, изменение сознания, атаксия, судороги, нарушения мозгового кровообращения;
- поражения периферической нервной системы – обоняния, вкуса, зрения, болевые реакции;
- поражения скелетно-мышечной системы – болевые симптомы, дискомфорт двигательной активности;
- глубокие цереброваскулярные расстройства – ишемический инсульт, тромбозы венозного синуса мозга, кровоизлияния.

Структурные изменения в головном мозге подтверждены методами визуализации, которые демонстрировали морфофизиологические нарушения. По данным МРТ, через 2–4 недели после появления первичных симптомов у 60% больных выявлялись признаки острого ишемического инфаркта, тромбоза глубоких вен, множественных микрокровоизлияний и нарушений перфузии (Chougar et al., 2020). Были установлены подкорковые микрокровоизлияния, отечные неспецифические глубокие изменения белого вещества мозга (Coolen et al., 2020). Геморрагические поражения выявлялись в таламусе, медиальных височных долях и зрительных буграх (Rouiadji et al., 2020). Цитохимический анализ свидетельствовал о реактивном астроглиозе, появлении глиального фибриллярного кислого белка и наличии маркеров деструкции – белков легкой цепи нейрофиламентов и внутриаксональных повреждений (Kanberg et al., 2020).

Констатируется, что при поражении эндотелия и нарушении контроля тромбогенеза формируется патология мелких сосудов по типу воспалительной ангиопатии (васкулита). Развитие ишемии затрагивает в первую очередь мелкие перфорирующие сосуды, обеспечивающие кровоснабжение лимбических зон головного мозга (Соколова, Федин, 2020). Нейрогенное повреждение может быть вызвано мультифокальной церебральной ишемией или тромбогенезом при нарушении гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Изменения защитной роли ГЭБ включали отек, воспалительное повреждение эндотелия, системный васкулит и некроз клеток мозга.

Отмечается зависимость между тяжестью COVID-19 и частотой неврологических проявлений, которые включают нарушения мозгового кровообращения, острую некротизирующую энцефалопатию и синдром Гийена–Барре. Факторы, потенциально осложняющие при COVID-19 развитие неврологических патологий, включают артериальную гипертензию, сахарный диабет, хронические заболевания сердца и дыхательной системы. Особому вниманию подлежит контроль

прогрессирующих неврологических заболеваний на фоне нарушений церебрального кровообращения (Гусев и др., 2020). В отдаленном периоде отмечаются нейропсихиатрические расстройства – депрессии, психоз, галлюцинации и др. (Troyer et al., 2020; Szcześniak et al., 2021). Патологоанатомическое обследование пациентов с изменениями психического статуса выявило фрагменты вируса SARS-CoV-2 в нейронах лобных долей мозга (Paniz-Mondolfi et al., 2020).

На рис. 1 (Aghagoli et al., 2020) суммированы основные мишени поражения мозга при COVID-19.

- Цитокиновый шторм, вызванный первичным действием вируса SARS-CoV-2, нарушает защитную функцию ГЭБ, приводя к проникновению агентов в мозг.
- Вследствие нарушений в эндотелии и изменений равновесия биохимической оси ангиотензиновых пептидов (АПФ2/АПФ) развивается коагулопатия, ведущая к микротромбозам и закупорке сосудов.
- Комплекс этих процессов способствует поражению нейронов как следствие астроглиального клеточного нейровоспаления.

ПРОНИКНОВЕНИЕ ВИРУСА SARS-COV-2 В МОЗГ

Нейротропизм, как биологическое понятие, рассматривается в качестве общей черты вирусной патологии, о чем свидетельствует сравнительный анализ семейства коронавирусов SARS-CoV. Нейроинвазивные агенты напрямую повреждают структуры головного мозга и периферической нервной системы в результате измененных иммунных ответов хозяина (Desforges et al., 2014). Исследования предыдущего периода, выполненные в модельных экспериментах с различными штаммами SARS-CoV, показали возможность поражения нейронов, расположенных в центрах продолговатого мозга (Netland et al., 2008). Перенося эту информацию на нынешнюю ситуацию с COVID-19, Ли с соавт. полагают, что фатальные случаи заболевания, по-видимому, связаны с нейроинвазивной дисфункцией кардиореспираторного центра головного мозга (Li et al., 2020a,b).

Однако значительный объем клинической информации свидетельствует, что поражающий потенциал COVID-19 не обязательно ограничивается нейрореспираторными нарушениями. Важным элементом нейротропизма служит трансфекция патогенных агентов в мозг (Cardona et al., 2020). Дополнительным аргументом служит информация о широком распространении белка АПФ2 в клетках головного мозга – в стволе мозга, субфорникальной зоне, паравентрикулярном ядре, солитарном тракте, ростральной вентролатеральной области и др. По данным секвенирования

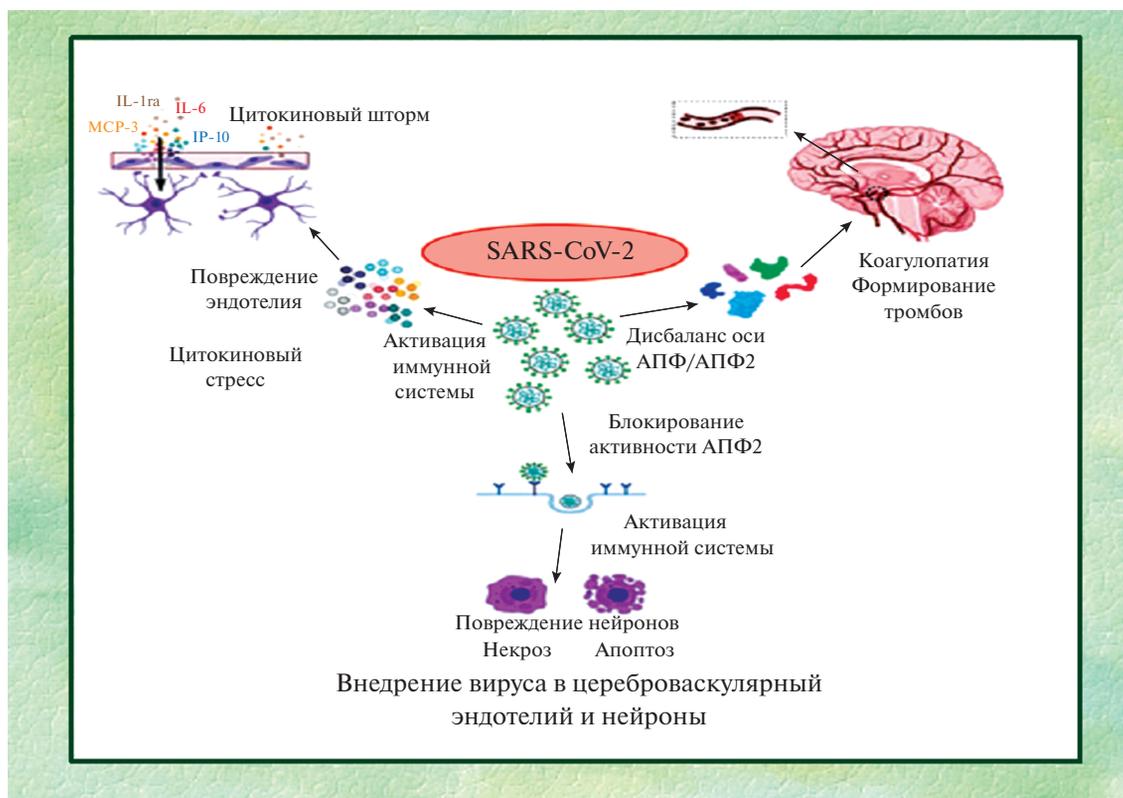


Рис. 1. Коронавирус SARS-CoV-2 – основные мишени и этапные механизмы поражения мозга (адаптировано по: Aghagoli et al., 2020).

РНК, белок АПФ2 экспрессируется также в коре мозга и в гиппокампе (Zeisel et al., 2015). По функциональным типам клеток, экспрессия АПФ2 (то есть мишень для связывания коронавируса) обнаружена как в возбуждающих, так и тормозных нейронах, а также в ненейронных клетках – астроцитах, олигодендроцитах (Chen et al., 2021).

Анализируя ситуацию с COVID-19, можно рассматривать различные варианты нейроинвазии структур головного мозга.

1. Инфекция через ольфакторную бульбарную зону (Mahalaxmi et al., 2021). Исследования МРТ выявили наличие вируса в эпителии носовых полостей и реснитчатых клетках пациентов на ранней фазе заболевания (Galougahi et al., 2020). Инфекция головного мозга может происходить как аксональный транспорт через обонятельный нерв, достигая ольфакторной области коры мозга и структуры височной доли (Bougakov et al., 2021). Из обонятельной луковицы SARS-CoV-2 за счет трансинаптического трафика проникает в таламус и ствол мозга. В дыхательном центре вирус вызывает респираторные нарушения в форме коллапса (Gandhi et al., 2020). Неврологические последствия инфекции SARS-CoV-2 можно объяснить выраженной центральной гипоксической

дисфункцией в условиях острого респираторного дистресс-синдрома.

2. Еще более распространен так называемый гематогенный путь, который включает вызываемые коронавирусом повреждения сосудистого эндотелия и нарушение защитной целостности ГЭБ. За счет распространения белка АПФ2 в эндотелии коронавируса SARS-CoV-2 получает возможность полиорганного поражения большого сосудистого полотна (Baig et al., 2020). Взаимодействие вируса с белком АПФ2 в эндотелии капилляров может привести к поражению в форме эндотелиита (Varga et al., 2020) и таким образом облегчить проникновение вируса в мозг. Мoriguchi с соавт. продемонстрировали наличие осколков SARS-CoV-2 в цереброспинальной жидкости на фоне менингоэнцефалитных проявлений патогенеза COVID-19 (Moriguchi et al., 2020).

Предыдущие модельные исследования показали, что репликация вирусов в эндотелиальных клетках вызывает деградацию контактных белков, которая приводит к нарушению защитной системы ГЭБ (Verma et al., 2009; Lega et al., 2019). SARS-CoV вызывал клеточный стресс, связанный с усилением цитотоксических эффектов, и дегенерацию через механизмы апоптоза (Desforges et al., 2014). Эти предклинические данные ассоцииру-

ются с COVID-19, поскольку при патологоанатомическом исследовании было установлено наличие частиц вируса SARS-CoV-2 в эндотелии микросудов лобной доли головного мозга (Paniz-Mondolfi et al., 2020). Поражение эндотелиальных клеток связано с экспрессией молекул адгезии (VCAM и ICAM): внедрение вируса индуцирует матричные металлопротеиназы, способствующие разрушению субклеточных контактов. Гибель эндотелиальных клеток нарушает микросреду паренхимы головного мозга, обеспечивая доступность коронавируса к другим участкам (Alquisiras-Burgos et al., 2021).

Таким образом, в качестве механизма повреждения ГЭБ при инвазии SARS-CoV-2 рассматривается следующая последовательность событий: 1) связывание вируса с белком АПФ2 на мембране эндотелиальных клеток, которое влечет массовое инфицирование клеток; 2) закрепление вируса влияет на контактность межклеточных молекул адгезии, индуцируя матричные металлопротеиназы, которые способствуют разрушению эндотелиальных структур; 3) гибель клеток эндотелия определяет доступность для вируса SARS-CoV-2 других участков головного мозга.

НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ КАК ВЕДУЩИЙ КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ПОРАЖЕНИЙ ПРИ КОВИД-19

В предыдущих исследованиях вирусов группы SARS-CoV было установлено, что нарушение целостности ГЭБ при респираторной атаке может быть обусловлено цитотоксическим механизмом с индукцией апоптоза (Desforges et al., 2014). ГЭБ играет роль регуляторного посредника между ЦНС и иммунной системой мозга. В качестве обобщающей причины поражения рассматривается процесс нейровоспаления, когда развивается диссонанс защитных механизмов (Erickson et al., 2012). При исследовании острого респираторного синдрома, вызванного предыдущими штаммами коронавируса SARS, выявлено, что монокины, индуцированные $IFN\gamma$, экспрессируются в мезенхиме мозга в глиоцитах с инфильтрацией моноцитов/макрофагов и Т-лимфоцитов (Xu et al., 2005).

Нейровоспаление.

Дуальный принцип регуляции мозга

Изначально следует акцентировать внимание на роли астроглиальных клеток в большом арсенале регуляторных процессов “нормального” мозга. Современные сведения позволяют рассматривать микроглию как гетерогенные популяции клеток с многообразными функциями, включая контроль паренхимы, ликвидацию апоптотических клеток и осколков фагоцитоза, а

также влияние на процессы синаптической пластичности и нейрогенеза (Tremblay et al., 2011). Взаимодействие астроглии и эндотелия определяет структуру и функции ГЭБ (Da Silva et al., 2019).

Микроглиальные клетки способствуют ремоделированию (по сути, упорядочению) среды нейронов, участвуя в ликвидации “изношенных” структур (обломков клеток, синапсов, органелл и др.), способствуя развитию и выживанию нейронов. Астроциты отвечают за формирование синапсов как ключевых компонентов нейротрансмиттерной функции. Отмечается сигнальная роль трансформирующего ростового фактора TGF- β в индуцированном астроцитами синаптогенезе клеток коры (Diniz et al., 2012). Суммированы сведения о регуляции астроцитами высших психических функций, включая память и социальное поведение (Гомазков, 2019).

В то же время большая часть литературы ассоциирует астроглиальные клетки с понятием “нейровоспаления”, которое традиционно понимается как участие в негативных (патогенетических) процессах (Bentivoglio et al., 2011). Реактивные глиальные клетки обладают двойственным фенотипом нейротоксического или нейропротективного характера, в зависимости от инфекционных стимулов, патофизиологического состояния, возраста пациента (Pekny et al., 2016). Острое нейровоспаление развивается как системный процесс гиперэкспрессии молекул иммунной защиты, дисфункции эндотелиальных клеток, повреждения структур мозга (Matias et al., 2019).

По данным лабораторных исследований, первичные неврологические нарушения при COVID-19 описываются как “синдром высвобождения цитокинов” (Moore, June, 2020). Нейровоспалительные реакции развиваются как следствие инвертированного иммунного ответа при участии цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α , хемокинов CCL2, CCL5, CXCL1, вторичных сигнальных посредников (NO), реактивных форм кислорода. Многие из упомянутых медиаторов воспаления вырабатываются реактивными клетками астроглии (Norden et al., 2016).

Констатируя дуальный принцип нейровоспаления, Ди Сабато с соавт. (Di Sabato et al., 2016) разделяют проадаптивные (защитные, физиологические) и маладаптивные (негативные) процессы нейровоспаления, образно определяемые как “Дьявол – в деталях”. Проапоптотические пути, ведущие к образованию реактивных форм кислорода и ликвидации клеточных структур, опосредуются включением сигнальных молекул, синтезируемых астроглией. Один из них – ядерный фактор транскрипции NF- κ B регулирует активность молекул воспаления, которые ассоцииру-

ются с нейродегенеративными заболеваниями (Shabab et al., 2017).

Результаты предшествующих экспериментальных исследований свидетельствуют, что нейровирулентность SARS-CoV коррелирует со способностью индуцировать провоспалительные сигналы цитокинов. Вирусы с различной нейровирулентностью провоцируют активацию цитокинов IL-12, p40, TNF- α и др., как в астроцитах, так и в микроглии головного и спинного мозга (Li et al., 2004). При регулируемой активации микроглии и Toll-подобных рецепторов распознавания патогенов происходит трансформация астроцитов в провоспалительные и пронеурогенеративные клетки мозга (Roszczewski et al., 2018).

Астроциты и механизмы нейродегенерации при COVID-19

Астроциты и микроглия рассматриваются как потенциальные мишени инвазии SARS-CoV-2 (Vargas, Geraldo, 2020). Комплекс клинических материалов позволяет считать, что активированная микроглия во время периферического цитокинового шторма может быть вовлечена в неврологические проявления заболевания. При анализе тяжелых случаев COVID-19 установлено, что системная инфекция сопровождается увеличением циркулирующих в крови хемокинов и интерлейкинов, которые, проникая через ГЭБ, попадают в мозг. Функция иммунных и глиальных клеток имеет решающее значение для определения неврологического повреждения и исхода заболевания (Tremblay et al., 2020). Острый нейровоспалительный ответ включает активацию резидентных тканевых макрофагов в ЦНС и последующее высвобождение цитокинов и хемокинов, связанных с активацией окислительного стресса и отсроченным повреждением нейронов. Заслуживает внимания избирательное применение терапевтических средств, обладающих опосредованным противовоспалительным и противовирусным эффектами (Путилина, Гришин, 2020).

Биохимический анализ плазмы крови пациентов COVID-19 тяжелых и умеренных случаев продемонстрировал увеличение уровня биомаркеров повреждения, таких как GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок) и NfL (белок легкой цепи нейрофиламента), что свидетельствует об активации астроцитов и повреждении нейронов (Kanberg et al., 2020). При экстремальной активации глиальных клеток нейрональные повреждения могут относиться как к локальным синаптическим элиминациям, так и к апоптотической деградации самих нейронов. Эти явления ведут к дисбалансу синаптических процессов в мозге (Garber et al., 2019).

Эта линия рассуждений позволила сделать вывод, что реактивный фенотип микроглии может быть ведущей причиной нейродегенеративных расстройств при патологии COVID-19. Провоспалительное праймирование (предварение) микроглии при инфекции SARS-CoV-2 усиливает симптоматику предыдущих заболеваний пациента.

Диссонанс ангиотензиновой системы и нейровоспаление

Представление ренин-ангиотензиновой системы является отдельной темой в анализе патогенеза COVID-19. Комплекс биохимических процессов, начинающихся с каталитической функции фермента АПФ2 и взаимодействия фрагментов ангиотензинов с рецепторами, определяет контроль микрогемодинамики, гемотрансфузии, нейровоспаления, оксидативного стресса, апоптоза (Kangussu et al., 2020). Роль ренин-ангиотензиновой системы как звена сигнальной регуляции – гемодинамических расстройств, реакции на стрессорные и нейротоксические воздействия и особые формы социального поведения, была представлена в нашей книге (Гомазков, 1993).

Основной клеточной мишенью агрессии вируса SARS-CoV-2 служит АПФ2, естественный биохимический фактор сосудистой регуляции. Нарушение сопряженных отношений ферментных систем АПФ2/АПФ под влиянием агрессии коронавируса играет значительную роль в патогенезе COVID-19. Биохимическая роль АПФ2 и АПФ состоит в гидролизе фрагментов “большого” ангиотензина I (АНГ1–10): комбинация АПФ2 → → АНГ(1–7) → рецептор MasR функционально противостоит оси АПФ → АНГ(1–8) → рецептор AT1R. Пептид АНГ(1–7), связываясь с MasR, потенцирует комплекс защитных реакций (рис. 2). Рецепторы MasR локализованы во многих структурах головного мозга, включая гиппокамп, миндалину, таламическое ядро, кору (Regenhardt et al., 2014).

Можно констатировать, что подавление коронавируса белком АПФ2 ведет к нивелированию защитных функций конкурирующей системы и развитию нейровоспалительных ответов (Gheblawi et al., 2020). Астроциты, реагирующие на провоспалительные медиаторы, становятся факторами снижения антиоксидантной активности, также связанной с АНГ(1–7) и рецепторами MasR (Gallagher et al., 2006). С позиций фармакотерапии, поддержание активности оси АПФ2 → АНГ(1–7) → → MasR или блокирование оси АПФ → → АНГ(1–8) → AT1R может сыграть защитную роль при поражении мозга. Перспективным может быть использование непептидного агониста

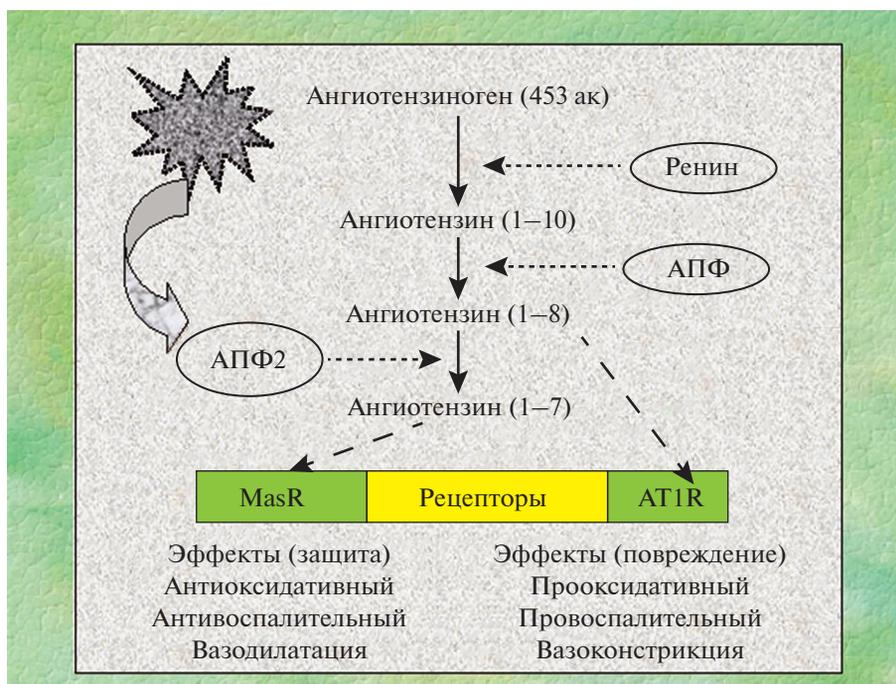


Рис. 2. Ренин-ангиотензиновая ось АПФ2/АПФ и баланс протективных (антиоксидантных) и провоспалительных процессов в сосудистом эндотелии. Агрессивное взаимодействие коронавируса с ферментом АПФ2 нивелирует защитную миссию, стимулирует гиперпродукцию АНГ(1–8), вызывая нарушения васкулярного гомеостаза.

рецепторов и усиление сигнала MasR как протективного механизма (Santos, Ferreira, 2006).

Суммируя эти результаты, можно выстроить последовательность процессов патогенеза и поражения мозга при COVID-19. 1) Повреждение эндотелиальных клеток и нарушение защитных функций ГЭБ ведет к трансдукции провоспалительных сигналов с периферии в паренхиму мозга с активированием воспалительного ответа микроглии и астроцитов. 2) Астроциты оказываются основными исполнителями в системе нейровоспаления, поскольку при блокировании (акцепции) вирусом фермента АПФ2 микроглия стимулирует релизинг провоспалительных цитокинов. 3) Диссонанс биохимических процессов комплекса АПФ2/АПФ и изменение соотношения ангиотензиновых пептидов провоцируют активность компонентов астроглии и нейровоспаление, ведущие к нейродеструктивным осложнениям при COVID-19.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные предыдущих экспериментальных работ с различными штаммами коронавируса SARS, а также клинические материалы пандемии COVID-19 предоставляют информацию о механизмах влияния на ЦНС. Можно выделить следующие положения, которые характеризуют специфику нейродеструктивных процессов.

1. Новой позицией представляется информация о нейротропности SARS-CoV-2 как обоснование трансфекции вируса и провоцирование неврологических расстройств различного генеза. “Врастание” вируса в клетки капилляров облегчает его проникновение в структуры мозга (Cagdana et al., 2020).

2. “Гематогенный путь” заражения, связанный с массивированным воздействием цитокинового шторма на эндотелий, может влиять на клетки микрососудов головного мозга, которые формируют ГЭБ. Присутствие вируса SARS-CoV-2 в микроциркуляторном русле предполагает контакт с АПФ2 в эндотелии различных систем, включая церебральную микрогемодинамику.

3. Активация нейровоспалительного ответа и включение реактивных клеток астроглии рассматривается как комплекс цитобиохимических процессов, балансирующих на грани “защита—повреждение”. Острое нейровоспаление развивается как процесс гиперэкспрессии молекул иммунной защиты, активации эндотелиальных клеток, повреждения структур мозга. Синдром экспрессии астроцитов служит прологом для включения механизма прооксидативного и проапоптотического влияния, поражающего структуры мозга.

4. Вследствие нарушения церебрального эндотелия и изменений равновесия АПФ2-сопряженных систем развиваются коагулопатия и тромбозы сосудов мозга. Комплекс этих процессов ведет

к поражению нейронов, что в результате приводит к активированному нейровоспалению и патогенетическому влиянию астроглиальных механизмов включения апоптоза и некроза.

5. На основании анализа этой информации выявляется ступенчатый механизм поражения нейрочитохимических, иммунологических и органных систем, сплетенный в картину неврологических и психических осложнений.

Эти материалы служат обоснованием для системного применения терапевтических подходов.

- Необходимость генерализованного предупреждения инвазии коронавируса с использованием специфических вакцин и химических лигандов, ингибирующих коронавирус SARS-CoV-2.
- Ограничения иммунного диссонанса, цитокинового шторма, как фактора генерализации и прогрессирования заболевания.
- Восстановление нарушенного влиянием коронавируса равновесия биохимических систем АПФ2/АПФ, с реабилитацией противовоспалительных, антитромботических и антигипертензивных механизмов.
- Использование специализированной терапии поражаемых органов (сердца, мозга, эндокринной системы и др.) для поддержания функций.
- Контроль “отставленных” проявлений нейродеструктивных и психических заболеваний с учетом персонализированных особенностей пациента.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет 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

- Гомазков О.А. Функциональная биохимия регуляторных пептидов. М.: Наука, 1993. 160 с.
- Гомазков О.А. Астроциты как компоненты регуляции высших функций мозга // Нейрохимия. 2019. Т. 36 (4). С. 267–274.
- Гомазков О.А. Поражение сосудистого эндотелия как ведущий механизм системной патологии COVID-19 // Успехи соврем. биол. 2021. Т. 141 (2). С. 118–127.

- Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Бойко А.Н. и др. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и поражение нервной системы: механизмы неврологических расстройств, клинические проявления, организация неврологической помощи // Журн. неврол. психиатр. 2020. Т. 120 (6). С. 7–16.
- Путилина М.В., Гришин Д.В. SARS-CoV-2 (COVID-19) как предиктор нейровоспаления и нейродегенерации: потенциальные стратегии терапии // Журн. неврол. психиатр. 2020. Т. 120 (8–2). С. 58–64.
- Соколова Л.П., Федин А.И. Когнитивные и вегетативные нарушения при новой коронавирусной болезни // Новости неврологии. 2020. Вып. 11 (73). www.neuronews.ru.
- Aghagholi G., Gallo Marin B., Katchur N. et al. Neurological involvement in COVID-19 and potential mechanisms: a review // Neurocrit. Care. 2020. P. 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12028-020-01049-4>
- Alquisiras-Burgos I., Peralta-Arrieta I., Alonso-Palomares L.A. et al. Neurological complications associated with the blood-brain barrier damage induced by the inflammatory response during SARS-CoV-2 infection // Mol. Neurobiol. 2021. V. 58 (2). P. 520–535.
- Baig A.M., Khaleeq A., Ali U., Syeda H. Evidence of the COVID-19 virus targeting the CNS: tissue distribution, host-virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms // ACS Chem. Neurosci. 2020. V. 11. P. 995–998. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00122>
- Bentivoglio M., Mariotti R., Bertini G. Neuroinflammation and brain infections: historical context and current perspectives // Brain Res. Rev. 2011. V. 66 (1–2). P. 152–173.
- Bougakov D., Podell K., Goldberg E. Multiple neuroinvasive pathways in COVID-19 // Mol. Neurobiol. 2021. V. 58 (2). P. 564–575. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02152-5>
- Cardona C.G., Pájaro Q.L.D., Marzola Q.I.D. et al. Neurotropism of SARS-CoV-2: mechanisms and manifestations // J. Neurol. Sci. 2020. V. 412. P. 116824. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116824>
- Chen R., Wang K., Yu J., Howard D. et al. The spatial and cell-type distribution of SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human and mouse brain // Front. Neurol. 2021. V. 11. P. 573095. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.573095>
- Chougar L., Shor N., Weiss N. et al. Retrospective observational study of brain magnetic resonance imaging findings in patients with acute SARS-CoV-2 infection and neurological manifestations // Radiology. 2020. V. 297 (3). P. E313–E323.
- Coolen T., Lolli V., Sadeghi N. et al. Early postmortem brain MRI findings in COVID-19 non-survivors // Neurology. 2020. V. 95 (14). P. 2016–2027. <https://doi.org/10.1212/wnl.00000000000010116>
- Da Silva S.M., Campos G.D., Gomes F.C.A., Stipursky J. Radial glia-endothelial cells' bidirectional interactions control vascular maturation and astrocyte differentiation: impact for blood-brain barrier formation // Curr. Neurovasc. Res. 2019. V. 16 (4). P. 291–300.
- Desforges M., Le Coupanec A., Stodola J.K. et al. Human coronaviruses: viral and cellular factors involved in

- neuroinvasiveness and neuropathogenesis // *Virus Res.* 2014. V. 194. P. 145–158.
- Di Sabato D.J., Quan N., Godbout J.P.* Neuroinflammation: the devil is in the details // *J. Neurochem.* 2016. V. 139. Suppl. 2. P. 136–153.
- Diniz L.P., Almeida J.C., Tortelli V. et al.* Astrocyte-induced synaptogenesis is mediated by transforming growth factor beta signaling through modulation of D-serine levels in cerebral cortex neurons // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287 (49). P. 41432–41445.
- Erickson M.A., Dohi K., Banks W.A.* Neuroinflammation: a common pathway in CNS diseases as mediated at the blood-brain barrier // *Neuroimmunomodulation.* 2012. V. 19 (2). P. 121–130.
- Gallagher P.E., Chappell M.C., Ferrario C.M., Tallant E.A.* Distinct roles for ANG II and ANG-(1–7) in the regulation of angiotensin-converting enzyme 2 in rat astrocytes // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2006. V. 290. P. C420–C426.
- Galougahi M., Ghorbani J., Bakhshayeshkaram M. et al.* Olfactory bulb magnetic resonance imaging in SARS-CoV-2-induced anosmia: the first report // *Acad. Radiol.* 2020. V. 27 (6). P. 892–893. <https://doi.org/10.1016/j.acra.2020.04.002>
- Gandhi S., Srivastava A.K., Ray U., Tripathi P.P.* Is the collapse of the respiratory center in the brain responsible for respiratory breakdown in COVID-19 patients? // *ACS Chem. Neurosci.* 2020. V. 11 (10). P. 1379–1381.
- Garber C., Soung A., Vollmer L.L. et al.* T cells promote microglia-mediated synaptic elimination and cognitive dysfunction during recovery from neuropathogenic flaviviruses // *Nat. Neurosci.* 2019. V. 22 (8). P. 1276–1288.
- Gheblawi M., Wang K., Viveiros A. et al.* Angiotensin converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system // *Circ. Res.* 2020. V. 126 (10). P. 1456–1474.
- Hamming I., Timens W., Bulthuis M. et al.* Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis // *J. Pathol.* 2004. V. 203. P. 631–637.
- Kanberg N., Ashton N.J., Andersson L.M. et al.* Neurochemical evidence of astrocytic and neuronal injury commonly found in COVID-19 // *Neurology.* 2020. P. e1754–e1759. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010111>
- Kangussu L.M., Marzano L.A.S., Souza C.F. et al.* COVID-19, mast cells, cytokine storm, psychological stress, and neuroinflammation // *Neuroscientist.* 2020. V. 26 (5–6). P. 402–414.
- Kuba K., Imai Y., Rao S. et al.* A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury // *Nat. Med.* 2005. V. 11. P. 875–879.
- Leda A.R., Bertrand L., Andras I.E. et al.* Selective disruption of the blood-brain barrier by Zika virus // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. P. 2158. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02158>
- Li Y., Fu L., Gonzales D.M., Lavi E.* Coronavirus neurovirulence correlates with the ability of the virus to induce proinflammatory cytokine signals from astrocytes and microglia // *J. Virol.* 2004. V. 78 (7). P. 3398–3406.
- Li Y.C., Bai W.Z., Hashikawa T.* The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients // *J. Med. Virol.* 2020a. V. 92 (6). P. 552–555. <https://doi.org/10.1002/jmv>
- Li Z., Liu T., Yang N., et al.* Neurological manifestations of patients with COVID-19: Potential routes of SARS-CoV-2 neuroinvasion from the periphery to the brain // *Front. Med.* 2020b. V. 14 (5). P. 533–541. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0786-5>
- Mahalaxmi I., Kaavya J., Mohana Devi S., Balachandar V.* COVID-19 and olfactory dysfunction: a possible associative approach towards neurodegenerative diseases // *J. Cell Physiol.* 2021. V. 236 (2). P. 763–770. <https://doi.org/10.1002/jcp.29937>
- Mao L., Jin H., Wang M. et al.* Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan // *JAMA Neurol.* 2020. V. 77 (6). P. 683–690. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1127>
- Matias I., Morgado J., Gomes F.C.A.* Astrocyte heterogeneity: impact to brain aging and disease // *Front. Aging Neurosci.* 2019. V. 11. P. 59. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00059>
- Moore J.B., June C.H.* Cytokine release syndrome in severe COVID-19 // *Science.* 2020. V. 368 (6490). P. 473–474.
- Moriguchi T., Harii N., Goto J. et al.* A first case of associated with SARS-Coronavirus-2 // *Int. J. Infect. Dis.* 2020. V. 94. P. 55–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.062>
- Netland J., Meyerholz D.K., Moore S. et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection causes neuronal death in the absence of encephalitis in mice transgenic for human ACE2 // *J. Virol.* 2008. V. 82 (15). P. 7264–7275.
- Norden D.M., Trojanowski P.J., Villanueva E. et al.* Sequential activation of microglia and astrocyte cytokine expression precedes increased Iba-1 or GFAP immunoreactivity following systemic immune challenge // *Glia.* 2016. V. 64 (2). P. 300–316.
- Paniz-Mondolfi A., Paniz-Mondolfi A., Bryce C. et al.* Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) // *J. Med. Virol.* 2020. V. 92 (7). P. 699–702.
- Pekny M., Pekna M., Messing A. et al.* Astrocytes: a central element in neurological diseases // *Acta Neuropathol.* 2016. V. 131. P. 323–345.
- Poyiadji N., Shahin G., Noujaim D. et al.* COVID-19-associated acute hemorrhagic necrotizing encephalopathy: CT and MRI features // *Radiology.* 2020. V. 296 (2). P. 201187. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201187>
- Regenhardt R.W., Mecca A.P., Desland F. et al.* Centrally administered angiotensin-(1–7) increases the survival of stroke-prone spontaneously hypertensive rats // *Exp. Physiol.* 2014. V. 99. P. 442–453.
- Rosciszewski G., Cadena V., Murta V. et al.* Toll-like receptor 4 (TLR4) and triggering receptor expressed on myeloid cells-2 (TREM-2) activation balance astrocyte polarization into a proinflammatory phenotype // *Mol. Neurobiol.* 2018. V. 55. P. 3875–3888.
- Santos R.A., Ferreira A.J.* Pharmacological effects of AVE 0991, a nonpeptide angiotensin-(1–7) receptor agonist // *Cardiovasc. Drug Rev.* 2006. V. 24 (3–4). P. 239–246.

- Shabab T., Khanabdali R., Moghadamtousi S.Z. et al. Neuroinflammation pathways: a general review // *Int. J. Neurosci.* 2017. V. 127 (7). P. 624–633.
- Szcześniak D., Gładka A., Misiak B. et al. The SARS-CoV-2 and mental health: from biological mechanisms to social consequences // *Prog. Neuropsychopharm. Biol. Psych.* 2021. V. 104. P. 110046. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110046>
- Tai W., He L., Zhang X. et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine // *Cell Mol. Immunol.* 2020. V. 7. P. 613. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0400-4>
- Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia // *J. Thromb. Haemost.* 2020. V. 18. P. 844–847.
- Tremblay M.E., Madore C., Bordeleau M. et al. Neuro-pathobiology of COVID-19: the role for glia // *Front. Cell Neurosci.* 2020. V. 14. P. 592214.
- Tremblay M.E., Stevens B., Sierra A. et al. The role of microglia in the healthy brain // *J. Neurosci.* 2011. V. 31 (45). P. 16064–16069.
- Troyer E.A., Kohn J.N., Hong S. Are we facing a crashing wave of neuropsychiatric sequelae of COVID-19? Neuropsychiatric symptoms and potential immunologic mechanisms // *Brain Behav. Immun.* 2020. V. 87. P. 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.027>
- Varga Z., Flammer A.J., Steiger P. et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 // *Lancet.* 2020. V. 395 (10234). P. 1417–1418.
- Vargas G., Geraldo L.H.M. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and glial cells: insights and perspectives // *Brain Behav. Immun. Health.* 2020. V. 7. P. 100127. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100127>
- Verma S., Lo Y., Chapagain M. et al. West Nile virus infection modulates human brain microvascular endothelial cells tight junction proteins and cell adhesion molecules: transmigration across the *in vitro* blood-brain barrier // *Virology.* 2009. V. 385 (2). P. 425–433.
- Xu J., Zhong S., Liu J. et al. Detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus in the brain: potential role of the chemokine mig in pathogenesis // *Clin. Infect. Dis.* 2005. V. 41 (8). P. 1089–1096.
- Zeisel A., Munoz-Manchado A. B., Codeluppi S. et al. Brain structure. Cell types in the mouse cortex and hippocampus revealed by single-cell RNA-seq // *Science.* 2015. V. 347. P. 1138–1142.

COVID-19. Cellular and Molecular Mechanisms of Brain Damage

O. A. Gomazkov*

Orekhovich Scientific Research Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

**e-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru*

The most common clinical manifestation of COVID-19 is bilateral pneumonia, a diffuse alveolar injury with severe microangiopathy. Systemic infection is accompanied by an increase in circulating chemokines and interleukins in the blood, which penetrate the blood-brain barrier (BBB) and enter the brain. Clinical materials indicate lesions of the brain and peripheral nervous system, neurodegenerative and mental disorders. Due to violations of the cerebral endothelium system and changes in the balance of ACE2 – coupled cytochemical processes, coagulopathy develops, leading to microthrombosis and vascular occlusion. The concept of SARS-CoV-2 “neurotropism” is discussed as a rationale for the penetration of the virus into the brain. Infection can occur as axonal transport through the bulbar zone and the olfactory area of the cerebral cortex. Even more common is the “hematogenous pathway” of viral transfection, which includes damage to the vascular endothelium and a violation of the protective role of the BBB. Another concept that explains the mechanism of brain damage relates to the phenomenon of neuroinflammation. Astrocytes and microglia are considered as potential targets of the SARS-CoV-2 coronavirus. The dissonance of the biochemical processes of the axis ACE2/ACE and changes in the functions of angiotensin peptides leads to the activation of astroglia with the development of neurodestructive processes in COVID-19.

Keywords: COVID-19 pandemic, cytokine stress, blood-brain barrier, coronavirus neurotropism, angiotensin-converting enzyme 2, neuroinflammation, neurodegenerative pathology

УДК 577.152.344:579.6

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ С ПЛАЗМИНОПОДОБНОЙ И АКТИВАТОРНОЙ К ПЛАЗМИНОГЕНУ АКТИВНОСТЬЮ

© 2021 г. А. А. Осмоловский^{1,*}, В. Г. Крейер¹, Н. А. Баранова¹, Н. С. Егоров²

¹Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Международный биотехнологический центр Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

*e-mail: aosmol@mail.ru

Поступила в редакцию 30.01.2021 г.

После доработки 02.02.2021 г.

Принята к публикации 02.02.2021 г.

Рассмотрен потенциал микроскопических грибов к секреции протеолитических ферментов медицинского назначения, а именно протеиназ с тромболитической, фибринолитической и активаторной к плазминогену активностью. Проанализированы и обобщены сведения о наиболее известных препаратах подобных протеиназ со времени получения первого (1959 г.) до настоящего времени. Описаны ключевые свойства подобных ферментов и препаратов, указывающие на возможность их применения в медицине.

Ключевые слова: протеиназы микромицетов, фибринолитические ферменты, активаторы плазминогена, тромболизис, *Aspergillus*

DOI: 10.31857/S0042132421050069

ВВЕДЕНИЕ

В естественных условиях обитания микромицетам необходимо секретировать внеклеточные ферменты, способные разрушать сложные природные органические соединения для обеспечения себя пищевыми субстратами. Экспрессия этих ферментов регулируется в ответ на изменения окружающей среды (Шамрайчук и др., 2020; Semenova et al., 2020). Большинство внеклеточных ферментов мицелиальных грибов являются гидролазами, действующими на полисахариды, белки, липиды и нуклеиновые кислоты. Наиболее широко среди ферментов, секретлируемых микромицетами, распространены протеолитические ферменты (протеиназы). Именно они играют важную роль в физиологии и росте как сапротрофных, так и патогенных видов мицелиальных грибов, обеспечивая белковое (аминный азот) питание и выступая в качестве факторов вирулентности и патогенности (Yike, 2011).

Комплекс секретлируемых микромицетами протеиназ состоит из 5–12 различных ферментов, обладающих широкой субстратной специфичностью. Это свойство выгодно отличает грибы от бактерий, для которых характерен синтез небольшого числа (1–3) индивидуальных протеиназ

(Ландау и др., 1998). Поэтому микромицеты способны широко использовать для питания разнообразные белковые субстраты, встречающиеся повсеместно (Павлюкова и др., 1998; Шамрайчук и др., 2020; Srilakshmi, 2014; Semenova et al., 2017, 2020). Разнообразие функций, условий секреции и действия протеиназ определяет многообразие и специфичность этих ферментов, продуцируемых микромицетами (Srilakshmi, 2014).

Протеиназы микроорганизмов составляют 60% от мирового объема продаж всех ферментов, поскольку находят практическое применение в пищевой и химической промышленности, медицине, производстве сельскохозяйственной продукции, научных исследованиях. Они более доступны по сравнению с протеиназами животного и растительного происхождения (Rao et al., 1998; Mótýán et al., 2013; De Souza et al., 2015; Dos Santos Aguilar, 2018). Ряд протеиназ применяется в медицине в качестве терапевтических средств для лечения различных заболеваний (Craik et al., 2011). Очень широко распространены исследования по поиску, получению и изучению внеклеточных протеиназ мицелиальных грибов, способных воздействовать на систему гемостаза (свертывания крови и фибринолиза) млекопитающих и челове-

ка (Peng et al., 2005; Ventakatanagaraju, Divakar, 2014; Ventakatanagaraju et al., 2014).

Одной из дисфункций системы гемостаза является накопление фибрина в кровеносных сосудах. В норме излишки фибрина устраняют компоненты фибринолитической системы. Нарушение ее регуляции тесно связано с множественными патологическими состояниями, такими как тромбоз, воспаление, прогрессирование рака и невропатии (Lin et al., 2020). Тромбоэмболические осложнения, возникающие в сердечно-сосудистой системе, являются частой причиной летальных исходов и инвалидности людей во многих странах (Ali et al., 2014; Chapin, Hajjar, 2015; Sharma et al., 2020). Поэтому актуальным остается поиск биологически активных веществ, обладающих высокой фибринолитической и антикоагулянтной активностью, и получение на их основе тромболитиков с высоким терапевтическим эффектом при лечении осложнений такого рода (Lal, 2017; Sharma et al., 2020). В связи с этим активно ведется интенсивное изучение плазминоподобных ферментов микроорганизмов, то есть протеиназ, способных, аналогично плазмину крови человека, путем прямого гидролиза фибрина растворять тромбы крови человека (Шаркова и др., 2015; Осмоловский и др., 2018; Корниенко и др., 2020; Лукьянова и др., 2020; Kotb et al., 2015). Перспективны также микробные протеиназы активаторного действия, которые посредством ограниченного протеолиза белка крови плазминогена приводят к опосредованному лизису тромба и, как следствие, восстановлению кровотока (Батомункуева, Егоров, 2001; Осмоловский и др., 2014).

Многочисленными исследованиями показано, что микромицеты могут секретировать ферменты, оказывающие воздействие на белки системы гемостаза, проявляя при этом несколько типов протеолитической активности, что делает их более доступными и дешевыми продуцентами таких ферментов, по сравнению с аналогами (Осмоловский и др., 2014, 2018; Звонарева и др., 2015; Лукьянова и др., 2020; Rashmi, Liny, 2013; Palanivel et al., 2013). Успехи в исследованиях такого рода ферментов открывают большие возможности не только в решении проблемы лизиса преобразованных сгустков крови, но и проблемы ранней и адекватной диагностики нарушений системы гемостаза человека, а, следовательно, и проблемы предотвращения тромбообразования (Kotb, 2014). Поэтому важным этапом в подобных исследованиях является направленный поиск новых продуцентов, имеющих определенные преимущества перед уже известными.

Протеиназы микромицетов фибринолитического действия, выделенные в чистом виде и охарактеризованные, отличаются по спектру протеиназной активности, по оптимальным параметрам

работы и скорости расщепления тромбов. Некоторые из них показали свою перспективность в опытах *in vitro* (Корниенко и др., 2021; Wu et al., 2009b; Kotb et al., 2015; Afini et al., 2016; Shilpa et al., 2019), другие — доказали эффективность в *in vivo*-исследованиях (Подорольская и др., 2006, 2014; Wu, Xu, 2012; Da Silva et al., 2019).

МИКРОМИЦЕТЫ — ПРОДУЦЕНТЫ ПРОТЕИНАЗ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Действие протеиназ, обладающих фибринолитической активностью, можно разделить на прямое, или плазминоподобное (непосредственный гидролиз фибрина наподобие физиологической протеиназы — плазмина), и не прямое (за счет активации профермента — плазминогена — предшественника плазмина). Эндогенные протеиназы человека и животных прямого тромболитического действия расщепляют аргинил-глициновые связи в молекуле фибрина, а ферменты, активирующие плазминоген — аргинил-валиновые связи в его молекуле (Cesarman-Maus, Hajjar, 2005).

Активация проферментов системы гемостаза происходит за счет реакции их ограниченного протеолиза. Это свойство присуще некоторым протеиназам микромицетов, что выгодно отличает их от протеиназ других микроорганизмов, в частности, бактерий.

Мишени действия протеиназ мицелиальных грибов в контексте физиологических фибринолитических реакций представлены на рис. 1. Фибринолитическое звено системы гемостаза представлено проферментом плазминогеном, превращающимся в активный протеолитический фермент — плазмин, специфично расщепляющий волокна белка фибрина, составляющего основу тромба. Конверсия плазминогена в плазмин происходит под действием эндогенных протеиназ-активаторов — тканевого активатора плазминогена (т-АП) и урокиназного активатора плазминогена (у-АП, урокиназа) (Cesarman-Maus, Hajjar, 2005). Активность экзогенных протеиназ-фибринолитиков по отношению к расщепляемым ими белкам принято называть, соответственно, плазминоподобной (фибринолитической) и активаторной к плазминогену. Последняя активность в случаях, когда она уточнена, может быть подобной тканевому активатору плазминогена (т-АП-подобной) и урокиназной. Кроме того, протеиназы мицелиальных грибов способны активно расщеплять и предшественник фибрина — фибриноген, коагулируемый ключевой протеиназой системы гемостаза — тромбином. В этом случае говорят о фибриногенолитической активности. Фибриноген млекопитающих состоит из трех полипептидных цепей — А α , В β и γ . Свертывание фибриногена происходит за счет специфического расщепления



Рис. 1. Упрощенная схема свертывания крови и фибринолиза и действие протеиназ микромицетов на ее компоненты: 1 – фибринолитическая активность, 2 – тромболитическая и фибринолитическая (плазминоподобная) активность, 3 – активаторная к плазминогену активность.

тромбином первых двух цепей с высвобождением фибринопептидов (А и В соответственно), а расщепление – за счет гидролиза всех цепей плазмином без образования фибринопептидов (Mosesop, 2005). Способность протеиназ гидролизовать сформированные тромбы (как молодые, свежесформированные, так и старые) называют тромболитической активностью. Регуляция функционирования фибринолитического звена системы гемостаза определяется другими белками плазмы, включая ряд ингибиторов, которые могут снижать тромболитическую активность протеиназ микромицетов непосредственно в кровотоке.

Микромицеты, у которых обнаружена способность синтезировать ферменты фибринолитического действия, в эколого-трофическом отношении можно разделить на несколько групп. Так, известны продуценты – сапротрофы (Шаркова и др., 2015; Abdel-Fattah, Ismail, 1983), эндофиты и фитопатогены (Егоров и др., 1971; Ahmad et al., 2014), энтомопатогены (Шаркова и др., 2015, 2016а) и нематопатогены (Шаркова и др., 2016б). По современной систематике, большинство из них относится к анаморфам аскомицетного аффинитета, хотя известны продуценты и среди зигомикетов.

Толчком, послужившим стимулом для широкого изучения микроорганизмов, образующих протеиназы фибринолитического действия, явилось сообщение британскими учеными Марио Стефанини и Гектором Марином в 1958 г. об обнаружении фибринолитической активности протеиназы, выделенной из культуры *Aspergillus oryzae* В-1273 (Stefanini, Marin, 1958). А через год ими с соавторами был получен первый в мире фибринолити-

ческий препарат грибного происхождения, названный Аспергиллином О (Stefanini et al., 1959). Внутривенное введение этого препарата человеку и животным вызывало лизис тромбов крови. Препарат также гидролизует казеин, альбумин, но не действовал на гемоглобин и не обладал антигенностью. Несколько десятилетий Аспергиллин О являлся промышленным препаратом, применяемым в системе здравоохранения США и Канады (Демина, Лысенко, 1991). Спустя несколько лет подобные исследования протеолитических ферментов микромицетов стали проводить во многих странах мира: в Европе (прежде всего – в России, Великобритании, Швеции, Германии, Франции, Болгарии, Белоруссии, Чехии, Польше), Юго-Восточной Азии (прежде всего – в Японии, Китае, Индии), Северной Африке (прежде всего – в Египте), Южной Америке (прежде всего – в Бразилии).

В России первые исследования протеиназ фибринолитического действия, образуемых культурами микроскопических грибов, были начаты еще во времена СССР на кафедре микробиологии МГУ под руководством Н.С. Егорова в 1962 г. Из культуральной жидкости *A. oryzae* штамм МГУ был выделен и изучен фермент тромболитического действия (Кудряшов и др., 1963; Ландау, Егоров, 1965), названный Аспергиллином М (московским). Этот фермент оказался термостабильным и отличался от известной к тому времени аспергиллопептидазы В *A. oryzae* по оптимальному значению рН, типу действия и аминокислотному составу. Было доказано, что препарат обладал способностью лизировать искусственно вызванные у животных тромбы, причем

наилучший эффект получался при совместном введении Аспергиллина М с гепарином (Струкова, Андреев, 1965). Под влиянием Аспергиллина М происходило изменение структуры фибрина, его лизис, после чего полностью восстанавливался ток крови.

За несколько десятилетий было открыто большое число микромицетов, протеолитические ферменты которых обладают тромболитической и фибринолитической активностью (табл. 1). Они характеризуются широкой субстратной специфичностью, способностью гидролизовать не только нерастворимый фибрин, но и ряд других белковых субстратов. Определяющими перспективностью применения в биомедицине протеиназ микромицетов являются оптимальные параметры их работы – температура и pH. Как видно из табл. 1, некоторые из выделенных протеиназ оказались способными проявлять фибринолитическое действие в физиологических условиях организма человека: для их активности оптимум pH составлял 7.0–8.0, а температуры – 37°C. Однако современная медицина требует еще более эффективных средств для лечения тромбозов, поэтому поиск новых продуцентов протеолитических ферментов по-прежнему актуален.

Активными продуцентами протеиназ тромболитического действия являются многие виды и штаммы сапротрофных и фитопатогенных плесневых грибов-аскомицетов таких родов, как *Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*. По физико-химическим свойствам внеклеточные протеиназы этих продуцентов (в большинстве описанных случаев) являются щелочными сериновыми протеиназами с молекулярными массами в пределах 14–45 кДа.

Наибольшая доля продуцентов протеиназ с фибрино- и тромболитической активностью приходится на представителей рода *Aspergillus* (Егоров и др., 1973; Grigov et al., 1969). У аспергиллов в большинстве случаев выявлена корреляция между фибринолитической и тромболитической активностями (Егоров и др., 1973). Так, у культур аспергиллов, не обладающих фибринолитической активностью или имеющих незначительную фибринолитическую активность, не обнаружено и тромболитической активности. Культуры с высокой фибринолитической активностью имеют также высокую тромболитическую активность. Однако для ряда штаммов *Aspergillus*, не обладающих тромболитической активностью, показана высокая фибринолитическая активность. Последнее можно объяснить действием плазменных ингибиторов протеиназ, присутствующих в том числе и в тромбах. Наиболее часто штаммы аспергиллов, обладающие высокой фибринолитической активностью, встречаются среди представителей видов *A. candidus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*,

A. ochraceus, *A. oryzae*, *A. terreus* (Демина, Лысенко, 1991; Ventakatanagaraju, Divakar, 2014). Из фильтра культуральной жидкости многих из них были выделены и охарактеризованы протеолитические ферменты.

Особый интерес представляют фитопатогенные грибы родов *Fusarium*, *Cladosporium* и *Alternaria* (Егоров и др., 1971). Среди этих микромицетов более 80% изученных культур являются активными в отношении фибринолиза. У представителей рода *Cladosporium* данная активность значительно ниже, чем у других грибов. Высокая фибринолитическая активность была обнаружена у представителей рода *Alternaria*. Среди других продуцентов перспективных в медицинском отношении протеиназ следует считать представителей рода *Fusarium*. Протеиназы известных продуцентов микромицетов этого рода также демонстрируют высокую фибринолитическую активность, но отличаются от протеиназ аспергиллов по субстратной специфичности и pH-стабильности (Ueda et al., 2007; Wu et al., 2009a). Сравнительные исследования по фибринолитической активности фузариумов, аналогичные для аспергиллов, к настоящему времени не проводились, поэтому нельзя однозначно сказать о превалировании у них какого-либо одного типа активности по отношению к белкам фибринолитической системы человека.

Необходимо отметить, что величина протеолитической активности и свойства протеиназ различаются между штаммами, в том числе и среди представителей одного вида. Поэтому исследования, направленные на поиск новых протеиназ медицинского назначения имеют перспективы продолжения.

Хорошо изученными препаратами внеклеточных протеиназ микромицетов с выраженной тромболитической и фибринолитической активностью являются СА-7, террилитин, окраза, лонголитин. В последнее время были получены данные о новых протеиназах *A. oryzae*, *A. ochraceus*, *A. brasiliensis*, *Fusarium* sp., *Sarocladium strictum*, *Mucor subtilissimus*.

Первые протеолитические препараты, такие как СА-7 и Аспергиллин О, выделенный при культивировании *A. oryzae*, известны как стабильные, неантигенные, обладающие протеолитическими свойствами, сходными со свойствами плазмина (Ives, Tosoni, 1967; Roschlau, 1968). СА-7 эффективно лизирует венозные и артериальные тромбы. В опытах на животных было показано их ингибирование белками плазмы, однако удалось подобрать концентрации, позволяющие достигать значимого фибринолитического эффекта (Bergkvist, Svärd, 1964). На фоне введения гепарина препарат использовался в некоторых клиниках Канады и Европы в качестве тромболитического

Таблица 1. Протеолитические ферменты микромицетов и препараты на их основе с выраженной тромболитической и фибринолитической активностью

Продуцент протеиназы	Оптimum фибринолитической активности		Расщепляемые белковые субстраты (изученные)	Коммерческое или рабочее название протеиназы	Место получения и изучения	Источник
	T, °C	pH				
<i>Aspergillus oryzae</i> В-1275	37	6.0–7.5	Казеин, желатин, фибрин, фибриноген	Аспергиллин О	Лондон, Великобритания	Stefanini et al., 1959
<i>A. oryzae</i> МГУ	37	7.0	Фибрин, фибриноген	Аспергиллин М	Москва, СССР	Егоров и др., 1965
<i>A. oryzae</i>	35–40	7.0–7.5	Фибрин	СА-7	Торонто, Канада	Ives, Tosoni, 1967
<i>A. oryzae</i>	37	7.0	Казеин, желатин, фибрин, фибриноген	Бриназа (Бринолаза)	Сёдертелье, Швеция	Svärd, 1972
<i>A. oryzae</i> KSK-3	50	6.0	Фибрин, казеин	–	Нара, Япония	Shirasaka et al., 2012
<i>A. ochraceus</i>	37	7.8–8.0	Казеин, фибрин, фибриноген	Окраза	Эрфурт, Германия	Töpfer et al., 1971
<i>A. ochraceus</i> НР-19	45	8.5	Казеин, фибрин, фибриноген	–	Москва, СССР	Клечковская и др., 1979
<i>A. ochraceus</i> 513	50	8.0	Казеин, фибрин	–	Москва, Россия	Батомункуева, Егоров, 2002
<i>A. ochraceus</i> ВКМ F-4104D	45	9.0–10.0	Казеин, фибрин	АО-3	Москва, Россия	Осмоловский и др., 2017
<i>A. terreicola</i>	53	7.5–8.0	Казеин, гемоглобин, фибриноген, фибрин	Террилитин	Ленинград, СССР	Селезнева, Большаков, 1986
<i>A. fumigatus</i> CBS 113.26	37–42	9.0	Фибриноген	–	Анжер, Франция	Larcher et al., 1992
<i>A. brasiliensis</i> AUMC 9735	30	6.0–11.0	Фибрин	–	Загазиг, Египет	Kotb et al., 2015
<i>A. brasiliensis</i> BCW2	40	5.0	БСА, овальбумин, желатин, казеин, кровяные сгустки	–	Йола, Нигерия	Chimbekujwo et al., 2020
<i>A. carbonarius</i> S-CRSR-0007	45	7.0	Казеин, фибрин, кровяные сгустки	–	Раманатугара, Индия	Afimi et al., 2016
<i>A. kanagawaensis</i>	37	7.0	Казеин, фибрин	Протеаза II	Москва, СССР	Ушакова и др., 1974

Таблица 1. Окончание

Продуцент протеиназы	Оптimum фибринолитической активности		Расщепляемые белковые субстраты (изученные)	Коммерческое или рабочее название протеиназы	Место получения и изучения	Источник
	T, °C	pH				
<i>A. ustus</i> 1	41	6.0	Казеин, коллаген, фибрин, эластин	—	Москва, Россия	Попова и др., 2021
<i>Fusarium semitectum</i>	50–60	7.0	Казеин, желатин, гемоглобин, фибрин, БСА, ЧСА	—	Каир, Египет	Fayek et al., 1976
<i>Fusarium oxysporum</i> N.R.C.1	37	7.0	Фибрин, казеин	—	Каир, Египет	Abdel-Fattah et al., 1993
<i>Fusarium pallidoroseum</i>	40	7.0	Фибрин, казеин	—	Александрия, Египет	El-Aassar, 1995
<i>Fusarium</i> sp. BLB	50	9.5	Фибрин, казеин	FP	Осака, Япония	Ueda et al., 2007
<i>Fusarium</i> sp. СРСС480097	45	8.5	Фибриноген, фибрин	Fu-P	Шанхай, Китай	Wu et al., 2009b
<i>Trichothecium roseum</i>	37	7.0	Фибрин, фибриноген, казеин	Трихолизин (Триза)	Москва, СССР	Степанова и др., 1976
<i>Oidiodendron flafum</i>	45–55	8.0	Фибрин	—	Гиза, Египет	Tharwat et al., 2006
<i>Arthrobotrys longa</i>	37	6.0–9.0	Фибрин, фибриноген, казеин	Лонголитин	Москва, Россия	Цыманович и др., 1992
<i>Sarocladium strictum</i> 203	37	8.0	Фибрин, фибриноген, казеин	Протеиназа III	Москва, Россия	Корниенко и др., 2021
<i>Rhizopus chinensis</i> 12	45	10.5	Фибрин, фибриноген, казеин	—	Тяньцзинь, Китай	Xiao-lan et al., 2005
<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>tuberosus</i>	37	7.0	Фибрин	—	Тяньцзинь, Китай	Zhang et al., 2015
<i>Mucor subtilissimus</i> UCSР 1262	40	9.0	Коллаген, фибрин, кератин	—	Бразилия, Бразилия	Nascimento et al., 2020
<i>Neurospora sitophila</i>	50	7.4	Фибрин, фибриноген	—	Цицикар, Китай	Deng et al., 2018
<i>Cochliobolus lunatus</i>	40	6.8	Фибрин	—	Каир, Египет	Abdel-Fattah, Ismail, 1984
<i>Seedosporium apiospermum</i>	37	9.0	Фибриноген	—	Анже, Франция	Larcher et al., 1996
<i>Raecilomyces tenuipes</i>	35	5.0	Фибрин, фибриноген	РТЕFP	Кванджу, Корея	Kim et al., 2011

агента. Установлено, что тромболитическая активность данного препарата обратно пропорциональна концентрации СА-7-ингибитора, присутствующего в крови. Поэтому, для каждого пациента необходимо индивидуально определять ежедневную дозу СА-7 (Roschlau, 1968). Из протеолитического комплекса *A. oryzae* выделена еще одна протеиназа — бриназа, характеризующаяся высокой фибринолитической активностью и способностью гидролизовать казеин, желатин и частично денатурировать гемоглобин (Svärd, 1972). На фоне применения бриназы фиксировался высокий тромболитический эффект без существенных кровотечений в качестве побочной реакции (Frisch, 1989). В 2011 г. была выделена перспективная фибринолитическая протеиназа из другого штамма *A. oryzae* — KSK-3, отличающаяся от других известных фибринолитических ферментов. Молекулярная масса протеиназы составила приблизительно 30 кДа, максимальная фибринолитическая активность наблюдалась при pH 6.0 и 50°C. Протеаза была стабильна при pH от 4.0 до 9.0 при температуре до 50°C. Выделенный фермент относится к классу сериновых протеиназ. Предложено его применение в пероральной фибринолитической терапии и в качестве нутрицевтика для предупреждения развития сердечно-сосудистых заболеваний (Shirasaka et al., 2012).

Из *A. terricola* выделен комплекс протеолитических ферментов — Террилитин (Имшенецкий, Брокская, 1969; Касаткина и др., 1969; Селезнева, Большакова, 1986; Zaikina et al., 1975), состоящий из трех протеиназ, отличающихся по молекулярной массе, изоэлектрическим точкам (pI), а также по некоторым энзиматическим свойствам. Два фермента (с pI 4.7 и 4.5 и молекулярными массами 26 и 22 кДа соответственно) представляют собой протеиназы серинового типа, одна (с pI 4.35 и молекулярной массой 46 кДа) относится к металлопротеиназам. Термостабильность всех трех протеиназ наблюдалась в интервалах температур до 50°C, pH-стабильность — от 5.0 до 8.0. Тромболитическую активность комплекса изучали на моделях экспериментальных венозного и артериального тромбозов. Максимальный эффект наблюдался при введении Террилитина в участок вены или артерии в непосредственной близости от тромба. Было показано, что Террилитин повышал фибринолитическую активность плазмы крови. Несмотря на высокую активность данного препарата, отсутствие специфичности и токсические свойства не позволяют применять его для лизирования тромбов *in vivo* при внутривенном введении. В настоящее время препарат применяется в медицине как наружное средство — для лечения ожоговых и гнойных ран.

Эффективный тромболитический эффект демонстрируют протеолитические ферменты *A. ochraceus*. Сначала была выделена и детально изучена протеиназа,

получившая название Окразы. Она обладала высокой тромболитической, фибринолитической и фибриногенолитической активностями *in vitro* и *in vivo*, сопоставимыми с плазмином (Klöcking, Makwardt, 1971; Teisseyre et al., 1974). Однако протеолитическая активность окразы быстро нейтрализовывалась плазматическими ингибиторами. Были подобраны концентрации окразы, которые не превышали ингибирующую способность плазмы, и условия, в которых она проявляла определенную специфичность к фибрину, вызывая тромболитический эффект (Klöcking et al., 1981). Наибольшую активность окразы проявляла в комплексе с гепарином (Kudrjashov et al., 1976). Позднее с использованием других штаммов *A. ochraceus* было показано присутствие в секрете микромикета протеолитического комплекса с несколькими протеиназами с разной специфичностью к белкам системы гемостаза человека. Так, наряду с плазминоподобной активностью, протеиназы проявляли коагулазное действие (Клечковская и др., 1979). Протеиназы *A. ochraceus* ВКМ F-4104D АО-1 и АО-3 с pI 5.05 и 6.83 были отнесены к классу сериновых негликозилированных протеиназ, которые проявляли сходную субстратную специфичность. Они имели близкие значения молекулярной массы (около 32 и 35 кДа) и одинаковый оптимум активности при 45°C. По своим свойствам они оказались сходными с протеиназой, активирующей антикоагулянтный профермент гемостаза — протеина C (АО-2) — основного протеолитического фермента *A. ochraceus* ВКМ F-4104D, однако по значению pI, величине удельной амидолитической активности, оптимуму pH и температуры, интервалу pH и температурной стабильности, по кинетическим параметрам отличались как от нее, так и друг от друга (Осмоловский и др., 2015, 2017).

Комплекс протеиназ фибринолитического действия был выявлен у *A. kanagawaensis*. Показано, что данный комплекс состоит из двух протеолитических ферментов: I (с незначительной фибринолитической и казеинолитической активностью) и II (с высокой фибринолитической активностью). Высокая фибринолитическая активность протеиназы II сочетается с высокой казеинолитической и тромболитической активностями (Ушакова и др., 1974).

Новая протеиназа с фибринолитическим действием была выделена из ранее не изучавшегося в этом отношении микромикета *A. brasiliensis* АУМС 9735. Протеиназа имела молекулярную массу 40 кДа и была стабильна в интервале pH 6–11. Очищенный фермент показал более высокую термостабильность, чем большинство фибринолитических ферментов мицелиальных грибов, со средним значением температуры (T_m) при 60.4°C и временем полужизни ($t_{1/2}$) при 50–80°C, равным 672.1—

6.5 мин. Активность фермента полностью нивелировалась в присутствии этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЕДТА) и восстанавливалась после добавления катионов Mg^{2+} , что свидетельствует о том, что фермент является металлопротеазой, а Mg^{2+} действует как кофактор (Kotb et al., 2015). Частично очищенная протеаза другого штамма – *A. brasiliensis* BCW2 – была стабильна при pH 4–6 и температуре 30–40°C, проявляла повышенную активность с Ca^{2+} (Chimbekujwo et al., 2020).

Весьма перспективными представляются и другие изучаемые в отношении тромболитизиса внеклеточные протеиназы аспергиилов – *A. flavus* AUMC 9736 (Kotb et al., 2015), *A. japonicum* KGSS 05 (Yadav, Siddalingeshwara, 2016), *A. ustus* 1 (Попова и др., 2021).

Микромицет *Fusarium oxysporum* N.R.C.J. известен как один из первых продуцентов из рода *Fusarium*, из культуральной жидкости которого были выделены две протеиназы с фибринолитической активностью. Обе протеиназы были более активны в отношении фибрина человека, чем фибрина быка, при этом активность мажорной протеиназы была в 72 раза выше, чем активность минорной. Оба фермента имели одинаковый оптимум температуры (37°C) и pH (6.98). Минорный фермент оказался более термо- и pH-стабильным. Оба фермента значительно активировались Ca^{2+} и ингибировались ЕДТА (Abdel-Fattah et al., 1993).

Высокоактивный по отношению к человеческому фибрину препарат был получен из *F. pallidoroseum*. Он состоит из трех компонентов, не расщепляет желатин и слабо гидролизует казеин. Высокий температурный оптимум активности (40°C) не позволяет эффективно применять данный препарат (El-Aassar et al., 1995).

Фибринолитический фермент, образуемый *Fusarium* sp. СРСС 480097 и названный Fu-P, с молекулярной массой 28 кДа и pI 8.1 характеризуется способностью расщеплять А α -цепь фибриногена с высокой эффективностью. Fu-P был идентифицирован как химотрипсин-подобная серин-металлопротеиназа. Первые 15 аминокислот N-концевой последовательности Fu-P не показали гомологии с таковыми других известных фибринолитических ферментов. Фибринолитическая и фибриногенолитическая активность протеиназы была выше, чем активность урокиназы. Эта протеиназа может иметь потенциальное применение в тромболитической терапии и в профилактике тромбозов (Wu et al., 2009a). Исследования *in vivo* показали, что Fu-P значительно увеличивал время свертывания фибриногена, активировал частичное тромбинопластиновое время и тромбиновое время и не ингибировал действие тромбина и фактора Ха (Wu, Xu, 2012).

Еще одна фибринолитическая сериновая щелочная протеиназа была выделена из культуральной жидкости *Fusarium* sp. BLB. Она имела молекулярную массу 27 кДа и проявляла максимальную активность при pH 9.5 и 50°C. Стабильность наблюдалась в интервале pH 2.5–11.5 и при температурах до 50°C (Ueda et al., 2007).

Среди новых изолятов фузариумов, проявляющих фибринолитическую активность, определенные перспективы связаны со штаммом *Fusarium* sp. CSN-6 (Chandrashekhar, Hariharan, 2019).

Протеиназа тромболитического действия также была получена при культивировании одного из микромицетов *Cladosporium* sp. Очищенная протеиназа имела молекулярную массу около 35 кДа и проявляла максимальную активность при pH 10 при 50°C (Hariharan et al., 2018).

Фибринолитическая активность была также обнаружена у протеиназ некоторых микромицетов рода *Penicillium* и близких родов – *Verticillium* и *Paecilomyces*. Так, известны фибринолитические ферменты иммобилизованной культуры *P. chrysogenum* H9 (El-Aassar et al., 1990) и *P. chrysogenum* SGAD12 (Gopinath et al., 2011). Штамм *Penicillium* sp. BF20 рассматривается как перспективный продуцент фибрино- и фибриногенолитических протеиназ. Протеолитические ферменты этого штамма демонстрировали способность полностью расщеплять фибриноген и фибрин за 15 и 120 мин соответственно (Baggio et al., 2019). Протеиназы, выделенные из культуральной жидкости разных штаммов рода *Verticillium*, имели очень низкие величины фибринолитической активности, уступающие протеиназам аспергиллов (Чердынцева, Егоров, 1988).

Ряд работ по изучению синтеза протеолитических ферментов, обладающих фибринолитической активностью, проводился на *Purpureocillium lilacinum* (бывш. *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium lilacinum*) (Егоров и др., 1972; Андреева и др., 1972). Было показано, что по величине тромболитической активности протеолитические ферменты данного микромицета значительно превосходят трипсин и плазмин (Егоров и др., 1972). Протеолитические ферменты фибринолитического действия, выделенные из *P. lilacinum*, представляют собой термолабильные металлопротеиназы с различной молекулярной массой, способные гидролизовать казеин и гемоглобин в широком диапазоне pH (от 4.0 до 11.0). Однако фибринолитическая активность ферментов полностью ингибировалась ингибиторами плазмы крови, что существенно ограничило возможность их применения.

Фибринолитический фермент энтомопатогенного гриба *Paecilomyces tenuipes* (PTEFP) – новая сериновая протеиназа, найденная у представителей этой группы. Она способна быстро гидролизовать А α -цепь фибриногена человека, но не

гидролизывала В β - или γ -цепи, что указывало на то, что это α -фибриногеназа. РТЕФР имел молекулярную массу 14 кДа и проявлял максимальную активность при 35°C и pH 5.0. Протеиназа была стабильна при pH 5.0–8.0 и ниже 40°C. Ионы Ca²⁺ усиливали активность фермента, а ионы Zn²⁺ – ингибировали ее (Kim et al., 2011).

У некоторых видов рода *Acremonium* (бывш. *Cephalosporium*), в частности у штаммов *A. sclerotigenum*, были обнаружены протеолитические ферменты с высокой фибринолитической активностью (Pisano et al., 1963). Однако, стоит заметить, что данные о фибринолитических ферментах микромицетов этого рода немногочисленны, в частности, при изучении способности штаммов трех видов акремониумов при росте на восьми средах секретировать протеиназы, фибринолитическая активность не была обнаружена (Чердынцева, Егоров, 1988).

Протеиназы тромболитического и фибринолитического действия найдены и у зигомикетов. Перспективные продуценты плазминоподобных протеиназ встречаются среди представителей родов *Mucor* и *Rhizopus*.

Мицелиальный гриб *Mucor subtilissimus* UCP 1262 секретирует протеиназу с молекулярной массой 20 кДа и pI 4.94. Фермент представляет собой химотрипсиноподобную сериновую протеиназу, активность которой усиливается добавлением ионов Cu²⁺, Mg²⁺ и Fe²⁺. Максимальная фибринолитическая активность наблюдалась при 40°C. Протеиназа представляет собой новый фибринолитический фермент, который может быть использован для лечения тромбозомических заболеваний, таких как инсульты, легочная эмболия и тромбоз глубоких вен (Nascimento et al., 2015, 2017, 2020). Дальнейшие исследования показали, что протеиназа не разрушает цепи A α и В β фибриногена человека и крупного рогатого скота, что указывает на то, что фермент действует как фибринолитический агент. В опытах на мышах на основании цитотоксического анализа, биохимических и гистоморфометрических параметров органов мышей, обработанных ферментом, сделан вывод, что этот фермент безопасен с токсикологической точки зрения и не вызывает генотоксических или мутагенных эффектов. Гемостатическая безопасность и фибринолитическая активность указывают на то, что эта протеаза является фибринолитическим агентом прямого действия (Da Silva et al., 2019).

Новый фибринолитический фермент, секретруемый *Rhizopus chinensis* 12 с молекулярной массой около 18.0 кДа и pI 8.5 способен гидролизовать фибрин и расщеплять α -, β - и γ -цепи фибриногена. Максимальная активность протеиназы была при температуре 45°C и pH 10.5. Протеиназа ингибировалась ингибиторами сериновых и ме-

таллопротеиназ. Первые 12 аминокислот N-концевой последовательности фермента не имели гомологии с фибринолитическими ферментами других микроорганизмов (Xiao-Lan et al., 2004).

Внеклеточные тромбо- и фибринолитические ферменты микромицетов разнообразны и по ряду физико-химических свойств отличаются как друг от друга, так и от других ферментов подобного рода и демонстрируют перспективность их практического применения, подтверждающуюся исследованиями на животных.

МИКРОМИЦЕТЫ – ПРОДУЦЕНТЫ ПРОТЕИНАЗ, АКТИВИРУЮЩИХ ПЛАЗМИНОГЕН

Изучение фибринолитической активности протеиназ микромицетов и их воздействия на другие компоненты системы гемостаза позволило обнаружить у некоторых штаммов способность их протеиназ к активации плазминогена (табл. 2). При этом культур, образующих только тканевые активаторы плазминогена, обнаружено не было. Данная активность сопровождалась фибринолитической активностью, что указывает на одновременное образование микромицетами нескольких протеолитических ферментов (Ландау и др., 1998). Поэтому существенным критерием, определяющим перспективность таких протеиназ можно считать долю активаторной к плазминогену активности от фибринолитической активности.

В конце XX в. из культуральной жидкости несовершенных грибов *Trichothecium roseum* и *Arthrotrichum longa* получены два тромболитических препарата с активаторной к плазминогену активностью – трихолизин (триаза) и лонголитин соответственно.

Трихолизин представляет собой протеиназный комплекс, состоящий из пяти компонентов. Он гидролизует фибрин, фибриноген, оказывая при этом большее сродство к фибрину, удлиняет время свертывания крови (то есть действует как антикоагулянт), активирует плазминоген, превращая его в активный фермент плазмин (Серебрякова и др., 1977). Протеиназы комплекса не отличались между собой по удельной фибринолитической активности (Степанова и др., 1976). Один из компонентов (IV) представляет собой протеиназу с молекулярной массой 26.5 кДа с оптимумом активности при температуре 37°C и оптимальным значением pH активности в пределах между 8.5 и 9.0, почти лишённую казеинолитической активности, но с высоким фибринолитическим эффектом. Остальные протеиназы имеют примерно одинаковое оптимальное значение pH активности (8.0–9.0).

Влияние трихолизина на систему свертывания крови и фибринолиз изучали в условиях *in vitro*.

Таблица 2. Микромицеты – продуценты протеиназ – активаторов пламиногена

Продуцент	Доля активаторной активности от фибринолитической активности, %	Стадия разработки	Источник
<i>Trichothecium roseum</i>	~25	Пройдены клинические испытания, есть рекомендация в качестве инъекционного препарата для лечения тромбозов глубоких вен и артерий	Пленина и др., 2006
<i>Arthrotrys longa</i>	50	Пройдены доклинические испытания, препарат может быть использован в качестве перорального тромболитического средства	Подорольская и др., 2014
<i>Tolypocladium inflatum</i>	50	<i>In vitro</i> -исследования	Шаркова и др., 2015
<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>tuberosus</i>	~20	<i>In vitro</i> -исследования	Zhang et al., 2015
<i>Neurospora sitophila</i>	~20	<i>In vitro</i> -исследования	Deng et al., 2018
<i>Sarocladium strictum</i>	~30	<i>In vitro</i> -исследования	Корниенко и др., 2020

Добавление препарата к донорской или кроличьей плазме крови вызывало быстрый лизис кровяного сгустка (менее 2 ч). В экспериментах на животных было показано значительное повышение фибринолитической активности крови с отсутствием побочных токсических реакций. Уже через час после введения препарата животным отмечался выраженный фибринолиз и лизис тромбов. Препарат успешно прошел доклинические и клинические испытания. Предложено его применение в качестве лекарства для внутривенного введения при лечении тромбозов различного рода – инфаркта миокарда, ишемического инсульта, тромбоза (Пленина и др., 2006).

Препарат внеклеточных протеолитических ферментов, полученный из культуральной жидкости штамма *A. longa* Mecht. №1 получил название “Лонголитин”. Препарат обладает фибринолитической, тромболитической, эстеразной, невысокой протеолитической и активаторной по отношению к пламиногену активностями (Андреев и др., 1983). При разделении лонголитина было выявлено 6 белковых фракций, среди которых фибринолитически активной оказалась одна. Фермент обладал рН 3.7 и молекулярной массой 28.6 кДа. Оптимальная активность была при рН 6.0–9.0 и температуре 37°C. По действию ингибиторов фермент был предварительно отнесен к протеиназам серинового типа, содержащим тиоловые группы (Цыманович и др., 1992).

Эффективность лонголитина была доказана в опытах *in vitro* и *in vivo*. Было показано выраженное сродство препарата к фибрину, а его внутривенное введение животным повышало фибринолитические и активаторные свойства плазмы и

доказало его локальное действие на структуру тромбов. Увеличение количества пламина в крови животных, получивших высокие дозы препарата, показывало способность препарата активировать пламиноген (Андреев и др., 1984). Лонголитин был впервые предложен как тромболитический препарат для лечения тромбозов и флеботромбозов, благодаря его способности проникать через эпидермис и подлежащие мягкие ткани в систему микроциркуляции и системный кровоток и вызывать адекватные физиологические и биохимические реакции (Подорольская и др., 2002).

При наружном применении лонголитин (как индивидуально, так и в смеси с гепарином) вызывает значительное ускорение тромболизиса, действуя локально на структуры тромба, и не влияет на гемостаз. Гепарин значительно ускорял процесс растворения тромбов только при совместном применении его с лонголитином. Так, лонголитин в 2 раза уменьшал время растворения тромба и в 4.5 раза увеличивал скорость тромболизиса. Совместное применение лонголитина и гепарина увеличивало в 30 раз тромболизис яремной вены по сравнению с контрольной группой. Биохимические показатели гемостаза (содержание фибриногена, фибринолитическая активность, время рекальцификации) практически не изменялись в процессе тромболизиса как в опыте, так и в контроле, что указывает на специфичность и селективность лонголитина (Подорольская и др., 2006).

Введение лонголитина в полость желудка и в полость рта крысам также продемонстрировало эффект достоверного увеличения фибринолити-

ческой и антикоагулянтной активности крови животных. Полученный эффект оказался пролонгированным, сохраняясь еще неделю после отмены препарата и создавая в организме животных благоприятный противотромботический фон, в отличие от свойственного внутривенному введению торможения фибринолиза по окончании курса применения. Таким образом, лонголитин может быть использован перорально как в лечебных, так и в профилактических целях (Подольская и др., 2014).

Активность по типу активаторов плазминогена также была обнаружена у протеиназ микроскопических грибов *Aspergillus foetidus*, *A. niger*, *A. repens* (Чердынцева, Егоров, 1988), *Purpureocillium lilacinum* (бывш. *Penicillium lilacinum*, Андреева и др., 1972), *Fusarium* sp. (Ландау и др., 1998; Abdel-Fattah et al., 1993) и *Tolypocladium inflatum* (Шаркова и др., 2016а).

Один из штаммов *Rhizopus microsporus* var. *tuberosus* секретировал протеиназу с молекулярной массой 24.5 кДа и оптимальной активностью при pH 7.0 и температуре 37°C. Фибринолитическая активность фермента усиливалась за счет Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} и Mn^{2+} . Напротив, ионы Zn^{2+} и Cu^{2+} частично подавляли ферментативную активность. Было показано, что фермент не только непосредственно разрушает фибрин, но также активирует плазминоген в плазмин для разложения фибрина. Результаты показывают, что чистый фермент может растворять сгусток крови и может применяться при лечении тромбоза (Zhang et al., 2015).

Среди изученных в последнее время, весьма перспективными представляются протеиназы микромицета *Sarocladium strictum* 203. Было обнаружено, что штамм способен секретировать протеолитические ферменты с незначительной неспецифической протеолитической активностью и выраженной фибринолитической и активаторной к плазминогену активностями (Корниенко и др., 2020). Препарат внеклеточных протеиназ *S. strictum* 203 состоит из трех щелочных трипсиноподобных тиолзависимых протеиназ серинового типа с различными изоэлектрическими точками 4.5, 7.2 и 11.8 и близкими значениями молекулярной массы (~35 кДа). Одна из протеиназ (протеиназа III) была негликозилированной, остальные представляли собой гликопротеины. Протеиназы различались по спектру протеолитической активности по отношению к белкам — компонентам тромбов. Предполагается, что активирующее плазминоген действие протеиназ микромицета обусловлено урокиназной активностью (Корниенко и др., 2021).

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПЛАЗМИНОПОДОБНОЙ И АКТИВАТОРНОЙ К ПЛАЗМИНОГЕНУ АКТИВНОСТЕЙ У МИКРОМИЦЕТОВ

Способность к синтезу фибринолитических ферментов как прямого направленного, так и непрямого действия распространена среди микроскопических грибов не повсеместно. Так, пример некоторых скрининговых исследований показывает, что около 2/3 исследованных культур — изолятов различных экотопов — обладают способностью к их секреции (Ландау и др., 1998; Шаркова и др., 2015).

Так, Н.С. Ландау с соавт. (Ландау и др., 1998) было установлено, что наиболее широко у мицелиальных грибов распространена общая протеолитическая (казеинолитическая) активность (выявлена у 66% исследованных культур). Фибринолитическая активность была обнаружена у 56% микромицетов при определении активности с фибрином крови человека и у 65% штаммов при определении активности с фибрином крови быка. Активаторная к плазминогену активность была выявлена у 20 и 30% исследованных штаммов, при определении активности с фибрином крови человека и быка соответственно. Таким образом, специфичность протеиназ к белкам крови животных (быка) встречается у микромицетов чаще, чем к белкам крови человека. Среди изученных микромицетов, синтезирующих протеиназы с общей протеолитической (казеинолитической) активностью, фибрин крови человека и быка могли расщеплять 70 и 71% штаммов соответственно. Подавляющее большинство микромицетов (90%), проявивших фибринолитическую активность по отношению к фибрину человека, оказалось активно и по отношению к фибрину крови быка. Было установлено, что среди штаммов микромицетов, секретирующих протеиназы с фибринолитической активностью по отношению к фибрину крови быка, число культур, протеиназы которых обладали активностью по отношению к фибрину крови человека, было меньше (78%). Активность к плазминогену крови человека и быка проявляли протеиназы с казеинолитической активностью у 25 и 36% штаммов изученных микромицетов соответственно. Среди фибринолитически активных штаммов выявлено значительное количество культур, образующих активаторные по отношению к плазминогену ферменты (34–45%). Однако среди исследованных 116 штаммов мицелиальных грибов не обнаружено ни одного, который образовывал бы только ферменты, аналогичные по действию тканевым активаторам плазминогена крови человека или быка (Ландау и др., 1998).

Т.С. Шарковой с соавт. (Шаркова и др., 2015) было показано, что лишь 26% из числа исследо-

ванных культур микромицетов из разных таксонов могут секретировать внеклеточные протеиназы, активные по отношению к фибрину. Среди изученных 83 штаммов также не было выявлено ни одного, образующего протеиназы только с активаторной к плазминогену активностью. Отмечается, что по сравнению с зигомицетами, аскомицеты оказались более активными продуцентами протеиназ фибринолитического действия. Проведенный скрининг показал, что наиболее перспективной эколого-трофической группой для поиска продуцентов фибринолитических ферментов можно считать энтомопатогенные микромицеты (Шаркова и др., 2015).

Введение в практику исследований протеолитических ферментов микромицетов фибринолитического действия хромогенных пептидных субстратов (паранитроанилидов) белков системы гемостаза для определения протеолитической активности позволило выявить различия в спектре их действия (амидолитическая активность). Так, к примеру, протеиназа *Fusarium* sp. BLB показала наибольшую активность по отношению к субстрату сериновых протеиназ широкого спектра и только в 5 раз меньшую – к субстрату плазмина (Sugimoto et al., 2007), а протеиназа *S. strictum* 203 обладала наибольшей амидолитической активностью по отношению к субстрату урокиназы и в 1.8–2.0 раза меньшей активностью к субстратам плазмина, тромбина и тканевого активатора плазминогена (Корниенко и др., 2021). Некоторые различия в амидолитической активности выявлены и у протеиназ аспергиллов. Например, протеиназа *A. oryzae* KSK-3 в 2 раза активнее гидролизовала субстрат тромбина, нежели субстрат плазмина или субстрат широкого спектра сериновых протеиназ (Shirasaka et al., 2012). Протеиназы *A. ochraceus* ВКМ F-4104D были наиболее активны по отношению к субстрату плазмина и чуть менее, – к субстрату тромбина (Осмоловский и др., 2017).

Определение субстратной специфичности внеклеточных протеиназ микромицетов по отношению к хромогенным пептидным субстратам представляется важной характеристикой, определяющей возможность направленного использования таких ферментов в медицине. В связи с этим был предложен подход к скринингу продуцентов протеиназ направленного действия, в том числе с плазминоподобной и активаторной к плазминогену активностями, базирующийся на определении в культуральной жидкости микромицетов, наряду с активностью с белковыми субстратами амидолитической активности, со специфическими хромогенными пептидными субстратами белков системы гемостаза (Osmolovskiy et al., 2018).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на существование проблемы изучения протеиназ микромицетов, активных по отношению к фибрину человека, на протяжении чуть более 60 лет она не теряет своей актуальности. Фибрин как субстрат протеолиза имеет множество способов расщепления, и места его расщепления, скорость его расщепления и величина получаемых продуктов расширяют представления не только о действии протеолитических ферментов мицелиальных грибов, но и открывают новые возможности их применения. Сведения о распространенности протеиназ, обладающих конкретными свойствами и выраженными как плазминоподобной, так и активаторной к плазминогену активностью, представляют важность для понимания эволюции протеолитических ферментов и их участия во внеклеточном пищеварении у микромицетов – изолятов различных экотопов. С медицинской точки зрения, требования, предъявляемые к ферментным препаратам микробного происхождения, очень высоки: тромболитические препараты должны обладать высокой специфичностью, эффективностью и не являться аллергенами. Действуя на белки системы гемостаза, подобные ферментные препараты не должны в осуществляемых ими реакциях образовывать токсичные для организма человека продукты и быть слишком чувствительными к плазменным ингибиторам.

Исследования последних лет, проводимые на более современном научном уровне, дают возможность получения новых препаратов протеиназ микромицетов для коррекции нарушений системы гемостаза. Изучение разных видов микромицетов позволяет найти высокоактивные штаммы, протеиназы которых способны селективно воздействовать на фибрин и плазминоген человека и других млекопитающих.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ № СП-3906.2021.4.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреева Н.А., Ушакова В.И., Егоров Н.С. Изучение протеолитических ферментов разных штаммов *Penicillium lilacium* Thom в связи с их фибринолитической активностью // Микробиология. 1972. Т. 41. № 3. С. 417–421.
- Андреев Г.В., Серебрякова Т.Н., Максимова Р.А. и др. Свойства препарата фибринолитических ферментов, полученного из культуральной жидкости несовершенного гриба *Arthrotrichum longa* // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 1983. № 1. С. 24–28.
- Андреев Г.В., Серебрякова Т.Н., Цыманович С.Г. и др. Влияние лонголитина на фибринолиз у животных // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 1984. № 3. С. 43–47.
- Батомункуева Б.П., Егоров Н.С. Выделение, очистка и разделение комплексного препарата внеклеточных протеиназ *Aspergillus ochraceus* 513 с фибринолитическими и антикоагулянтными свойствами // Микробиология. 2001. Т. 70. № 5. С. 602–606.
- Батомункуева Б.П., Егоров Н.С. Изучение препаратов внеклеточных протеиназ грибов *Aspergillus ochraceus* 513 и *Aspergillus alliaceus* 7 dN1 // Микробиология. 2002. Т. 71. № 1. С. 56–58.
- Демина Н.С., Лысенко С.В. Микроорганизмы, синтезирующие ферменты тромболитического действия // Биол. науки. 1991. № 9. С. 136–153.
- Егоров Н.С., Ушакова В.И., Андреева Н.А. Выделение и изучение некоторых свойств протеолитических ферментов, образуемых *Penicillium lilacinum* Thom // Прикл. биохим. микробиол. 1972. Т. 8. № 6. С. 854–860.
- Егоров Н.С., Ушакова В.И., Мирчинк Т.Г., Клечковская В.В. О фибринолитической и тромболитической активности плесневых грибов рода *Aspergillus* // Научн. докл. высш. школы. 1973. № 9. С. 103–105.
- Егоров Н.С., Ушакова В.И., Никольский Л.М. О способности некоторых микроорганизмов образовывать фибринолитические вещества // ДАН СССР. 1965. Т. 165. № 1. С. 217–220.
- Егоров Н.С., Ушакова В.И., Прудлов Б. Изучение образования протеолитических ферментов несовершенными грибами родов *Cladosporium*, *Fusarium* и *Alternaria* в связи с их фибринолитической активностью // Микробиология. 1971. Т. 40. № 4. С. 604–609.
- Звонарева Е.С., Осмоловский А.А., Крейер В.Г. и др. Выявление мишеней действия внеклеточных протеаз – активаторов белков системы гемостаза, образуемых микромицетами *Aspergillus ochraceus* и *Aspergillus terreus* // Биоорг. химия. 2015. Т. 41. № 5. С. 559–564.
- Имишенецкий А.А., Броцкая С.З. Селекция микроорганизмов, обладающих тромболитической активностью // Микробиология. 1969. Т. 38. № 6. С. 1043–1049.
- Касаткина И.Д., Имишенецкий А.А., Броцкая С.З., Желтова Е.Д. Мутанты *Aspergillus terricola*, образующие протеазы с фибринолитическим действием // Микробиология. 1969. Т. 38. № 5. С. 766–774.
- Клечковская В.В., Отрошко Т.А., Егоров Н.С. Протеолитические ферменты, образуемые *Aspergillus ochraceus* в связи с их плазмозоагулирующей и фибринолитической активностями // Микробиология. 1979. Т. 47. № 5. С. 820–826.
- Корниенко Е.И., Кокаева Л.Ю., Биланенко Е.Н. и др. *Sarocladium strictum* – перспективный продуцент протеолитических ферментов с выраженной фибринолитической активностью // Микол. и фитопатол. 2020. Т. 54. № 3. С. 206–213.
- Корниенко Е.И., Осмоловский А.А., Крейер В.Г. и др. Характеристика и свойства комплекса протеолитических ферментов тромболитического действия микромицета *Sarocladium strictum* // Прикл. биохим. микробиол. 2021. Т. 57. № 1. С. 46–53.
- Кудряшов Б.А., Андреев Г.В., Егоров Н.С. и др. Фибринолитические агенты, выделенные из культур некоторых сапрофитных грибов // ДАН СССР. 1963. Т. 153. № 4. С. 939–942.
- Ландау Н.С., Егоров Н.С. Образование фибринолитического агента *Aspergillus oryzae* штамм МГУ при развитии в глубинных условиях на синтетической среде // Науч. докл. высш. школы. 1965. № 3. С. 168–172.
- Ландау Н.С., Кураков А.В., Гуликова О.М. и др. Экстрацеллюлярные протеиназы микромицетов с фибринолитическими и антикоагулянтными свойствами // Микробиология. 1998. Т. 67. № 2. С. 215–220.
- Лукиянова А.А., Корниенко Е.И., Виган П.А. и др. Секреция микромицетами протеиназ с активностью, подобной активности белков системы гемостаза // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 2020. Т. 75. № 1. С. 37–42.
- Осмоловский А.А., Звонарева Е.С., Крейер В.Г. и др. Воздействие внеклеточных протеаз микромицетов рода *Aspergillus* на белки системы гемостаза // Биоорг. химия. 2014. Т. 40. № 6. С. 688–694.
- Осмоловский А.А., Звонарева Е.С., Крейер В.Г. и др. Секреция протеиназ с фибринолитической активностью микромицетами рода *Aspergillus* // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 2018. Т. 73. № 1. С. 47–51.
- Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Баранова Н.А., Егоров Н.С. Свойства внеклеточных плазминоподобных протеиназ микромицета *Aspergillus ochraceus* // Прикл. биохим. микробиол. 2017. Т. 53. № 4. С. 373–379.
- Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Баранова Н.А. и др. Свойства внеклеточной протеиназы – активатора протеина С плазмы крови, образуемой микромицетом *Aspergillus ochraceus* // Прикл. биохим. микробиол. 2015. Т. 51. № 1. С. 86–92.
- Павлюкова Е.Б., Белозерский М.А., Дунаевский Я.Е. Внеклеточные протеолитические ферменты мицелиальных грибов // Биохимия. 1998. Т. 63. № 8. С. 1059–1089.
- Пленина Л.В., Гаврилов О.К., Кручинский Н.Г. и др. Клинические испытания тромболитического препарата грибного происхождения – триаза // Усп. мед. микол. 2006. № 7. С. 20–21.
- Подорольская Л.В., Серебрякова Т.Н., Шаркова Т.С. Действие лонголитина – тромболитического препарата из низшего сапротрофного гриба *Arthrotrichum longa* на фибринолиз и гемостаз у крыс при пероральном применении // Тромбоз, гемостаз и реология. 2014. Т. 4. № 60. С. 67–73.

- Подорольская Л.В., Серебрякова Т.Н., Шаркова Т.С. и др. Тромболитический эффект лонголитина на модели экспериментального тромбоза у крысы и кроликов при наружном применении (потенцирующее влияние гепарина) // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 2006. № 3. С. 11–16.
- Подорольская Л.В., Шаркова Т.С., Андреев Г.В., Серебрякова Т.Н. Гемостаз и фибринолиз при наружном применении тромболитического препарата лонголитина // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 2002. № 2. С. 11–15.
- Попова Е.А., Крейер В.Г., Комаревцев С.К. и др. Свойства высокоактивной в отношении фибриллярных белков внеклеточной протеиназы, образуемой микромицетом *Aspergillus ustus* 1 // Прикл. биохим. микробиол. 2021. Т. 57. № 2. С. 138–144.
- Селезнева А.А., Большакова М.Д. Протеолитический комплекс *Aspergillus terricola* // Прикл. биохим. микробиол. 1986. Т. 22. № 1. С. 3–11.
- Серебрякова Т.Н., Андреев Г.В., Максимова Р.А., Степанова Ц.Н. Активаторные свойства протеиназы, образуемой культурой сапрофитного гриба *Trichothecium roseum* Lk. ex Fr. // Прикл. биохим. микробиол. 1977. Т. 12. № 3. С. 398–404.
- Степанова Ц.Н., Максимова Р.А., Юликова Е.П. и др. Фракционирование препарата фибринолитических ферментов “Трихолизина”, образуемого *Trichothecium roseum* Lk. ex Fr. на карбоксиметил-сефадексе С-50 // Прикл. биохим. микробиол. 1976. Т. 12. № 3. С. 407–410.
- Струкова С.М., Андреев Г.В. Исследования тромболитической активности аспергиллина М при экспериментальном тромбозе // Арх. патол. 1965. № 4. С. 23–29.
- Ушакова В.И., Далько Л.Д., Егоров Н.С. Изучение протеазного комплекса, синтезируемого *Aspergillus kanagawaensis*, в связи с его фибринолитической активностью // Науч. докл. высш. школы. 1974. Т. 8. С. 93–97.
- Цыманович С.А., Никандров В.Н., Максимова Р.А. и др. Физико-химические свойства тромболитического препарата лонголитина // Вопр. мед. химии. 1992. Т. 38. С. 44–45.
- Чердынцева Т.А., Егоров Н.С. Образование грибами родов *Aspergillus*, *Acremonium*, *Verticillium* внеклеточных протеаз, свертывающих плазму крови и лизирующих кровяные сгустки // Микробиология. 1988. Т. 57. № 4. С. 574–578.
- Шамрайчук И.Л., Белякова Г.А., Еремина И.М. и др. Протеолитические ферменты грибов и их ингибиторы как перспективные биоцидные средства антифунгального действия // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 2020. Т. 75. № 3. С. 123–130.
- Шаркова Т.С., Матвеева Э.О., Крейер В.Г. и др. Образование протеиназ – активаторов плазминогена микроскопическим грибом *Tolyrocladium inflatum* // Прикл. биохим. микробиол. 2016а. Т. 52. № 1. С. 38–43.
- Шаркова Т.С., Корниенко Е.И., Осмоловский А.А. и др. Морфофизиологические особенности микромицета *Arthrobotrys longa* – продуцента протеолитического комплекса тромболитического действия лонголитин // Микробиология. 2016б. Т. 85. № 2. С. 171–176.
- Шаркова Т.С., Кураков А.В., Осмоловский А.А., Матвеева Э.О. и др. Скрининг продуцентов протеиназ с фибринолитической и коллагенолитической активностями среди микромицетов // Микробиология. 2015. Т. 84. № 3. С. 316–322.
- Abdel-Fattah A.F., Ismail A.S. Production of proteolytic enzymes with special reference to fibrinolytic enzymes by fungi // Microbiol. Esp. 1983. V. 36. № 3–4. P. 59–64.
- Abdel-Fattah A., Ismail A.M.S., Salch S.A. Purification and properties of two fibrinolytic enzymes from *Fusarium oxysporum* N.R.C.J. // Zbl. Microbiol. 1993. V. 148. № 2. P. 123–128.
- Abdel-Fattah A.F., Ismail A.S. Preparation and properties of fibrinolytic enzymes produced by *Cochliobolus lunatus* // Biotechnol. Bioeng. 1984. V. 26. P. 37–40.
- Afini A.V.M., Sooraj S.N., Smitha K.V., Kunhi A.A.M. Production and partial characterization of fibrinolytic enzyme from a soil isolate *Aspergillus carbonarius* S-CSR-0007 // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2016. V. 8. № 12. P. 142–148.
- Ahmad M.S., Noor Z.M., Ariffin Z.Z. Isolation and identification fibrinolytic protease endophytic fungi from *Hibiscus* leaves in Shah Alam // Int. J. Biol. Biomol. Agric. Food. Biotech. Eng. 2014. V. 8. № 10. P. 1109–1112.
- Ali M.R., Hossain M.S., Islam M.A. et al. Aspect of thrombolytic therapy: a review // Sci. World J. 2014. V. 2014. A. 586510.
- Baggio L.M., Panagio L.A., Gasparin F.G.M. et al. Production of fibrinogenolytic and fibrinolytic enzymes by a strain of *Penicillium* sp. isolated from contaminated soil with industrial effluent // Acta Sci. Health Sci. 2019. V. 41. P. e40606.
- Bergkvist R., Svärd P.O. Studies on the thrombolytic activity of a protease from *Aspergillus oryzae* // Acta Physiol. Scand. 1964. V. 60. P. 363–371.
- Cesarman-Maus G., Hajjar K.A. Molecular mechanisms of fibrinolysis // Brit. J. Haematol. 2005. V. 129. P. 307–321.
- Chandrashekhar N., Hariharan P. Production, purification and characterization of fibrinolytic protease from *Fusarium* spp. CSN-6 through solid-state fermentation // Int. J. Eng. Res. Technol. 2019. V. 8. № 10. P. 192–198.
- Chapin J.C., Hajjar K.A. Fibrinolysis and the control of blood coagulation // Blood Rev. 2015. V. 29. № 1. P. 17–24.
- Chimbekujwo K.I., Ja'afaru M.I., Adeyemo O.M. Purification, characterization and optimization conditions of protease produced by *Aspergillus brasiliensis* strain BCW2 // Sci. Afr. 2020. V. 8. P. e00398.
- Craik C.S., Page M.J., Madison E.L. Proteases as therapeutics // Biochem. J. 2011. V. 435. P. 1–16.
- Da Silva M.M., Rocha T.A., Moura D.F. et al. Effect of acute exposure in swiss mice (*Mus musculus*) to a fibrinolytic protease produced by *Mucor subtilissimus* UCP 1262: an histomorphometric, genotoxic and cytological approach // Reg. Toxicol. Pharmacol. 2019. V. 103. P. 282–291.
- De Souza P.M., De Assis Bittencourt M.L., Caprara C.C., De Freitas M. A biotechnology perspective of fungal proteases // Braz. J. Microbiol. 2015. V. 46. № 2. P. 337–346.

- Deng Y., Liu X., Katrolia P., Kopparapu N.K. et al. A dual-function chymotrypsin-like serine protease with plasminogen activation and fibrinolytic activities from the GRAS fungus, *Neurospora sitophila* // Int. J. Biol. Macromol. 2018. V. 109. P. 1338–1343.
- Dos Santos Aguilar J.G., Sato H.H. Microbial proteases: production and application in obtaining protein hydrolysates // Food Res. Int. 2018. V. 103. P. 253–262.
- El-Aassar S.A. Production and properties of fibrinolytic enzyme in solid state cultures of *Fusarium pallidoroseum* // Biotech. Lett. 1995. V. 17. № 5. P. 943–948.
- El-Aassar S.A., El-Badry H.M., Abdel-Fattah A.F. The biosynthesis of proteases with fibrinolytic activity in immobilized cultures of *Penicillium chrysogenum* H9 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1990. V. 33. P. 26–30.
- Fayek K.I., Foda M.S., El Naggar M.R. Production physiology and properties of a novel fungal fibrinolytic enzyme // Zeitschr. Allgem. Mikrobiol. 1976. V. 16. № 6. P. 416–423.
- Frisch E.P. Clinical pharmacology of the thrombolytic enzyme preparation brinase // Semin. Thromb. Hemost. 1989. V. 15. № 3. P. 341–346.
- Gopinath S.M., Suneetha T.B., Ashwini patil G.M. Exploration of newer substrate for fibrinolytic enzyme production by solid-state fermentation using *Penicillium chrysogenum* SGAD12 // J. Res. Biol. 2011. V. 1. № 4. P. 242–245.
- Grigorov I., Petrunova S., Velianov D. et al. Fibrinolytic and proteolytic activity of fungi of the group Aspergillaceae // Izv. Mikrobiol. Inst. (Sofia). 1969. V. 20. P. 301–310.
- Hariharan P., Chandrashekhar N., Viresh Sharma A. et al. Isolation, production and purification of new thrombolytic enzyme from *Cladosporium* spp. // Eur. J. Biotechnol. Biosci. 2018. V. 6. № 2. P. 01–04.
- Ives D.A.J., Tosony A.L. Purification of CA-7, a thrombolytic fungal protease // Can. J. Biochem. 1967. V. 45. P. 1055–1065.
- Kim H.C., Choi B.-S., Sapkota K. et al. Purification and characterization of a novel, highly potent fibrinolytic enzyme from *Paecilomyces tenuipes* // Proc. Biochem. 2011. V. 46. № 8. P. 1545–1553.
- Klöcking H.P., Markwardt F. Thrombolytic effect of a protease from *Aspergillus ochraceus* // Folia Haematol. Int. Mag. Klin. Morphol. Blutforsch. 1971. V. 95. № 2. P. 179–186.
- Klöcking H.P., Markwardt F., Hentschel H. Studies on the fibrinolytic effect of ocrase // Acta Biol. Med. Ger. 1981. V. 40. № 9. P. 1161–1166.
- Kotb E. The biotechnological potential of fibrinolytic enzymes in the dissolution of endogenous blood thrombi // Biotechnol. Prog. 2014. V. 30. № 3. P. 656–672.
- Kotb E., Helal G.E.-D.A., Edries F.M. Screening for fibrinolytic filamentous fungi and enzymatic properties of the most potent producer, *Aspergillus brasiliensis* AUMC 9735 // Biologia. 2015. V. 70. № 12. P. 1565–1574.
- Kudrjashov B.A., Liapina L.A., Klöcking H.P. Fibrinolytic properties of a heparin-ocrase complex // Folia Haematol. Int. Mag. Klin. Morphol. Blutforsch. 1976. V. 103. № 4. P. 573–582.
- Lal V. Fibrinolytic drug therapy in the management of intravascular thrombosis, especially acute myocardial infarction. A review // Asian J. Pharm. Clin. Res. 2017. V. 2. A. 555593.
- Larcher G., Bouchara J.-P., Annaix V., Symoens F. et al. Purification and characterization of a fibrinogenolytic serine proteinase from *Aspergillus fumigatus* culture filtrate // FEBS Lett. 1992. V. 308. № 1. P. 65–69.
- Larcher G., Cimon B., Symoens F., Tronchin G. et al. A 33 kDa serine proteinase from *Scedosporium apiospermum* // Biochem. J. 1996. V. 315. P. 119–126.
- Lin H., Xu L., Yu S. et al. Therapeutics targeting the fibrinolytic system // Exp. Mol. Med. 2020. V. 52. P. 367–379.
- Mosesson M.W. Fibrinogen and fibrin structure and functions // J. Thromb. Haemost. 2005. V. 3. № 8. P. 1894–1904.
- Mótyán J.A., Tóth F., Tózsér J. Research applications of proteolytic enzymes in molecular biology // Biomolecules. 2013. V. 3. № 4. P. 923–942.
- Nascimento T.P., Conniff A.E.S., Moura J.A.S. et al. Protease from *Mucor subtilissimus* UCP 1262: evaluation of several specific protease activities and purification of a fibrinolytic enzyme // An. Acad. Bras. Cienc. 2020. V. 92. № 4. P. e20200882.
- Nascimento T.P., Sales A.E., Porto T.S. et al. Purification, biochemical, and structural characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Mucor subtilissimus* UCP 1262 // Bioproc. Biosyst. Eng. 2017. V. 40. № 8. P. 1209–1219.
- Nascimento T.P., Sales A.E., Porto T.S. et al. Production and characterization of new fibrinolytic protease from *Mucor subtilissimus* UCP 1262 in solid-state fermentation // Adv. Enz. Res. 2015. V. 3. P. 81–91.
- Osmolovskiy A.A., Lukianova A.A., Zvonareva E.S. et al. Combined microbiological approach to screening of producers of proteases with hemostasis system proteins activity among micromycetes // Biotechnol. Rep. 2018. V. 19. P. e00265.
- Palanivel P., Ashokkumar L., Balagurunathan R. Production, purification and fibrinolytic characterization of alkaline protease from extremophilic soil fungi // Int. J. Pharm. Bio. Sci. 2013. V. 4. № 2. P. 101–110.
- Peng Y., Yang X., Zhang Y. Microbial fibrinolytic enzymes: an overview of source, production, properties, and thrombolytic activity *in vivo* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2005. V. 69. P. 126–132.
- Pisano M.A., Oleniacz W.S., Mason R.T. et al. Enzyme production by species of *Cephalosporium* // Appl. Microbiol. 1963. V. 11. P. 111–115.
- Rao M.B., Tanksale A.M., Ghate M.S., Deshpande V.V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1998. V. 62. № 3. P. 597–635.
- Rashmi B.S., Liny P. Production and characterization of novel fibrinolytic enzyme from different soil fungal sp. // Int. J. Pharm. Bio. Sci. 2013. V. 4. № 3. P. 454–463.
- Roschlau W. Thrombolytic therapy with CA-7, a fibrinolytic enzyme from *Aspergillus oryzae* // Can. Med. J. 1968. V. 98. № 16. P. 757–761.
- Semenova T.A., Dunaevsky Y.E., Beljakova G.A., Belozersky M.A. Extracellular peptidases of insect-associated fungi and their possible use in biological control programs and as pathogenicity markers // Fung. Biol. 2020. V. 124. № 1. P. 65–72.

- Semenova T.A., Dunaevsky Y.E., Beljakova G.A. et al. Extracellular peptidases as possible markers of fungal ecology // Appl. Soil Ecol. 2017. V. 113. P. 1–10.
- Sharma C., Salem G.E.M., Sharma N. et al. Thrombolytic potential of novel thiol-dependent fibrinolytic protease from *Bacillus cereus* RSA1 // Biomolecules. 2020. V. 10. № 3. P. 1–23.
- Shilpa H.K., Ambekar J.G., Dongre N.N., Siddalingeshwara K.G. Application of fibrinolytic enzyme from *Aspergillus tamarii* – in vitro studies // Eur. J. Pharm. Med. Res. 2019. V. 6. № 12. P. 560–562.
- Shirakara N., Naitou M., Okamura K. et al. Purification and characterization of a fibrinolytic protease from *Aspergillus oryzae* KSK-3 // Mycoscience. 2012. V. 53. № 5. P. 354–364.
- Srilakshmi J., Madhavi J., Lavanya S., Ammani K. Commercial potential of fungal protease: past, present and future prospects // J. Pharm. Chem. Biol. Sci. 2014. V. 2. № 4. P. 218–234.
- Stefanini M., Marin H. Fibrinolysis. I. Fibrinolytic activity of extracts from non-pathogenic fungi // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1958. V. 99. № 2. P. 504–507.
- Stefanini M., Adamis D.M., Soardi F. et al. Purification of Aspergillin O // Lancet. 1959. V. 274. № 7100. P. 443–444.
- Sugimoto S., Fujii T., Morimiya T. et al. The fibrinolytic activity of a novel protease derived from a tempeh producing fungus, *Fusarium* sp. BLB // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2007. V. 71. № 9. P. 2184–2189.
- Svärd P.-O. Basic biochemical and pharmacological properties of brinase // J. Clin. Pathol. 1972. V. 25. № 7. P. 633–634.
- Teisseyre E., Latallo Z.S., Kopeć M. Studies on the proteolysis of fibrinogen and fibrin by *Aspergillus ochraceus* enzyme as compared to the action of plasmin // Folia Haematol. 1974. V. 101. № 1. P. 99–110.
- Tharwat N.A. Purification and biochemical characterization of fibrinolytic enzyme produced by thermophilic fungus *Oidiodendron flavum* // Biotechnology. 2006. V. 5. № 2. P. 160–165.
- Töpfer H., Piesche K., Schäfer G. Isolation of a fibrinolytically active protease from *Aspergillus ochraceus* // Folia Haematol. 1971. V. 95. № 2. P. 174–178.
- Ueda M., Kubo T., Miyatake K., Nakamura T. Purification and characterization of fibrinolytic alkaline protease from *Fusarium* sp. BLB // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2007. V. 74. P. 331–338.
- Ventakatanagaraju E., Divakar G. An overview on microbial fibrinolytic proteases // Int. J. Pharm. Sci. Res. 2014. V. 5. № 3. P. 643–656.
- Ventakatanagaraju E., Divakar G., Swetha S. Overview on fibrinolytic proteases purification strategies // Int. J. Pharm. Res. Sci. 2014. V. 2. № 3. P. 232–246.
- Wu B., Xu J. Antithrombotic effect of a novel protein from *Fusarium* sp. CPCC 480097 in a rat model of artery-vein bypass thrombosis // Pharm. Biol. 2012. V. 50. № 7. P. 866–870.
- Wu B., Wu L., Chen D., Yang Z., Luo M. Purification and characterization of a novel fibrinolytic protease from *Fusarium* sp. CPCC 480097 // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2009a. V. 36. P. 451–459.
- Wu B., Wu L., Ruan L., Ge M. et al. Screening of endophytic fungi with antithrombotic activity and identification of a bioactive metabolite from the endophytic fungal strain CPCC 480097 // Curr. Microbiol. 2009b. V. 58. P. 522–527.
- Xiao-Ian L., Lian-xiang D., Fu-ping L. et al. Purification and characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Rhizopus chinensis* 12 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2005. V. 67. P. 209–214.
- Yadav S., Siddalingeshwara K.G. Biosynthesis of clot busting fibrinolytic enzyme from *Aspergillus japonicum* by supplementing carbon sources // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2016. V. 5. № 3. P. 860–864.
- Yike I. Fungal proteases and their pathophysiological effects // Mycopathologia. 2011. V. 171. P. 299–323.
- Zaikina N.A., Shataeva L.K., Elinov N.P., Samsonov G.V. Some properties of the protease from *Aspergillus terricola* // Mycopathologia. 1975. V. 56. № 3. P. 153–157.
- Zhang S., Wang Y., Zhang N. et al. Purification and characterisation of a fibrinolytic enzyme from *Rhizopus microsporus* var. *tuberosus* // Food. Technol. Biotechnol. 2015. V. 53. № 2. P. 243–248.

Proteolytic Enzymes of Mycelial Fungi with Plasmin-Like and Plasminogen-Activator Activity

A. A. Osmolovskiy^{a, *}, V. G. Kreyer^a, N. A. Baranova^a, and N. S. Egorov^b

^a Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

^b International Biotechnological Center, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*e-mail: aosmol@mail.ru

The potential of microscopic fungi for the secretion of proteolytic enzymes for medical purposes, namely proteinases with thrombolytic, fibrinolytic and plasminogen activator activity, is considered. The data on the most well-known preparations of such proteinases from the time of obtaining the first one (1959) to the present are analyzed and summarized. The key properties of such enzymes and preparations are described, indicating the possibility of their use in medicine.

Keywords: micromycete proteinases, fibrinolytic enzymes, plasminogen activators, thrombolysis, *Aspergillus*

УДК 633.11:581.143.5

КУЛЬТУРА *in vitro* АВТОНОМНЫХ ЗАРОДЫШЕЙ КАК МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРЕСС-УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К АБИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ (НА ПРИМЕРЕ ЗЛАКОВ)

© 2021 г. Н. Н. Круглова¹, *, А. Е. Зинатуллина¹

¹Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

*e-mail: kruglova@anrb.ru

Поступила в редакцию 25.03.2021 г.

После доработки 15.04.2021 г.

Принята к публикации 15.04.2021 г.

Одно из направлений экспериментальной оценки стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам в модельных условиях культуры *in vitro* состоит в использовании в качестве эксплантов зиготических зародышей той или иной стадии развития (эмбриокультура *in vitro*). Особенно перспективно в этом отношении культивирование *in vitro* незрелых зародышей, находящихся в критической стадии относительной автономности. Такой зародыш, независимый от физиологических факторов материнского организма, способен самостоятельно дать начало полноценному растению в адекватных условиях *in vitro* и далее *ex vitro*. Это позволяет получать регенеранты напрямую, минуя дополнительный этап формирования морфогенных каллусов. В статье на примере хлебных злаков представлен обзор литературных и собственных данных по выявлению стадии относительной автономности эмбриогенеза *in vivo*, а также по использованию относительно автономных зародышей в оценке засухоустойчивости в селективных условиях *in vitro*. Подчеркивается, что перспективность использования эмбриокультуры *in vitro* как модельной системы в оценке стресс-устойчивости растений определяется тем, что зародыш обладает всеми морфогенетическими потенциями взрослого организма, а также сходством морфогенетических реакций растений *in vivo* и эксплантов/регенерантов *in vitro*, согласно принципу универсальности морфогенеза растений в естественных и экспериментальных условиях.

Ключевые слова: эмбриогенез, автономность зародыша, эмбриокультура *in vitro*, стресс, засуха, устойчивость, злаки

DOI: 10.31857/S0042132421050057

ВВЕДЕНИЕ

В условиях экстремальных колебаний факторов внешней среды (Глобальные изменения климата ..., 2009; Wang et al., 2019) проблема стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам и особенно засухе чрезвычайно актуальна, о чем свидетельствует обширнейшая литература (некоторые обзоры последних лет, выполненные по результатам исследований хлебных злаков: Пикало и др., 2020; Raveena et al., 2019; Sallam et al., 2019; Sattar et al., 2019).

Растениями, ведущими прикрепленный образ жизни, на различных уровнях организации вырабатаны морфологические, физиологические, биохимические и иные способы стратегической адаптации к абиотическим стрессам (Wani et al., 2016; Yadav, Sharma, 2016; Sattar et al., 2019; Ghorbel et al., 2020; Plant life ..., 2020; Jogawat et al., 2021; Yadav et al., 2021). Тем не менее, исследователями активно разрабатываются способы повышения

устойчивости к абиотическим стрессам и создания адаптивных сортов экономически важных сельскохозяйственных культур и особенно хлебных злаков как основного продовольственного ресурса.

Успех селекции на устойчивость к стресс-факторам в значительной степени зависит от правильной оценки этого признака у создаваемых сортов (Драгавцев, 2019; Sallam et al., 2019). Однако решение этой проблемы вызывает трудности. В отличие от устойчивости растений к биотическим стрессам, которая в основном зависит от моногенных признаков, сложные ответы растений на абиотические стрессы относятся к мультигенным (Дубровная, 2017; Falaknaz et al., 2019; Wang et al., 2019). В формировании признака толерантности к абиотическому стрессору у растений задействован ряд транскрипционных факторов из семейств NAC, AP2/EREBP, MYB, WRKY, bZIP, ERF/DREB и других, при этом часть из них участвует в общем контроле развития растения

или отдельных органов (Gupta et al., 2018; Baillo et al., 2019; Kimotho et al., 2019; Yang et al., 2021). Толерантность к абиотическим стрессам – сложный признак и потому, что стрессор воздействует на различные молекулярные, биохимические и физиологические события, вовлеченные в процессы роста и развития растения. В целом, неспецифические реакции растений на абиотические стрессы трудно контролировать и тем более управлять ими (Инжеваткин, Савченко, 2016).

Для хлебных злаков разработаны различные способы оценки устойчивости генотипов к абиотическим стрессам в полевых условиях *in vivo*. Прямым показателем является урожай зерна (Грабовец, Фоменко, 2016; Demydov et al., 2021 и мн. др.), однако влияние стресса оценивается и по косвенным морфологическим, фенотипическим и количественным показателям растений на разных стадиях развития (Грабовец, Фоменко, 2016; Mehraban et al., 2018; Chaichi et al., 2019; Grzesiak et al., 2019 и др.), а также с использованием генетических и молекулярно-генетических подходов (Gahlaut et al., 2016; Eid, 2018; Sonmezoglu, Terzi, 2018; Dehghani et al., 2019; Falaknaz et al., 2019; Leng, Zhao, 2019; Sakkar et al., 2019) и привлечением математического аппарата (Abdolshahi et al., 2015; El-Mowafi et al., 2021). Предложены физиологические способы прогнозирования полевой устойчивости злаковых растений, например, к стресс-фактору засухи по содержанию в листьях гормона стресса абсцизовой кислоты (Веселов и др., 2011) и аминокислот (Yadav et al., 2019), показателю устьичной проводимости (Кудоярова и др., 2013) или в условиях моделирования засухи (Алабушев и др., 2019).

В то же время оценка устойчивости злаков, как и других растений, к абиотическим стресс-факторам в полевых условиях имеет свои ограничения. Для окончательного вывода об устойчивости/неустойчивости конкретного генотипа требуются многолетние трудоемкие исследования и наблюдения. Кроме того, год от года могут меняться характер и степень воздействия изучаемого стресс-фактора, например, формироваться первичная и вторичная виды засухи (Пикало и др., 2020).

Предложен ряд методов физиологической оценки стресс-устойчивости злаков в лабораторных условиях. Традиционным способом такой оценки, применяющимся, как правило, для ранней диагностики селекционного материала, является проращивание зерновок и анализ развития проростков *in situ* в растворах осмотиков, имитирующих, например, недостаток воды (Парфенова и др., 2018; Сельдиминова, 2019 и мн. др.). Несмотря на относительность результатов, использование таких методов позволяет выделить перспективные устойчивые образцы, а комплексная оценка устойчивости одних и тех же генотипов

злаков и в лабораторных *in situ*, и полевых *in vivo* условиях (Баймагамбетова, Булатова, 2013; Бычкова, Хлебцова, 2015) повышает достоверность результатов. Из более точных, хотя и более сложных методов ранней диагностики устойчивости генотипов злаков к стрессам в лабораторных условиях *in situ* можно отметить использование цитологических и молекулярных маркеров, выявляемых с помощью световой флуоресцентной и электронной микроскопии (Kononenko et al., 2020).

В последние годы исследователи все чаще обращаются к такому направлению диагностической лабораторной оценки стресс-устойчивости злаковых растений, как использование биотехнологических методов культуры *in vitro* клеток, тканей и органов (Дубровная, 2017; Основы биотехнологии ..., 2017; Круглова и др., 2018а; Пикало и др., 2020; Perez-Clemente, Gomez-Cadenas, 2012; Maleki et al., 2019). Особенно обширные исследования посвящены анализу *in vitro* засухоустойчивости представителей этого семейства (Россеев, 2011; Тагиманова и др., 2013; Круглова и др., 2019б; Farshadfar et al., 2012; Pykalo et al., 2018, 2019). Кроме того, эффективность методов культуры *in vitro* злаков показана по отношению к действию засоления (Khuder, AL-Taei, 2015; Alhasnawi et al., 2017; Kononenko et al., 2020), гипоксии и апоксии (Вартапетян и др., 2014), повышенной концентрации ионов токсических металлов (Баранова и др., 2015) и других стресс-факторов.

Использование методов культуры *in vitro* в качестве экспериментальных способов оценки стресс-устойчивости эксплантов имеет ряд преимуществ. Помимо возможности проводить исследования большой выборки генотипов практически круглый год в одних и тех же стандартизированных условиях и изучать реакцию большого количества эксплантов на относительно небольшой площади, к таким преимуществам следует отнести возможность осуществлять строгий контроль и манипуляцию эксплантами (и далее регенерантами) на всех этапах их развития *in vitro*. Параметры условий культуры *in vitro*, заданные аналогично экстремальным условиям *in vivo*, дают возможность детально анализировать реакции эксплантов/регенерантов на действие конкретных абиотических стрессов (в ряде случаев – нескольких стресс-факторов в комплексе), что сложно изучить в тепличных и полевых условиях из-за изменчивого характера действия этих стрессов. Кроме того, в культуре *in vitro* при добавлении стресс-агента в селективную среду происходит непосредственное взаимодействие со стрессором практически всех клеток экспланта с их генетическим аппаратом. Важно и то, что в результате использования селекции *in vitro* возможно получение регенерантов, устойчивых сразу к нескольким стрессовым факторам (Зинченко и др., 2013; Perez-Clemente, Gomez-Cadenas, 2012;

Merks, Guravage, 2013; Abdelnour-Esquivel et al., 2020). Основным преимуществом, по нашему мнению, следует считать сходство морфогенетических реакций растений *in vivo* и эксплантов/регенерантов *in vitro*, согласно принципу универсальности морфогенеза растений в естественных и экспериментальных условиях (Батыгина, 2014).

Безусловно, использование культивируемых в селективных условиях эксплантов/регенерантов, как и любой метод, имеет свои ограничения. Так, введение эксплантов в культуру — сам по себе стрессовый фактор, предполагающий адаптацию клеток к условиям *in vitro*. Кроме того, при длительном культивировании возможны снижение или даже потеря клетками морфогенетического потенциала. Ограничения вносят и изменчивость генома, и гетерогенность культивируемых клеток, обусловленная эпигенетическими особенностями экспланта. Условия селективных систем *in vitro* могут индуцировать изменения морфологических, биохимических, физиологических и вызванных соматоклональной изменчивостью генетических показателей полученных регенерантов (Дубровная, 2017; Круглова и др., 2018а; Рукало, Dubrovna, 2018; Ikeuchi et al., 2019). Все это свидетельствует о важности тщательного изучения полученных регенерантов, обязательного проведения полевых испытаний для подтверждения их генетической стабильности.

Тем не менее, в селективных условиях культуры *in vitro* получены регенеранты злаков, толерантные к различным экологически неблагоприятным абиотическим факторам, например, засухе (Россеев и др., 2011; Никитина и др., 2014; Шуплецова, Щенникова, 2016; Круглова и др., 2019б; Farshadfar et al., 2012; Рукало et al., 2018, 2019). При этом подтверждено сохранение повышенной толерантности к засухе у потомков большинства форм, полученных в результате клеточной селекции *in vitro*, что указывает на мутационную природу толерантности (Дубровная, 2017).

Отдельное направление оценки стресс-устойчивости растений в условиях культуры *in vitro* связано с использованием так называемой эмбриокультуры *in vitro*. Безусловная перспективность этого направления определяется тем, что зародыш обладает всеми морфогенетическими потенциалами взрослого организма (Терехин, 1996), в том числе способностью противостоять стрессам, хотя эта способность может и не реализоваться.

Многочисленными исследованиями выявлены два пути формирования регенерантов в эмбриокультуре *in vitro* — прямой и непрямой (последний состоит в образовании регенерантов через этап формирования морфогенных каллусов). Ранее авторами данной статьи были выполнены обзоры, посвященные анализу данных по изучению устойчивости злаков к стрессовым абиотическим

факторам с использованием морфогенных зародышевых каллусов *in vitro* и полученных из них регенерантов (Круглова и др., 2018а, 2021а; Зинатуллина, 2020). Цель данной работы — анализ литературных и собственных данных, посвященных оценке засухоустойчивости злаков с использованием регенерантов, полученных в эмбриокультуре *in vitro* напрямую, минуя этап формирования морфогенных каллусов.

КУЛЬТУРА *in vitro* АВТОНОМНЫХ ЗАРОДЫШЕЙ В ОЦЕНКЕ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ЗЛАКОВ

Эмбриокультура in vitro
как биотехнологический прием

Метод эмбриокультуры состоит в культивировании *in vitro* разновозрастных зиготических зародышей (Plant embryo culture ..., 2011). Ханнинг (Hannig, 1904, по: Raghavan, 2003) был первым, кто выделил в асептических условиях зрелые зиготические зародыши растений родов *Raphanus* и *Cochlearia* и культивировал их на дополненной сахарозой минеральной среде до получения проростков. Далее этот метод активно разрабатывался многими исследователями на примере представителей различных семейств как покрытосеменных, так и голоосеменных растений. История развития метода эмбриокультуры *in vitro* подробно изложена в работах Рагхавана (Raghavan, 2003), Хэслэма и Еунга (Haslam, Yeung, 2011).

В настоящее время метод культивирования *in vitro* разновозрастных зародышей используется экспериментаторами в целях, например, изучения физиологических факторов, контролирующих морфогенез и дифференциацию зародышей; исследования развития зародышей, полученных путем экстракорпорального оплодотворения яйцеклеток; анализа преждевременного прорастания семян; разработки способов преодоления покоя семян (Батыгина, 2014; Raghavan, 2003; Haslam, Yeung, 2011; Hussain et al., 2012). Этот метод незаменим как прием “спасения зародыша” (embryo rescue) по отношению к гаплоидным зародышам ячменя, полученным с помощью так называемого метода *bulbosum* путем межвидового скрещивания культурных форм ячменя *Hordeum vulgare* L. с гаплопродюсером — многолетней самостерильной луковичной формой ячменя *Hordeum bulbosum* 2х (Kumari et al., 2018). Метод хорошо зарекомендовал себя в биотехнологических исследованиях злаков для получения и сохранения амфидиплоидных и интерплоидных межвидовых гибридов (Дьячук и др., 2009) и как эффективный способ получения растений-регенерантов через этап формирования морфогенных каллусов из незрелых зародышей (подробнее см.: Круглова и др., 2021б).

В то же время, метод эмбриокультуры *in vitro* — один из немногих, если не единственный, биотехнологический способ прямого получения растений-регенерантов злаков, минуя этап формирования морфогенных каллусов. Исследователи при этом используют как зрелые (Rostami et al., 2013; Delporte et al., 2014 и др.), так и незрелые (Круглова, Сельдиминова, 2011; Игнатова, 2011; Голева и др., 2014; Никитина, Хлебцова, 2014; Бычкова, 2016; Бычкова и др., 2016; Основы биотехнологии ..., 2017; Круглова и др., 2019б; Zuraida et al., 2011; Zhang et al., 2015; Noga et al., 2016) зародыши представителей этого семейства. Выявлено, что в данном случае более эффективна эмбриокультура *in vitro* именно незрелых зародышей.

Следует отметить, что при биотехнологических исследованиях злаков с применением культивирования *in vitro* незрелых зародышей, за редким исключением (Круглова и др., 2019б; Zuraida et al., 2011), авторы не сообщают, на какой именно стадии развития находятся инокулируемые зародыши. Как правило, указывается время, прошедшее от опыления до инокуляции зародышей на индукционную среду, реже — длина инокулируемых зародышей; в ряде публикаций сообщается о том, что в качестве экспланта использован “незрелый зародыш”, без детализации. Причина этого заключается, по-видимому, в отсутствии общепринятой периодизации эмбриогенеза злаков, во-первых, основанной на детальных гистологических данных с выявлением четких морфологических и временных границ стадий эмбриогенеза, во-вторых, удобной в биотехнологической практике, особенно при массовой сезонной работе. Заметим, что нами (Круглова, 2012б; Kругlova, 2013) разработана такая периодизация для яровой мягкой пшеницы, пока не получившая широкого распространения.

В то же время, данные о стадии эмбриогенеза, на наш взгляд, принципиально важны при использовании эмбриокультуры *in vitro*, когда необходимо инокулировать незрелый зародыш, способный напрямую дать начало проростку и далее растению-регенеранту. Действительно, разновозрастные зародыши одного и того же генотипа по-разному реагируют на аналогичные условия культивирования *in vitro*, как это выявлено, например, в ходе специальных детальных исследований обширной коллекции сортов и гибридных линий яровой мягкой пшеницы (Круглова, 2012а,б, 2014; Круглова и др., 2018б,в). В контексте анализируемой проблемы важно охарактеризовать ту стадию развития, когда незрелый зародыш способен самостоятельно дать начало полноценному растению. Рассмотрим этот важный вопрос на примере злаков.

Выявление критической стадии относительной автономности как методологический подход к прямому получению регенерантов в эмбриокультуре in vitro

Развитие зародыша растений представляет собой единый процесс, в результате которого из исходной тотипотентной клетки — зиготы — формируется зрелый зародыш, согласно определенным паттернам клеточных делений (Эмбриология цветковых ..., 2000; Батыгина, 2014; Methods in ..., 2008; De Vries, Weijers, 2017). Эмбриогенетические законы (закон происхождения, закон чисел, закон расположения, закон экономии, по: Шамров, 1997) отражают сложность этого процесса.

Особенно сложен эмбриогенез у злаков. Зародыш представителей этого семейства характеризуется становлением дорзовентральности строения с первых этапов развития (начиная с зиготы) и спецификой органогенеза, приводящей к уникальности его строения (наличие таких высокодифференцированных и специализированных органов, как эпибласт, щиток, лигула и др.). Все это дало основание выделить особый тип эмбриогенеза злаков — Graminad (Батыгина, 2014 и ранее). Правомочность выделения Graminad-типа эмбриогенеза подтверждается исследованиями различных видов злаков (Круглова и др., 2019а).

Хорошо известно, что зиготический зародыш в своем морфогенезе проходит ряд дискретных взаимосвязанных стадий, различающихся как по морфофизиологическим процессам, функциональной нагрузке, продолжительности, так и значению для дальнейшего развития. Каждая из стадий эмбриогенеза, несмотря на все разнообразие происходящих в это время процессов, направлена на реализацию морфогенетического потенциала зародыша и онтогенетической программы развития особи в целом, а зародыш демонстрирует свойства динамичной системы с пульсирующим характером функционирования своих элементов (Батыгина, 2014).

Ряд стадий эмбриогенеза исследователи относят к критическим.

В литературе представлены различные мнения о критериях выделения критических стадий эмбриогенеза растений. Т.Б. Батыгиной и В.Е. Васильевой (Батыгина, Васильева, 1983) в основу выделения таких стадий положен системный подход к дифференциации зародыша с учетом морфогенетических и морфофизиологических корреляций в развитии эмбриональных структур; при этом критическими стадиями авторы называют отрезки времени, характеризующиеся сменой структурно-функциональных характеристик в развитии зародыша и окружающих тканей семени и плода. И.И. Шамров с соавт. (Шамров, 2008; Shamrov, Anisimova, 2003 и др.) в работах, посвященных периодизации развития семязачатка и

семени цветковых растений, на основании морфогенетических и морфофизиологических корреляций критическими стадиями называют относительно короткие отрезки времени, связанные со структурно-функциональными перестройками семязачатка и семени и названные по основной образующейся эмбриональной структуре. Как полагают Уоринг и Филипс (Wareing, Phillips, 1981), в критические стадии эмбриогенеза растений происходит переключение программы развития зародыша на альтернативные пути, а те или иные его части становятся “детерминированными” в отношении их дальнейшей дифференциации. Эта точка зрения во многом согласуется с понятием эмбриональной индукции у животных – взаимодействием эмбриональных закладок, ведущим к формообразовательному эффекту посредством ткани-мишени, которая становится детерминированной к определенному типу развития; затем детерминированное состояние ткани реализуется в процессе дифференциации (Gilbert, 2018).

Цикл работ Т.Б. Батыгиной и В.Е. Васильевой (Батыгина, 1987, 2014; Батыгина, Васильева, 1987; Васильева, Батыгина, 1997; Batygina, Vasilyeva, 1987, 1988; Vasilyeva, Batygina, 2006) посвящен анализу критической стадии относительной автономности зародыша цветковых растений как проявлению автономизации онтогенеза особи. Исследователи полагают, что, в отличие от полной автономности, когда прекращаются все структурные и функциональные связи зародыша с материнским организмом (плодом, семенем), и не зависимый от окружающих тканей зародыш способен к саморегуляции и образованию проростка, на стадии относительной автономности зародыш становится независимым от физиологических и биохимических факторов материнского организма, главным образом гормонов. Иначе говоря, на стадии относительной автономности закрепляется жесткая детерминация пути развития зародыша как нового организма. Учитывая, что становление автономности – сложный длительный процесс, исследователи предлагают ввести понятие “степень автономности” как количественное и временное выражение зависимости зародыша от материнского организма.

Проблема относительной автономности зародышей на примере злаков в сравнении с представителями других семейств цветковых растений проанализирована в работе (Круглова и др., 2020). Авторы полагают, что, с одной стороны, выявление этой критической стадии эмбриогенеза, во многом обусловленной структурными особенностями зародыша злаков, способствует решению ряда проблем теоретической морфологии и эволюции высших растений. С другой стороны, данные об относительной автономности зародыша имеют практическое значение при выявлении

и характеристике статуса незрелых зародышей злаков, оптимальных для использования в эмбриокультуре *in vitro* с целью прямого получения растений-регенерантов в условиях *in vitro* и далее *ex vitro*.

Предложены два критерия выявления стадии относительной автономности зародышей растений: первый – способность зародышей завершить эмбриогенез и сформировать нормальные проростки в культуре *in vitro* на безгормональной среде (Батыгина, Васильева, 1987); второй (более жесткий) – способность зародышей не только завершить эмбриогенез и сформировать проростки на безгормональной среде, но и дать начало полноценным фертильным регенерантам в условиях *ex vitro* с анализом лабораторной всхожести полученных зерновок (Круглова, 2013).

Выявление стадии относительной автономности развивающихся зародышей злаков детально проведено на примере ячменя и пшеницы. Исследование незрелых зародышей культурных форм ячменя *Hordeum vulgare* L., согласно первому критерию, показало, что зародыши этого злака становятся относительно автономными на 10–14 сут в зависимости от генотипа (Игнатова, 2011). В результате анализа обширной коллекции сортов и гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. на основе второго критерия выявлена относительная автономность их зародышей, в зависимости от генотипа, на 12–15 сут после опыления (Круглова, 2014; Круглова и др., 2018б,в). Некоторое несоответствие временных показателей становления относительной автономности зародышей ячменя и пшеницы, помимо климатических условий зон произрастания и погодных условий вегетационных сезонов, можно объяснить таксоноспецифичностью этой критической стадии, которая характеризуется комплексом морфогенетических и физиолого-биохимических признаков зародыша у представителей конкретного таксона (в данном случае – вида). Заметим, что аналогичный таксоноспецифичный “разброс” проявления стадии относительной автономности демонстрируют и исследованные в этом отношении зиготические/соматические зародыши двудольных (Васильева, Батыгина, 1997).

Публикаций, специально посвященных оценке гистологического статуса зародышей злаков в критической стадии относительной автономности, в литературе представлено немного. Так, в сводке (Васильева, Батыгина, 1997) в качестве таковой указана стадия дифференциации щитка и апекса побега. В то же время высказано мнение (Круглова и др., 2020), что критической стадией относительной автономности зародышей злаков следует считать стадию дифференциации всех органов, свойственных зародышу злаков: щиток

(семядоля), лигула, почечка, состоящая из апекса побега и первого листа, колеоптиль, эпибласт, колеориза, мезокотиль, зародышевый корень. Такой гистологический статус выявлен у зародышей пшеницы на 12–15 сут после опыления (Круглова и др., 2018б,в), что лишний раз подтверждает правомерность использования второго, более жесткого, критерия выявления стадии относительной автономности зародышей растений, по крайней мере у исследованных в этом отношении генотипов пшеницы.

В работе (Сельдиминова и др., 2017б) приведены данные ультраструктурных исследований клеток незрелого зародыша пшеницы на 15–17 сут после опыления (частично соответствует стадии относительной автономности – *Авт.*). Выявлено, что клетки щитка такого зародыша содержат липидные капли и крупные амилопласты, аккумулирующие крахмал. В клетках апекса побега имеются митохондрии и единичные хорошо развитые хлоропласты. Представленные в этой работе данные о наличии липидных капель и об аккумуляции крахмала в клетках щитка зародыша пшеницы свидетельствуют о синтезе в этих клетках конституционных веществ, а в целом об их высокой метаболической активности. Это подтверждается и наличием в клетках апекса побега такого зародыша хорошо развитых митохондрий и пластид в виде хлоропластов.

Готовность зародышей в стадии относительной автономности к самостоятельному развитию характеризуется и рядом физиологических признаков, главным образом наличием в них эндогенных гормонов (независимость от экзогенных гормонов подтверждается успешным культивированием относительно автономных зародышей *in vitro* на безгормональной среде).

Известно, что собственная гормональная система злаков, как и других растений, формируется постепенно в ходе эмбриогенеза и активно участвует в регуляции процессов роста и развития зародышей (Круглова и др., 2019а). Можно полагать, что ключевые гормоны морфогенеза – ауксины, влияющие на рост клеток, и цитокинины, влияющие на клеточные деления (Медведев, Шарова, 2011), присутствуют в зародышах злаков на стадии относительной автономности (около 12–15 сут после опыления), хотя специальных исследований не проводилось. Такое предположение подтверждается, например, результатами гормональных исследований сухой массы развивающихся зерновок пшеницы: на 12 сут после опыления в них отмечено резкое увеличение содержания ИУК (индолилуксусной кислоты) и цитокининов, соответствующее быстро увеличению размера зерновки (Hess et al., 2002), а также зерновок ячменя: на 14 сут после опыления зафиксирован максимальный показатель содержания в них

цитокининов (Сельдиминова и др., 2018). Кроме того, интенсивное окрашивание на ИУК отмечено в клетках апикальной части зародыша и в клетках развивающихся органов зародыша пшеницы в фазу органогенеза, включающую стадию дифференциации апекса побега и органов (Сельдиминова и др., 2017а).

В целом, зародыш злаков, находящийся в критической стадии относительной автономности, по своему морфологическому, гистологическому и физиологическому (гормональному) статусу готов к самостоятельному развитию, независимо от материнского организма. В практике биотехнологических исследований методом эмбриокультуры *in vitro* именно относительная автономность является той стадией развития инокулируемых незрелых зародышей, начиная с которой они дадут начало нормальным проросткам и далее растениям в условиях как *in vitro*, так и *ex vitro*.

*Относительно автономные зародыши злаков
в оценке засухоустойчивости в селективных
условиях in vitro*

Физиологическая засуха – неблагоприятное сочетание метеорологических условий, при которых растения испытывают длительный водный дефицит в воздухе и почве (Кузнецов, Дмитриева, 2011). Это один из наиболее распространенных абиотических стресс-факторов не только в засушливых, но и в полузасушливых регионах мира, приводящий к значительным потерям урожая сельскохозяйственных растений и возникновению угрозы продовольственной безопасности (Plant life ..., 2020). Высказано мнение, что недостаток воды в почве наносит значительно больший вред растениеводству, чем все другие стрессовые факторы, вместе взятые (Дубровная, 2017; Пикало и др., 2020). В целом, важность исследований различных аспектов влияния засухи и формирования адаптивной устойчивости к этому стресс-фактору у сельскохозяйственных растений, включая хлебные злаки, невозможно переоценить.

Одно из перспективных биотехнологических направлений, позволяющих дать оценку имеющихся или создаваемых сортов и гибридных комбинаций злаков по признаку устойчивости к стресс-фактору “засуха” – использование эмбриокультуры относительно автономных зародышей *in vitro* на селективной питательной среде, имитирующей дефицит влаги. Действительно, степень структурной и функциональной дифференциации таких зародышей обусловлена не только его генотипом (тип эмбриогенеза, специфика развития), но и генотипом всего материнского организма (условия внутри развивающегося семени, опосредованно связанного с материнским организмом в целом), в том числе способностью

особи противостоять засухе (Васильева, Батыгина, 1997).

В качестве введенных в питательную среду селективных осмотических агентов, имитирующих засуху, в практике культивирования *in vitro* злаков, как и представителей других семейств растений, используют полиэтиленгликоль с молекулярной массой 6000 (ПЭГ 6000) или 10000 (ПЭГ 10000), маннит, сорбит, сахарозу, хлорид натрия различных концентраций (Никитина и др., 2013, 2014; Бычкова, Хлебцова, 2015; Сельдиминова, 2019; Rykalo et al., 2018, 2019 и др.). Особенной популярностью пользуется ПЭГ 6000, который за счет высокой молекулярной массы не проникает в клетку, но вызывает коллапс клеточных стенок и сжатие протопласта, то есть удачно имитирует водный баланс клеток в условиях осмотического стресса (Freitas et al., 2020). В то же время селективная система *in vitro* с введением маннита эффективнее, поскольку обеспечивает более полную элиминацию чувствительных клеток и более высокую жизнеспособность выживших растений-регенерантов (Дубровная, 2017; Пикало и др., 2020). В целом, в каждом конкретном случае исследователи делают свой выбор в пользу того или иного иммитанта засухи, в зависимости от целей и условий экспериментов.

Однако, несмотря на перспективность, исследований незрелых относительно автономных зародышей злаков в культуре *in vitro* на селективных средах с введением иммитатора засухи в доступной литературе сравнительно немного. По мнению О.В. Дубровной с соавт. (Дубровная и др., 2014, по: Пикало и др., 2020), это можно объяснить недостаточной разработанностью такой биотехнологии, и с этим мнением следует согласиться.

Е.Д. Никитиной с соавт. (Никитина и др., 2014) проведена оценка эффективности различных способов клеточной селекции (жесткая, мягкая и смешанная) сортов яровой мягкой и твердой пшеницы, различавшихся по показателю засухоустойчивости в полевых условиях, на устойчивость к индуцированному хлоридом натрия осмотическому стрессу культивируемых *in vitro* незрелых зародышей (авторы не применяют термин “эмбриокультура *in vitro*”). Сравнительный анализ уровня полевой засухоустойчивости сорта и реакции на способ отбора показал, что успех регенерации при мягкой селекции определяется в большей степени регенерационным потенциалом генотипа *in vitro*, а не его устойчивостью к засухе. Жесткая селекция с использованием сублетальной дозы хлорида натрия как селективного агента для отбора стресс-устойчивых регенерантов мягкой пшеницы возможна лишь для генотипов с высоким регенерационным потенциалом. Полученные данные соответствуют общепринятому мнению, что регенерация в куль-

туре *in vitro* определяется в первую очередь особенностями генотипа донорного растения (Ikeuchi et al., 2019; Sugimoto et al., 2019). Эта работа интересна и тем, что авторы провели изучение стресс-устойчивости ряда сортов твердой пшеницы, исследования которой в условиях *in vitro* не столь многочисленны.

Результаты детальных исследований засухоустойчивости относительно автономных незрелых зародышей обширной коллекции родительских сортов и гибридных комбинаций прямых и реципрокных скрещиваний яровой мягкой пшеницы в селективных условиях культуры *in vitro* приведены в работах Н.Н. Кругловой с соавт. (Круглова, 2012в, 2013, 2014; Круглова и др., 2018б,в, 2019б). Исследователи применили жесткий критерий оценки засухоустойчивости незрелых зародышей по их способности дать начало проростку, развивающемуся до фазы кушения *in vitro* в условиях, имитирующих дефицит влаги введением в состав питательной среды осмотика ПЭГ 6000 сублетальной концентрации 12–14%, оценкой развития проростка до фазы полной спелости зерна в почвенных условиях *ex vitro*, а также проанализировали лабораторную всхожесть полученных зерновок *in situ*. В результате исследований выявлены генотипы пшеницы, характеризующиеся как способностью незрелых зародышей к формированию проростков в условиях имитации засухи, так и достаточно высокой лабораторной всхожестью зерновок. Интересно, что авторами не выявлена зависимость между устойчивостью/неустойчивостью к засухе незрелых зародышей родительских сортов и их гибридов; отмечены случаи, когда при скрещивании засухоустойчивых сортов получены гибриды с достаточно высокой степенью устойчивости незрелых зародышей в селективных условиях *in vitro*. Повидимому, такая отзывчивость зародышей гибридов определяется сложным взаимодействием генотипов родительских форм; возможно, этот признак контролируется множественными генами, что характерно для количественных признаков (Драгавцев, 2019). Выявленные в результате многолетних наблюдений засухоустойчивые генотипы рекомендованы в качестве исходных форм к включению в селекционные программы по созданию районированных сортов, перспективных по признаку устойчивости к засухе. Кроме того, исследователи подчеркивают, что выявление и селективный отбор *in vitro* толерантных к дефициту воды незрелых зародышей в стадии относительной автономности позволяет дать экспресс-диагностическую оценку засухоустойчивости каждого вновь создаваемого сорта (первоначально — гибридной комбинации) пшеницы. Ускорение в данном случае достигается за счет того, что гибридная комбинация диагностируется на засухоустойчивость на самой ранней стадии

онтогенеза – зародыше, а не путем лабораторной оценки зрелого зерна или полевой оценки растения, как это принято в рутинной селекционной практике. Этот вывод можно отнести к селекционным исследованиям всех хлебных злаков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стресс-устойчивость растений – сложный процесс, определяемый количественными признаками мультигенного наследования, поэтому так перспективны разработки различных модельных экспериментальных систем для исследования этого биологического феномена. К таким системам можно отнести культуру *in vitro* клеток, тканей и органов, дающую возможность приблизиться как к пониманию закономерностей и особенностей ответных реакций растений на воздействие абиотических стресс-факторов, так и к разработке способов управления адаптацией растений к стресс-условиям.

Одной из экспериментальных систем для изучения клеточных и тканевых механизмов реакции растений на различные стресс-факторы может служить такое направление эмбриокультуры *in vitro*, как культивирование незрелых зиготических зародышей в стадии относительной автономности. Основанием для использования такой системы является обладание зародышем всеми морфогенетическими потенциями взрослого организма, а также основанное на универсальности путей морфогенеза сходство ответных реакций растений *in vivo* и эксплантов (в данном случае – автономных незрелых зародышей) *in vitro*.

В то же время, несмотря на более чем 110-летнюю историю изучения эмбриокультуры *in vitro*, работ, посвященных использованию этого метода в стресс-оценке растений, в отличие от использования в аналогичных целях зародышевых каллусных культур *in vitro*, не так много. Тем не менее, биотехнологии с использованием незрелых зародышей в стадии относительной автономности могут способствовать прямому получению стресс-устойчивых регенерантов. Преимущество данного подхода состоит в инокуляции незрелых зародышей, уже не зависимых от физиологических факторов материнского организма. Структурная и физиологическая готовность относительно автономных зародышей к дальнейшему нормальному развитию и формированию полноценных регенерантов позволит сэкономить время исследований. Так, согласно нашим подсчетам по пшенице, при этом достигается выигрыш во времени не менее чем в 15 сут в сравнении с использованием зрелых зародышей. Кроме того, использованием культуры *in vitro* незрелых автономных зародышей можно избежать дорогостоящих и трудоемких этапов формирования морфогенных каллусов и индуцирования в них регене-

рации растений путем чередования питательных сред. Это особенно важно и в тех случаях, когда цель биотехнологии состоит в минимизации соматональной изменчивости, обычно связанной с использованием каллусных культур *in vitro*.

В целом, использование культуры *in vitro* незрелых зародышей в стадии относительной автономности можно оценивать как удобный и надежный биотехнологический инструмент для экспресс-тестирования генотипов хозяйственно ценных растений на действие различных стрессов и как один из способов создания устойчивых к стресс-факторам районированных сортов – конечной цели селекции.

Дальнейшее развитие биотехнологий культивирования *in vitro* относительно автономных зародышей можно связать с успехом применения молекулярно-генетических подходов, данными функциональной геномики, результатами исследований трансгенеза, что даст новые возможности классической селекции в области разработок повышения стресс-устойчивости хозяйственно ценных растений, в том числе злаков.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена по теме № АААА-А18-118022190099-6 в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № 075-00326-19-00.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При подготовке данной статьи участие людей и использование животных в качестве объектов исследований не применялось.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алабушев А.В., Ионова Е.В., Лиховидова В.А. и др. Оценка засухоустойчивости озимой мягкой пшеницы в условиях модельной засухи // Земледелие. 2019. № 7. С. 35–37.
- Баймагамбетова К., Булатова К. Поэтапная оценка сортов и линий яровой пшеницы на засухоустойчивость // Selekc. i semenars. 2013. V. XIX. Broj. 2. S. 27–34.
- Баранова Е.Н., Чабан И.А., Кононенко Н.В. и др. Морфофункциональная характеристика каллусов ячменя, толерантных к токсическому действию алюминия // Биол. мембраны. 2015. Т. 32. № 3. С. 1–13.
- Батыгина Т.Б. Хлебное зерно. Л.: Наука, 1987. 103 с.

- Батыгина Т.Б. Биология развития растений. Симфония жизни. СПб.: ДЕАН, 2014. 764 с.
- Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Целесообразность системного подхода к проблеме дифференциации зародыша покрытосеменных растений // Онтогенез. 1983. Т. 14. № 3. С. 304–311.
- Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Прикладные аспекты эмбриологии. Автономность зародыша и эмбриокультура цветковых растений // Ботан. журн. 1987. Т. 72. № 2. С. 155–161.
- Бычкова О.В. Оценка эффективности морфогенеза и регенерации яровой твердой пшеницы в культуре *in vitro* // Acta Biol. Sib. 2016. № 2 (1). С. 139–149.
- Бычкова О.В., Хлебова Л.П. Физиологическая оценка засухоустойчивости яровой твердой пшеницы // Acta Biol. Sib. 2015. Т. 1. № 1–2. С. 107–116.
- Бычкова О.В., Ерещенко Д.В., Розова М.А. Сравнительная оценка использования зрелых и незрелых зародышей яровой твердой пшеницы в культуре *in vitro* // Acta Biol. Sib. 2016. Т. 2. № 2. С. 76–80.
- Вартапетян Б.Б., Долгих Ю.И., Полякова Л.И. и др. Биотехнологические подходы в создании растений, толерантных к гипоксии и аноксии // Acta Natur. 2014. Т. 6. № 2 (21). С. 21–33.
- Васильева В.Е., Батыгина Т.Б. Автономность зародыша // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2. Семя / Ред. Т.Б. Батыгина. СПб.: Мир и семья, 1997. С. 579–588.
- Веселов С.Ю., Шарипова Г.В., Тимергалин М.Д. и др. Прогноз засухоустойчивости по содержанию абсцизовой кислоты и изучение возможности упрощения процедуры ее количественной оценки в растениях пшеницы // Изв. Самарск. науч. центра РАН. 2011. Т. 13. № 5 (3). С. 17–20.
- Глобальные изменения климата и прогноз рисков в сельском хозяйстве России / Ред. А.Л. Иванов, В.И. Кирюшин. М.: Россельхозакадемия, 2009. 518 с.
- Голева Г.Г., Батлук Ю.А., Ващенко Т.Г. и др. Получение растений-регенерантов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в культуре *in vitro* // Вест. Воронежск. гос. агр. ун-та. Сельскохозяйств. науки. 2014. № 3 (42). С. 17–22.
- Грабовец А.И., Фоменко М.А. Совершенствование методологии селекции пшеницы в условиях недостаточного увлажнения // Зерн. и круп. культуры. 2016. № 2 (18). С. 48–53.
- Драгавцев В.А. Решения технологических задач селекционного повышения урожаев, вытекающие из теории эколого-генетической организации количественных признаков // Бюл. ГНБС. 2019. Вып. 132. С. 17–28.
- Дубровная О.В. Селекция пшеницы *in vitro* на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам // Физиол. раст. генет. 2017. Т. 49. № 4. С. 279–292.
- Дьячук Т.И., Хомякова О.В., Столярова С.В. и др. Клеточные биотехнологии в создании исходного материала для селекции тритикале // Агр. вест. Юго-Востока. 2009. № 2. С. 9–10.
- Зинатуллина А.Е. Модельная система “зародыш–зародышевый каллус” в экспресс-оценке стрессовых и антистрессовых воздействий (на примере злаков) // Экобиотех. 2020. Т. 3. № 1. С. 38–50.
- Зинченко М.А., Дубровная О.В., Бавол А.В. Клеточная селекция мягкой пшеницы на устойчивость к комплексу стрессовых факторов и анализ полученных форм // Изв. Самарск. науч. центра РАН. 2013. Т. 15. № 3 (5). С. 1610–1614.
- Игнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*. Одесса: Астропринт, 2011. 224 с.
- Инжеваткин Е.В., Савченко А.А. Неспецифическая метаболическая реакция клеток на экстремальные условия // Изв. РАН. Серия биол. 2016. № 1. С. 6–16.
- Круглова Н.Н. Оптимизация биотехнологии получения растений пшеницы в культуре *in vitro* // Изв. Уфимск. науч. центра РАН. 2012а. № 3. С. 57–61.
- Круглова Н.Н. Периодизация эмбриогенеза пшеницы как методологический аспект биотехнологических разработок // Изв. Уфимск. науч. центра РАН. 2012б. № 2. С. 21–24.
- Круглова Н.Н. Оценка коллекции генотипов яровой мягкой пшеницы по устойчивости автономных зародышей на селективных средах *in vitro*, имитирующих засуху // Изв. Самарск. науч. центра РАН. 2012в. Т. 14. № 1. С. 2243–2245.
- Круглова Н.Н. Выявление критической стадии автономности зародыша пшеницы в культуре *in vitro* // Изв. Уфимск. науч. центра РАН. 2013. № 1. С. 42–45.
- Круглова Н.Н. Выявление автономности зародыша пшеницы как этап разработки экспресс-диагностической биотехнологии получения засухоустойчивых образцов // Пермск. агр. вест. 2014. № 1 (5). С. 38–43.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для исследования стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам (на примере злаков) // Успехи соврем. биол. 2018а. Т. 138. № 3. С. 283–293.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е., Веселов Д.С. Критическая стадия автономности зародыша пшеницы *in planta* // Биомика. 2018б. Т. 10. № 1. С. 1–6.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е., Никонов В.И. Выявление относительной автономности *in planta* зиготических зародышей яровой мягкой пшеницы для оптимизации биотехнологических исследований // Изв. Уфимск. науч. центра РАН. 2018в. № 3. С. 28–33.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Структурные особенности и гормональная регуляция зиготического эмбриогенеза злаков // Успехи соврем. биол. 2019а. Т. 139. № 4. С. 326–337.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е., Никонов В.И. Выявление засухоустойчивых гено-

- типов пшеницы в культуре незрелых зародышей *in vitro* // Вестн. Башкирск. гос. агр. ун-та. 2019б. Т. 52. № 4. С. 37–41.
- Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. и др. Зародыш цветковых растений в критическую стадию относительной автономности эмбриогенеза (на примере злаков) // Онтогенез. 2020. Т. 51. № 1. С. 3–18.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллусные культуры *in vitro* в экспериментальной оценке засухоустойчивости хлебных злаков // Та-врический вестн. аграр. науки. 2021а. № 1 (25). С. 124–139.
- Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А., Зина-туллина А.Е. Цитофизиологические особенности экспериментальной системы “зародыш *in vivo*–каллус *in vitro*” хлебных злаков // Онтогенез. 2021б. Т. 52. № 4. С. 237–253.
- Кудоярова Г.Р., Холодова В.П., Веселов Д.С. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды // Физиол. раст. 2013. Т. 60. № 2. С. 155–165.
- Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. М.: Абрис, 2011. 783 с.
- Медведев С.С., Шарова Е.И. Биология развития растений. В 2-х т. Т. 1. Начала биологии развития растений. Фитогормоны. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2011. 253 с.
- Никитина Е.Д., Хлебцова Л.П. Влияние температуры и освещения на прямое прорастание незрелых зародышей *Triticum aestivum* L. в культуре *in vitro* // Изв. Алтайск. гос. ун-та. Биол. науки. 2014. Т. 2. № 3. С. 46–50.
- Никитина Е.Д., Хлебцова Л.П., Соколова Г.Г., Ерещенко О.В. Создание стрессоустойчивого материала яровой мягкой пшеницы с использованием клеточной селекции *in vitro* // Изв. Алтайск. гос. ун-та. Биол. науки. 2013. № 3. С. 95–98.
- Никитина Е.Д., Хлебцова Л.П., Ерещенко О.В. Разработка отдельных элементов технологии клеточной селекции яровой пшеницы на устойчивость к абиотическим стрессам // Изв. Алтайск. гос. ун-та. Биол. науки. 2014. Т. 2. № 3. С. 50–54.
- Основы биотехнологии растений / Ред. Б.Р. Кулуев, Н.Н. Круглова, А.А. Зарипова, Р.Г. Фархутдинов. Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. 244 с.
- Парфенова Е.С., Шамова М.Г., Набатова Н.А. и др. Оценка относительной засухоустойчивости сортов озимой ржи способом проращивания на растворе сахарозы // Междунар. журн. прикл. фунд. иссл. 2018. № 11. Ч. 2. С. 347–351.
- Пикало С., Демидов О., Юрченко Т.И. и др. Методи оцінки посухостійкості селекційного матеріалу пшениці // Вісн. Львівськ. ун-ту. Сер. біол. 2020. Вип. 82. С. 63–79.
- Россеев В.М., Белан И.А., Россеева Л.П. Тестирование *in vitro* яровой мягкой пшеницы на засухоустойчивость // Вестн. Алт. гос. агр. ун-та. 2011. Т. 76. № 2. С. 32–34.
- Сельдимирова О.А. Тестирование селективных агентов для оценки яровой мягкой пшеницы на устойчивость к засухе // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 1. С. 51–62.
- Сельдимирова О.А., Галин И.Р., Круглова Н.Н., Веселов Д.С. Распределение ИУК и АБК в развивающихся зародышах пшеницы *in vivo* // Изв. Уфимск. науч. центра РАН. 2017а. № 3 (1). С. 114–118.
- Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Батыгина Т.Б. Сравнительный ультраструктурный анализ формирующихся микроспоридиальных эмбрионов *in vitro* и зиготических зародышей *in vivo* пшеницы как основа понимания цитофизиологических аспектов их развития // Онтогенез. 2017б. Т. 48. № 3. С. 220–233.
- Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Галин И.Р., Веселов Д.С. Сравнительная оценка уровня ИУК, АБК и цитокининов в эмбриогенезе *in vivo* ячменя сорта *Sterptoe* и его АБК-дефицитного мутанта *AZ34* // Экобиотех. 2018. Т. 1. № 3. С. 134–142.
- Тагимонова Д.С., Ергалиева А.Ж., Райзер О.Б., Хапилина О.Н. Оценка генотипов яровой мягкой пшеницы на засухоустойчивость в условиях *in vitro* // Биотехнология. Теория и практика. 2013. № 2. С. 42–46.
- Терехин Э.С. Семя и семенное размножение. СПб.: Мир и семья-95, 1996. 376 с.
- Шамров И.И. Эмбриогения // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2. Семя / Ред. Т.Б. Батыгина. СПб.: Мир и семья, 1997. С. 297–307.
- Шамров И.И. Семязачаток цветковых растений: строение, функции, происхождение. М.: КМК, 2008. 350 с.
- Шуплецова О.Н., Щенникова И.Н. Результаты использования клеточных технологий в создании новых сортов ячменя, устойчивых к токсичности алюминия и засухе // Вавилов. журн. генет. селекц. 2016. Т. 20. № 5. С. 623–628.
- Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3. Системы репродукции. СПб.: Мир и семья, 2000. 652 с.
- Abdelnour-Esquivel A., Perez J., Rojas M. et al. Use of gamma radiation to induce mutations in rice (*Oryza sativa* L.) and the selection of lines with tolerance to salinity and drought // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2020. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-10015-5>
- Abdolshahi R., Nazari M., Safarian A. et al. Integrated selection criteria for drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programs using discriminant analysis // *Field Crops Res.* 2015. V. 174. P. 20–29.
- Alhasnawi A.N., Zain C.R., Kadhim A.A. et al. Accumulation of antioxidants in rice callus (*Oryza sativa* L.) induced by β -glucan and salt stress // *Austral. J. Crop Sci.* 2017. V. 11. P. 118–125.
- Baillo E.H., Kimotho R.N., Zhang Z., Xu P. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement // *Genes.* 2019. V. 10 (10). P. 771. <https://doi.org/10.3390/genes10100771>

- Batygina T.B., Vasilyeva V.E.* Some aspects of embryo-culture (autonomy of embryo) of flowering plants // *Phytomorphology*. 1987. V. 37. P. 283–288.
- Batygina T.B., Vasilyeva V.E.* Some aspects of autonomy of embryo in flowering plants // *Phytomorphology*. 1988. V. 38. P. 293–297.
- Chaichi M., Sanjarian F., Razavi K., Gonzalez-Hernandez J.L.* Phenotypic diversity among Iranian bread wheat landraces, as a screening tool for drought tolerance // *Acta Physiol. Plant*. 2019. V. 41. P. 1–15.
- De Vries S.C., Weijers D.* Plant embryogenesis // *Curr. Biol*. 2017. V. 27. P. 870–873.
- Dehghani I., Mostajeran A., Esmaeili A., Ghannadian M.* The role of *DREB2* gene in drought tolerance of common wheat (*Triticum aestivum* L.) associated with *Azospirillum brasilense* // *Appl. Ecol. Environ. Res*. 2019. V. 17. P. 4883–4902.
- Delporte F., Pretova A., Du Jardin P. et al.* Morpho-histology and genotype dependence of *in vitro* morphogenesis in mature embryo cultures of wheat // *Protoplasma*. 2014. V. 251. P. 1455–1470.
- Demydov O., Khomenko S., Fedorenko M. et al.* Stability and plasticity of collection samples of durum spring wheat in the forest-steppe conditions of Ukraine // *Am. J. Agr. Forest*. 2021. V. 9. P. 83–88.
- Eid M.* Validation of SSR molecular markers linked to drought tolerant in some wheat cultivars // *J. Plant Breed. Genet*. 2018. V. 6. P. 95–109.
- El-Mowafi H.F., Al Kahtani M.D.F., Abdallah R.M. et al.* Combining ability and gene action for yield characteristics in novel aromatic cytoplasmic male sterile hybrid rice under water-stress conditions // *Agriculture*. 2021. V. 11. (3). P. 226.
<https://doi.org/10.3390/agriculture11030226>
- Falaknaz M., Aalami A., Mehrabi A.A. et al.* Assessing *Aegilops tauschii* genotypes to drought stress using tolerance indices // *Cereal Res*. 2019. V. 8. P. 483–494.
- Farshadfar E., Jamshidi B., Cheghamirza K. et al.* Evaluation of drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using *in vivo* and *in vitro* techniques // *Ann. Biol. Res*. 2012. V. 3. P. 465–476.
- Freitas W.C., Medina P.F., Giomoto G.S., Almeida J.A.S.* PEG 6000 and sucrose in the control of the direct somatic embryogenesis capacity in *Coffea arabica* L. // *J. Glob. Biosci*. 2020. V. 9. P. 7364–7376.
- Gahlaut V., Jaiswal V., Kumar A. et al.* Transcription factors involved in drought tolerance and their possible role in developing drought tolerant cultivars with emphasis on wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet*. 2016. V. 129. P. 2019–2042.
- Ghorbel M., Saibi W., Brini F.* Abiotic stress signaling in Brassicaceae plants // *J. Soil Plant Biol*. 2020. V. 1. P. 138–150.
- Gilbert S.F.* Developmental biology. 11th ed. / Ed. R. Mayers. 2018. Электронный документ. Режим доступа: <https://www.pdfdrive.com/developmental-biology-e188565455.html>
- Grzesiak M.T., Hordynska N., Maksymowicz A. et al.* Variation among spring wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes in response to the drought stress. II – Root system structure // *Plants*. 2019. V. 8 (12). P. 584.
<https://doi.org/10.3390/plants8120584>
- Gupta S., Mishra V.K., Kumari S. et al.* Deciphering genome-wide WRKY gene family of *Triticum aestivum* L. and their functional role in response to abiotic stress // *Gen. Genom*. 2018. V. 41 (1). P. 79–94.
<https://doi.org/10.1007/s13258-018-0742-9>
- Ikeuchi M., Favero D.S., Sakamoto Y. et al.* Molecular mechanisms of plant regeneration // *Ann. Rev. Plant Biol*. 2019. V. 70. P. 377–406.
- Jogawat A., Yadav B., Lakra N. et al.* Crosstalk between phytohormones and secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: a review // *Physiol. Plant*. 2021. V. 172 (2). P. 1106–1132.
<https://doi.org/10.1111/ppl.13328>
- Haslam T.M., Yeung E.C.* Zygotic embryo culture: an overview // *Plant embryo culture: methods and protocols*. Chapter 1. Methods in molecular biology / Eds T.A. Thorpe, E.C. Yeung. N.Y., L., Dordrecht, Heidelberg: Springer, 2011. V. 710. P. 3–16.
- Hess J.R., Carman J.G., Banowitz G.M.* Hormones in wheat kernels during embryony // *Plant Physiol*. 2002. V. 159. P. 379–386.
- Hussain A., Qarshi I.A., Nazir H. et al.* Plant tissue culture: current status and opportunities // *Recent Adv. Plant In Vitro Cult*. Intech. 2012. P. 1–21.
<https://doi.org/10.5772/50568>
- Khuder H.H., AL-Taei Yu.I.H.* Effect of salt stress on some growth indicators and cellular components of wheat (*Triticum aestivum* L.) callus // *Int. J. Appl. Agr. Sci*. 2015. V. 1. P. 91–94.
- Kimotho R.N., Baillo E.H., Zhang Z.* Transcription factors involved in abiotic stress responses in Maize (*Zea mays* L.) and their roles in enhanced productivity in the post genomics era // *Peer J*. 2019. 46 p.
<https://doi.org/10.7717/peerj.7211>
- Kononenko N., Baranova E., Dilovarova T. et al.* Oxidative damage to various root and shoot tissues of durum and soft wheat seedlings during salinity // *Agriculture*. 2020. V. 10 (3). P. 55.
<https://doi.org/10.3390/agriculture10030055>
- Kruglova N.N.* Periodization of wheat embryo structure on the base of anatomy and morphology criteria // *Mod. Phytomorphol*. 2013. V. 4. P. 181–183.
- Kumari P., Eshwari T., Hul R.* Embryo rescue in horticultural crops // *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*. 2018. V. 7(6). P. 3350–3358.
- Leng P., Zhao J.* Transcription factors as molecular switches to regulate drought adaptation in maize // *Theor. Appl. Genet*. 2019. V. 133 (5). P. 1455–1465.
<https://doi.org/10.1007/s00122-019-03494-y>
- Maleki M., Ghorbanpour M., Nikabadi S. et al.* *In vitro* screening of crop plants for abiotic stress tolerance // *Recent approaches in omics for plant resilience to climate change* / Ed. S. Wani. Cham: Springer, 2019. P. 75–91.

- Mehraban A., Tobe A., Gholipouri A. et al. Evaluation of drought tolerance indices and yield stability of wheat cultivars to drought stress in different growth stage // World J. Environ. Biosci. 2018. V. 7. P. 8–14.
- Merks R.M.H., Guravage M.A. Building simulation models of developing plant organs // Plant organogenesis: methods and protocols. Methods in molecular biology / Ed. I. De Smet. N.Y.: Springer Science+Business Media, 2013. V. 959. P. 333–352.
- Methods in molecular biology. V. 427: Plant embryogenesis / Eds M.E. Suarez, P.V. Bozhkov. Totowa, N.J.: Humana Press, 2008. 184 p.
- Noga A., Skrzypek E., Warchoł M. et al. Conversion of oat (*Avena sativa* L.) haploid embryos into plants in relation to embryo developmental stage and regeneration media // *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 2016. V. 52. P. 590–597.
- Perez-Clemente R.M., Gomez-Cadenas A. *In vitro* tissue culture, a tool for the study and breeding of plants subjected to abiotic stress conditions // Recent advances in plant *in vitro* culture / Eds A. Leva, L. Rinaldi. Published under CC BY 3.0 license, 2012. <https://doi.org/10.5772/50671>
- Plant life under changing environment: responses and management / Eds D.K. Tripathi et al. USA: Academic Press (Elsevier), 2020. 1020 p.
- Plant embryo culture: methods and protocols / Eds T.A. Thorpe, E.C. Yeung. N.Y., L., Dordrecht, Heidelberg: Springer, 2011. 377 p.
- Pykalo S.V., Dubrovna O.V. Variability of the triticale genome *in vitro* // *Cyt. Genet.* 2018. V. 52. P. 385–393.
- Pykalo S.V., Demydov O.A., Prokopik N.I. et al. *In vitro* screening of the spring wheat F2 hybrids for water deficit resistance // *ScienceRise: Biol. Sci.* 2018. № 3 (12). C. 12–18.
- Pykalo S., Demydov O., Yurchenko T. et al. Comparative assessment of methods for evaluation of drought tolerance in winter bread wheat varieties // *ScienceRise: Biol. Sci.* 2019. V. 4 (19). P. 17–21. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2019.186813>
- Raghavan V. One hundred years of zygotic embryo culture investigations // *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 2003. V. 39. P. 437–442.
- Raveena, Bharti R., Chaudhary N. Drought resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.): a review // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2019. V. 8. P. 1780–1792.
- Rostami H., Giri A., Nejad A.S.M. et al. Optimization of multiple shoot induction and plant regeneration in Indian barley (*Hordeum vulgare*) cultivars using mature embryos // *Saudi J. Biol. Sci.* 2013. V. 20. P. 251–255.
- Sakkar T., Thankappan R., Mishra G.P., Nawade B.D. Advances in the development and use of *DREB* for improved abiotic stress tolerance in transgenic crop plants // *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2019. V. 25. P. 1323–1334.
- Sallam A., Alqudah A.M., Dawood M.F. et al. Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20 (13). P. 3137. <https://doi.org/10.3390/ijms2013137>
- Sattar S., Afzal R., Bashir I. et al. Biochemical, molecular and morpho-physiological attributes of wheat to upgrade grain production and compete with water stress // *Int. J. Inn. App. Agricult. Res.* 2019. V. 3. P. 510–528.
- Shamrov I.I., Anisimova G.M. Critical stages of ovule and seed development // *Acta Biol. Cracov. Ser. Bot.* 2003. V. 45. P. 167–172.
- Sonmezoglu O.A., Terzi B. Characterization of some bread wheat genotypes using molecular markers for drought tolerance // *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2018. V. 24. P. 159–166.
- Sugimoto K., Temman H., Kadokura S., Matsunaga S. To regenerate or not to regenerate: factors that drive plant regeneration // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2019. V. 47. P. 138–150.
- Vasilyeva V.E., Batygina T.B. Autonomy of the embryo // *Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. V. 2. Seed* / Ed. T.B. Batygina. Enfield, NH, USA: Science Publishers, Inc. 2006. P. 375–382.
- Wang X., Zenda T., Liu S. et al. Comparative proteomics and physiological analyses reveal important maize filling-kernel drought-responsive genes and metabolic pathways // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20 (15). P. 3743. <https://doi.org/10.3390/ijms20153743>
- Wani S., Kumar V., Shriram V., Sah S.K. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants // *Crop J.* 2016. V. 4. P. 164–176.
- Wareing F.P., Phillips I.D.J. Growth and differentiation in plants. Oxford: Pergamon press, 1981. 343 p.
- Yadav S., Sharma K.D. Molecular and morphophysiological analysis of drought stress in plants // *Plant growth. Ch. 10* / Ed. E.C. Rigobelo. 2016. <https://doi.org/10.5772/65246>
- Yadav A.K., Carroll A.J., Estavillo G.M. et al. Wheat drought tolerance in the field is predicted by amino acid responses to glasshouse-imposed drought // *J. Exp. Bot.* 2019. V. 70. P. 4931–4948.
- Yadav B., Jogawat A., Rahman M.S. et al. Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: a review // *Gene Repts.* 2021. V. 23. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101040>
- Yang C., Wang D., Zhang C. et al. Comprehensive analysis and expression profiling of PIN, AUX/LAX, and ABCB auxin transporter gene families in *Solanum tuberosum* under phytohormone stimuli and abiotic stresses // *Biology.* 2021. V. 10 (2). P. 127. <https://doi.org/10.3390/biology10020127>
- Zhang W., Wang X., Fan R. et al. Effects of inter-culture, arabinogalactan proteins, and hydrogen peroxide on the plant regeneration of wheat immature embryos // *J. Integr. Agricult.* 2015. V. 14. P. 11–19.
- Zuraida A.R., Naziah B., Zamri Z., Sreeramanan S. Efficient plant regeneration of Malaysian indica rice MR 219 and 232 via somatic embryogenesis system // *Acta Physiol. Plant.* 2011. V. 33. P. 1913–1921.

***In Vitro* Culture of Autonomous Embryos as a Model System for the Study of Plant Stress Resistance to Abiotic Factors (on Example of Cereals)**

N. N. Kruglova^{a, *} and A. E. Zinatullina^a

^a *Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre of RAS, Ufa, Russia*

^{*}*e-mail: kruglova@anrb.ru*

One of the directions of experimental evaluation of plant stress resistance to abiotic factors under *in vitro* culture model conditions is the use of zygotic embryos of a particular stage of development (*in vitro* embryo culture) as explants. Especially prospective in this respect is the culture *in vitro* of immature embryos that are at the critical stage of relative autonomy. Such embryo, independent from the physiological factors of the mother's body, is able to give autonomous rise to the full-fledged plant under adequate conditions *in vitro* and then *ex vitro*. This makes it possible to obtain regenerants directly, avoiding the additional stage of morphogenic callus formation. The article on the example of cereals presents the review of the literature and own data on the identification of the relative autonomy stage of embryogenesis *in vivo*, as well as the use of relatively autonomous embryos in the assessment of drought resistance under selective conditions *in vitro*. It is emphasized that the prospects of embryo culture *in vitro* using as a model system in evaluating of plant stress resistance are determined by the fact that the embryo has all morphogenetic potentials of an adult organism, as well as by the similarity of morphogenetic reactions of plants *in vivo* and explants/regenerants *in vitro* according to the principle of universality of plant morphogenesis in natural and experimental conditions.

Keywords: embryogenesis, embryo autonomy, embryo culture *in vitro*, stress, drought, resistance, cereals

УДК 502/504.59.01/08+574/577.57.022

РОДЕНТИЦИДЫ И ГИБЕЛЬ ДИКИХ ЖИВОТНЫХ

© 2021 г. Е. В. Ерофеева¹, Ю. Е. Суркова², А. В. Шубкина¹. *

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

²Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия

*e-mail: annashubkina@rambler.ru

Поступила в редакцию 10.12.2020 г.

После доработки 14.03.2021 г.

Принята к публикации 15.03.2021 г.

Загрязнение химическими продуктами, используемыми в агротехнических мероприятиях, является крупнейшей проблемой пищевой безопасности человека, но исключить их применение невозможно. Особое значение принадлежит родентицидам, влияющим на животных и человека не только прямо, но и опосредованно. Во многом это связано с тем, что начиная с конца XX в. все более широкое применение получали антикоагулянты второго поколения, так называемые суперварфарины. Их преимуществом является кажущаяся простота использования, что привело к формированию ошибочного представления о безвредности этой группы препаратов. Описана краткая история применения родентицидов, их воздействия на млекопитающих, птиц и человека. Показано, что в последние десятилетия начали интенсивно исследовать сублетальные эффекты и накопление суперварфаринов. Установлено, что эти препараты вызывают широкий спектр негативных воздействий на млекопитающих и птиц, включая поражающее воздействие на дыхательную, сосудистую и нервную системы, хотя разные виды животных отличаются по чувствительности к ним. Впервые представлены данные о последствиях применения суперварфаринов в некоторых природных системах южных регионов РФ – приведены факты массовой гибели консументов 1-го и 2-го порядка (птицы и млекопитающие, так называемые нецелевые виды). Высокая опасность суперварфаринов сочетается с крайне низкой вероятностью их своевременного обнаружения. Обоснован вывод о том, что гибель хищных животных – консументов 2-го порядка является индикатором наличия прямой угрозы биологической безопасности в области, сочетающей воздействие химических и биологических факторов. Отсутствие физических границ агроценозов означает, что процессы, происходящие в них, влияют на биологическое разнообразие сопредельных территорий, считающихся естественными.

Ключевые слова: родентициды, антикоагулянты, нецелевые виды, дикие животные, природные системы

DOI: 10.31857/S0042132421050021

ВВЕДЕНИЕ

Развитие биологии привело к осознанию значения многоуровневых связей событий, происходящих в живой природе, и деятельности человека. Одной из областей взаимодействий человек–природа являются агроценозы, границ которых, в классическом понимании, обычно физически не существует. Происходящее в агроценозах не ограничено их территорией, но распространяется на менее измененные и даже считающиеся естественными пространства, что оказывает значительное влияние на биоразнообразие и фауну диких животных. События, происходящие за пределами агроценозов, лежат вне сферы интересов и обязанностей сельхозпроизводителей, но влияют на объекты и процессы, изучаемые биологами. Например, лесополосы и/или водоемы, созданные человеком, не являются естественными биоценозами, хотя их осваивают и стабильно населя-

ют многие виды животных. Фауна этих антропогенно измененных участков уже много лет служит обычным объектом исследований, однако на ее состояние и разнообразие прямо и косвенно воздействует происходящее в фактических пределах агроценозов. Поэтому современные исследования в области полевой зоологии и экологии требуют учитывать процессы, происходящие в агроценозах.

В основе современной агрокультуры лежат химические обработки. Они включают стимуляцию развития растений, уничтожение нежелательной растительности, сокращение численности животных (родентициды – препараты для уничтожения грызунов). Большинство препаратов находятся в свободной продаже, производители – различные. В инструкциях все, кроме грызунов, – млекопитающие, птицы, рептилии, ам-

фибии, рыбы, люди — называются нецелевыми объектами.

При отравлениях родентицидами своевременное определение причин затруднено — большинство препаратов не включают легкодоступные маркеры, а их наличие/отсутствие может быть установлено только при исследованиях с применением сложного оборудования, отсутствующего в большинстве регионов. Необходимо учитывать, что препараты, оказывающие негативное воздействие на представителей наземной, воздушной и водной фауны (далее в тексте животных), опасны и для человека.

Возможны две формы воздействия на нецелевые виды: прямое отравление и передача по пищевым цепям. Прямое отравление обычно связано с грубыми нарушениями регламента пользования, которые иногда удается выявить. Как биологов, нас больше всего интересует возможность отравления нецелевых видов и передачи токсикантов по пищевым цепям. Это обусловлено тем, что передача токсикантов по пищевым цепям выходит за рамки обязательств сельхозпроизводителей, а возможность таких событий находится вне поля зрения Министерства сельского хозяйства и Министерства природных ресурсов и экологии РФ. Однако негативные эффекты для биоразнообразия, объектов полевых зоологических и экологических исследований, охотничьего хозяйства и безопасности населения переоценить невозможно.

В массовом сознании преобладает ошибочное убеждение о безвредности современных родентицидов. Цель этой статьи — привлечь внимание биологов к экологическим последствиям применения агротехнических токсикантов, прежде всего родентицидов, для диких животных и человека.

ПРОБЛЕМА ЗАГРЯЗНЕНИЙ

Загрязнение пищевых продуктов токсикантами, используемыми в агрохимии, не подлежит сомнению (Thompson, Darwish, 2019), что делает этот вопрос крупнейшей проблемой. Выделяют загрязнение радиоактивными веществами, микотоксинами, антимикробными препаратами, тяжелыми металлами, пестицидами, включая родентициды, диоксины (Watts, 2013; Thompson, Darwish, 2019). Наиболее известно о негативном значении тяжелых металлов, передачу которых по пищевым цепям принято считать незначительной, хотя у них выражен тератогенный эффект (Guitart et al., 2009) и не исключено участие в развитии болезни Альцгеймера (Yegambaram et al., 2015).

В последние годы особое внимание уделяют карбофурану — инсектициду и гельминтоциду растений. Исследования WCS¹ доказали, что

именно этот препарат послужил причиной смерти ряда млекопитающих, птиц и человека (Carbofuran poisoning ..., 2016). Даже микродозы (1/20–1/5 от ЛД₅₀²) карбофурана вызывают существенные изменения состояния организма и, прежде всего, параметров крови (Vinev et al., 2016). В настоящее время он запрещен в Европе, Канаде, США, но продолжает использоваться во многих странах и находится в свободной продаже в РФ. В нашей стране (Курская область и Республика Татарстан) зарегистрированы отравления карбофураном людей с летальным исходом (Мансурова и др., 2010).

Особенность родентицидов в том, что их действие направлено прямо на теплокровных животных. Регламенты их использования вне населенных пунктов весьма размыты (Иваницкая и др., 2011), а неоднозначные эффекты накопления и передачи изучены недостаточно (Morgan, 2006). При этом прямое токсическое воздействие на человека менее выражено, чем на собак (Ruiz-Suárez et al., 2015), что не исключает кумуляции и отложенных эффектов.

Принято подразделять родентициды на две группы: длительного действия, преимущественно антикоагулянты, и короткоживущие (Рыльников, 2011). Антикоагулянты, являющиеся средствами подострого и хронического действия, выводятся медленно и частично (<http://www.pesticidy.ru/dictionary/rodenticide>), что создает возможность постепенного накопления. Даже если такое накопление не приводит к летальному исходу, происходит снижение сопротивляемости к иным повреждающим факторам.

Родентициды-антикоагулянты появились в конце 1940-х гг. Несмотря на наличие данных, доказывающих их опасность для летающих, наземных и водных животных, они получили широкое распространение и стали общеприняты. Наряду с антикоагулянтами 1-го поколения (варфарина, среди которых наиболее известен зоокумарин), с конца XX в. все шире применяли антикоагулянты 2-го поколения (суперварфарины). Определение их присутствия методически сложно и требует специальной аппаратуры³ и квалифицированного персонала. Инструкции по применению противоречивы: отмечается кумуляция, возможность отравления через кожу и дыхательные пути, но основой принято считать пищевое отравление — для которого и рассчитывается летальная доза. Признана особая опасность су-

² ЛД₅₀ — lethal dose 50% — доза вещества, вызывающая гибель половины особей.

³ Определение присутствия суперварфаринов основано на измерении массовой доли методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием, хроматографированием в изократическом режиме экстракта из пробы с количественной оценкой методом внешнего стандарта.

¹ Wildlife Conservation Society.

перварфаринов для домашних кроликов и птиц, поэтому приманки рекомендуют размещать в боксах, что также позволяет уменьшить загрязнение почвы и попадание в водоемы (Иваницкая и др., 2011). В последние годы нередко сообщения о случаях массовой гибели рыбы в прудах и крупных реках, но тесты на присутствие антикоагулянтов не проводят. Однако существуют данные, свидетельствующие о загрязнении родентицидами не только рек и озер, но и морских экосистем (Masuda et al., 2015).

В массовом сознании применение большинства родентицидов оценивается как один из способов, позволяющих избежать недостатка пищевых продуктов и/или необходимых для борьбы с зоонозами. Более того, нередко подчеркивают их низкий токсический эффект, которым можно пренебречь. К сожалению, эти утверждения не соответствуют фактам. «Существует опасность их (родентицидов, авт.) влияния через трупы отравленных грызунов (мышей, крыс, полевок, песчанок, сусликов) на фауну нецелевых видов, обуславливая тем самым риск вторичных отравлений. Основную опасность для нецелевых видов дератизационные средства представляют при широкомасштабных истребительных обработках природных станций» (Заева и др., 2004).

За пределами нашей страны число публикаций об отравлениях родентицидами млекопитающих, птиц, людей непрерывно возрастает. Например, число публикаций, упоминаемых в WoS (Web of Science), с ключевыми словами “poisoning rodenticid” с 1951 по 2020 г. составило 637 статей. Из них 370 работ – за последние 10 лет (2010–2020 гг.), что свидетельствует об осознании серьезности этой проблемы. К сожалению, российская работа среди них одна – С.В. Андреева с соавт. (Андреев и др., 2019). В отечественной традиции преобладают исследования влияния ядов на популяционную структуру грызунов, что подробно анализируется в обзоре Шиловой и Чабовского (Shilova, Tchabovsky, 2009), а влияние на нецелевые виды остается вне поля зрения биологов.

Согласно принятым в РФ правилам обращения ядохимикатов и пестицидов, государство регулирует их оборот и применение, используя торговые названия, но не действующее вещество. Единый, ежегодно обновляемый реестр – “Государственный каталог” (2020) включает коммерческие названия – но совсем не действующие вещества, их концентрации, уровни очистки; поэтому оценка соответствия концентраций и состава заявленному не проводится. Способы применения на местах различны, далеко не всегда соответствуют инструкциям, часто проходят с грубыми нарушениями регламента. Торговое название выбирает фирма-производитель, поэтому возможно неумышленное превышение вносимой дозы токси-

кантов за счет использования смеси препаратов разных фирм.

Систематический мониторинг происходящего отсутствует (Нестерова, 2020). Последние девять лет в России никак не отслеживается производство, реализация, хранение и применение пестицидов и агрохимикатов при обработке полей. Это связано с тем, что, согласно действующему законодательству, Россельхознадзор лишен полномочий по надзору в этой области, но их не передали иной структуре.

Комплекс сведений о возможностях и результатах применения современных родентицидов позволяет утверждать, что в свободной продаже находятся отравляющие вещества, вероятность диагностики которых крайне ограничена.

ПОСЛЕДСТВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ РОДЕНТИЦИДОВ В НЕКОТОРЫХ ПРИРОДНЫХ СИСТЕМАХ РФ

В октябре 2019 г. в администрацию Новониколаевского района Волгоградской области сообщили об обнаружении в полях мертвых зайцев-русаков⁴ (*Lepus europaeus*) и окрашенного зерна, рассыпанного дорожками. Была создана комиссия, обследовали некоторые поля, нашли трупы зайцев без следов ранений и внешних повреждений, 4 тушки передали в районную станцию по борьбе с болезнями животных. Вскрытие было проведено по сокращенному протоколу, учитывая недостаточную свежесть материала (октябрь, температура +5–20°C, от обнаружения трупов до обследования прошло несколько дней). При патологоанатомическом обследовании (Станция по борьбе с болезнями животных Новониколаевского района) подтверждено отсутствие ранений. Установлено, что при чистых слизистых, подкожной клетчатке и кишечнике, легочная полость наполнена черно-красным экссудатом, печень и почки отечны, что соответствует морфологической картине при отравлении родентицидами – антикоагулянтами. После вскрытия трупный материал и пробы зерна были уничтожены (сожжены) без токсикологического анализа.

На полях, граничащих с зонами обнаружения трупов, численность зайцев-русаков не сократилась и примерно соответствовала наблюдавшейся ранее, что косвенно свидетельствует об отсутствии инфекционного заболевания.

Агрофирма, на полях которой были найдены трупы зайцев, подтвердила применение родентицидов-антикоагулянтов 2-го поколения для ограничения численности мышевидных грызунов. Использовали самодельные механические при-

⁴ Здесь и далее: написание русского названия по (Соколов и др., 1994).

Таблица 1. Встречаемость следов зайцев-русаков при автомаршруте по воспроизводственному участку в Новониколаевском районе Волгоградской области

Наличие следов зайцев на маршруте 68 км	Присутствуют 5 и более	Единичные 2–4	Отсутствуют 0–1
Сумма отрезков маршрута, км	10.2	19.9	38
Доля маршрута, %	15	29	56

способления для размещения протравленного зерна в поле, что нарушает регламент применения данной группы препаратов. Не были представлены документы о составе препаратов и графиках обработок, использовании специальной техники и оборудования, сведения о специальной профессиональной подготовке сотрудников, допущенных к работе с ними. Под давлением администрации района агрофирма прекратила использование самодельных механических устройств для разбрасывания зерна к концу 2019 г. и не применяла их в 2020 г.

В Новониколаевском районе около 30 лет проводят полевые работы сотрудники ИПЭЭ РАН⁵ (сбор материала для исследований⁶ системы хищник–жертва с использованием борзых собак). Работа включает поиск и подъемы зайцев в полях, пригодных для преследования борзыми. Были отработаны маршруты движения, несколько изменяющиеся в разные годы, в зависимости от состава растительности⁷, состояния грунта, погодных условий. Жесткая локализация маршрутов и учеты не требовались.

В ноябре–декабре 2019 г. встречи зайцев отсутствовали на многих маршрутах, обеспечивавших стабильную работу в течение последних 15 лет. В отдельных полях провели обследования – пешие маршруты по высокотравью (трава не кошенная, 20–50 см высотой) вдоль полей с озимыми. Использовали борзых в свободном поисковом поведении. На некоторых полях полностью отсутствовали подъемы зайцев, но находили мацерированные трупы (обнаружено более 23 зайцев и один барсук на 20–25 км пешего маршрута 1 человека с 7 собаками). В свободном поисковом поведении борзые проходят большее расстояние, чем человек. Исследования перемещений борзых с помощью посекундной gps-регистрации показали, что их суммарная длина включает значительные индивидуальные вариации и колеблется в пределах 1.2–1.8 маршрута человека, которого они сопровождают (Шубкина и др., 2008, 2010). При-

мерный расчет позволяет полагать, что при длине маршрута человека 25 км, 7 сопровождающих борзых прошли еще 262 км, то есть общая длина маршрутов обследования за 6 дней составила около 300 км. Однако на удалении около 1 км от локаций трупов на соседних полях наблюдались подъемы зайцев.

В январе 2020 г. мы специально обследовали воспроизводственный (закрытый для охоты) участок зайца-русака и прилегающую территорию на автомашине, при высоте снежного покрова 5–10 см. Был выбран день, когда в 10–15 км от обследуемого участка регистрировали от 5 до 15 пересечений следов зайцев на грунтовых дорогах на км маршрута (табл. 1). Установлено, что в легко доступных для сельхозтехники полях следы зайцев отсутствуют или присутствуют в необычно малом количестве. Отдельные следы (до 5 на 1 км) отмечены в труднодоступных для техники участках (грунтовые дороги на склонах оврагов или в низинах, поросших кустарниками). Представленные данные не являются зимним маршрутным учетом, но они свидетельствуют о том, что на значительной части воспроизводственного участка зайца-русака отсутствуют следы его активности.

Инфекционные заболевания домашних кроликов, спектр которых пересекается с таковым у зайцев, летом и осенью 2019 г. в Новониколаевском районе не зарегистрированы, что подтверждает предположение о токсической природе причин падежа. Это подтверждается также скачкообразными изменениями числа встреч зайцев: в ряде полей, где раньше их подъемы были обычны, живые зайцы отсутствовали, но были трупы. Однако число встреч на соседних полях не изменилось.

В январе 2020 г. в нескольких районах Краснодарского края специалисты регионального Министерства природных ресурсов установили массовые (тысячи особей) падежи птиц разных видов (зерноядные, всеядные и хищные) и зайцев-русаков на отдельных участках. Часть собранных тушек отправили на исследование в Кропоткинскую краевую ветеринарную лабораторию, исключившую инфекционные заболевания представленных птиц.

Как и в Волгоградской области, агрофирмы рассыпали протравленное зерно с помощью самодельных устройств (сообщение охотнадзора).

⁵ ФБГУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН).

⁶ Поддержаны грантами Секции общей биологии отделения биологических наук РАН и РФФИ.

⁷ Например, испытания и тренировка борзых не проводятся по полям подсолнечника и вблизи них, по замороженной или размокшей пашне и т.п.

Таблица 2. Список тушек птиц и млекопитающих, собранных в Краснодарском крае⁸ 24–25 января 2020 г. на двух маршрутах (протяженность около 7 км)

№ п/п	Русское название	Латинское название	Собрано
1	Клинтух	<i>Columba oenas</i>	35
2	Вяхирь	<i>Columba palumbus</i>	2998
3	Заяц-русак	<i>Lepus europaeus</i>	5
4	Сорока	<i>Pica pica</i>	5
5	Сойка	<i>Garrulus glandarius</i>	3
6	Канюк	<i>Buteo buteo</i>	11
7	Зимняк	<i>Buteo lagopus</i>	4
8	Курганник	<i>Buteo rufinus</i>	2
9	Пустельга	<i>Falco tinnunculus</i>	2
10	Болотная сова	<i>Asio flammeus</i>	3
11	Ушастая сова	<i>Asio otus</i>	2

Отличие в том, что с самого начала сведения о массовом падеже поступили в МЧС. Сотрудники Министерства природных ресурсов Краснодарского края обратились в полицию, было возбуждено уголовное дело. Для патологоанатомического вскрытия и исследования на токсиканты в местах массового падежа собраны тушки птиц и млекопитающих 11 видов (табл. 2). Повторных обследований местности не проводили, то есть факты отсроченной гибели не оценивали.

Следует напомнить, что из приведенных в табл. 2 видов животных зерноядными (консументами 1-го порядка) являются голуби и зайцы, в то время как сороки и сойки – всеядные, а еще 6 видов птиц (№№ 6–11) – хищные (консументы 2-го порядка). Отравление консументов 1-го порядка могло происходить при поедании отравленного зерна либо при контакте с ним. Однако хищные птицы – консументы 2-го порядка – могут получить токсиканты только при поедании зерноядных птиц и мышевидных грызунов – консументов 1-го порядка. Таким образом, в Краснодарском крае зарегистрирована передача токсикантов по цепям питания. Наличие бромдиолона подтверждено химическим анализом (каждый в 6 повторностях), доказавшим его присутствие в тканях и содержимом внутренних органов погибших животных (курганник, ушастая сова, канюк, клинтух, полевка из зоба совы). Средние значения (0.005–0.05 мгк/г пробы) у птиц очень малы и более чем вдвое ниже зарегистрированного у полевки, изъятый из желудка канюка (0.09 мгк/г пробы). Учитывая, что до химического анализа трупы более 6 мес. хранили в замороженном состоянии, нельзя исключить частичного распада токсиканта. Тем не менее, 1) факт отравления бромдиолоном был подтвержден на птицах двух трофических уровней; 2) есть основания полагать, что леталь-

ная доза для птиц существенно ниже описанной для грызунов, что, согласно протоколам вскрытий, может быть связано с поступлением препарата через дыхательную систему.

ИПЭЭ РАН зафиксировал факты не регламентного применения ратицидов еще в 2008 г. на территории Ботанического сада МГУ им. М.В. Ломоносова. Отравление собак происходило при хватке и переносе (без поедания) крыс и мышей, при обнюхивании нор и окружающей земли, при обнюхивании обработанного родентицидами зерна, разбросанного на грунте. В результате погибло 8 собак из коллекции Института⁹. Ответственность¹⁰ за не соответствующее правилам применение препаратов на основе бромдиолонов приняла на себя государственная дератизационная станция. Однако запрета на обращение ядов не было, разъяснительную работу с сотрудниками Ботсада не вели и еще три года сотрудники получали яды и также не регламентно сыпали их на грунт, чтобы уменьшить поголовье мышевидных грызунов. После гибели еще 4 собак удалось добиться прекращения применения ядов, благодаря ссылке на действовавший тогда СанПиН (СП 3.5.3.1129-02)¹¹ – подозрение на отравление почвы рассматривалось как чрезвычайная ситуация. В современном СанПиН (СП 1.2.2584-10) такие определения и нормы действий отсутствуют.

⁹ При вскрытиях обнаружены гемorragии в легких, но не в желудке или кишечнике. У части животных отмечена отечность подкожной клетчатки, головного и спинного мозга. Провести токсикологический анализ не удалось, несмотря на обращения в Бюро судебно-медицинской экспертизы Москвы и Московской области.

¹⁰ В 2008 г. для государственной дератизационной станции было достаточно описаний вскрытий.

¹¹ В случаях возникновения чрезвычайных ситуаций, связанных с отравлением (подозрением на отравление) людей, загрязнением помещений, атмосферного воздуха, почвы, немедленно извещается орган, уполномоченный осуществлять федеральный государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

⁸ Данные по сбору тушек в местах массовой гибели представлены Минприроды и полицией Краснодарского края.

Таблица 3. Оценка риска гибели животных при применении родентицидов (по: Erickson, Urban, 2004)

Тип и название родентицида	Первичный риск		Вторичный риск	
	птицы	млекопитающие	птицы	млекопитающие
АК1 Дифацинон	Низкий	Высокий	Варьирует	Высокий
АК1 Хлорофацинон	Низкий или варьирует	Высокий	Низкий	Высокий
АК1 Варфарин	Низкий	Высокий	Низкий	Варьирует
АК2 Бродифакум	Высокий	Высокий	Высокий	Высокий
АК2 Дифетиалон	Высокий	Высокий	Высокий	Высокий
АК2 Бромдиолон	Низкий или варьирует	Высокий	Низкий	Высокий
ИР Бромэталин	Варьирует или высокий	Высокий	Недостаточно данных	Нет данных
ИР Фосфид цинка	Высокий	Высокий	Низкий	Низкий
ИР Холекальциферол	Низкий или варьирует	Высокий	Недостаточно данных	Нет данных

Примечание: АК1 – антикоагулянты 1-го поколения; АК2 – антикоагулянты 2-го поколения; ИР – иные родентициды, не антикоагулянты.

Приведенные факты показывают, что использование родентицидов в РФ не контролируется, но оказывает прямое воздействие на животных.

ПРИМЕНЕНИЕ РОДЕНТИЦИДОВ – ИСТОРИЯ И СОВРЕМЕННОСТЬ

До распространения антикоагулянтов наиболее часто применяемым родентицидом был фосфид цинка – при смачивании выделяется фосфин, опасный для всех животных. Фосфин ведет к быстрой гибели животных, но обладает резким вкусом и запахом, что делает возможным адаптацию к его применению: грызуны, получившие малые дозы, могут выжить и начинают избегать приманки. Помимо этого, работа с фосфидом цинка (алюминия, магния) требует профессионализма и строгого соблюдения правил техники безопасности при хранении и использовании (он легко активируется при увлажнении и портится), в отличие от антикоагулянтов, поэтому в настоящее время его применяют гораздо реже. Фосфид цинка, как и его аналоги, на протяжении некоторого времени был запрещен, но сейчас опять внесен в Каталог разрешенных препаратов РФ.

Детальный анализ результатов применения разных видов родентицидов сделан полтора десятилетия назад Эриксоном и Урбаном (Erickson, Urban, 2004). В работе “Потенциальный риск девяти родентицидов для птиц и нецелевых млекопитающих”, выполненной по заказу Агентства охраны природы США, проведен анализ так называемых рисков применения токсикантов: первичного (прямое поедание) и вторичного (при поедании добычи или падали). Изучали антикоагулянты 1-го и 2-го поколения и иные препараты. Объектом исследования служили птицы (более 80 видов) и млекопитающие (более 50 видов). Проведено сравнение смертности в зависимости

от способа потребления, дозы, концентрации в приманках. Это позволило оценить возможную опасность гибели животных при контактах с приманками: так называемый первичный риск при прямом контакте с отравленными приманками и вторичный – при опосредованном. Как и следовало ожидать, максимальный первичный риск и у птиц, и у млекопитающих отмечен для фосфида цинка. Вторичный риск при применении быстро распадающегося фосфида цинка оказался менее выражен, в отличие от бродифакума и дифетиалона (Erickson, Urban, 2004). Уровни первичного и вторичного рисков воздействия на нецелевые виды оказались неодинаковы, их сравнение указывает на необходимость дифференцированного подхода при оценке воздействия родентицидов на биоразнообразие (табл. 3).

Приведенные в табл. 3 данные указывают на то, что токсиканты различаются по выраженности первичных и вторичных рисков. Эти различия необходимо учитывать при планировании и проведении обработок от грызунов. Представляется весьма вероятным, что для сохранения естественных экосистем более важным является не прямая токсичность препаратов, но скорость их распада, то есть снижение рисков вторичных отравлений. Нельзя забывать, что почти двадцать лет назад были выполнены и опубликованы работы, доказывавшие меньшую опасность фосфидов по сравнению с суперварфаринами (Staples et al., 2003).

Данные, приведенные в табл. 3, также указывают на то, что первичные риски для млекопитающих достаточно высоки во всей линейке перечисленных веществ. Но риски вторичного отравления различны – они значительно выше при применении антикоагулянтов 2-го поколения.

В 2011 г. в РФ для истребления мышевидных грызунов были разрешены 18 антикоагулянтов 2-го поколения на основе производных оксикумарина

(бродифакума, бромадиолона и флюкумафена) и производных и изомеров фенацина (Яковлев, Бабич, 2011). Антикоагулянты 1-го поколения также находятся в свободной продаже. В настоящее время список разрешенных средств дополнен препаратами быстрого действия на основе фосфидов цинка, алюминия и магния.

Напомним, что подтверждение наличия антикоагулянтов 2-го поколения требует специального оборудования, отсутствующего в большинстве клиник и токсикологических лабораторий РФ. Химико-аналитические исследования в нашей стране до настоящего времени посвящены оценке соотношения различных суперварфаринов в приманках (Андреев и др., 2019). Госстандарт (ГОСТ Р 58481-2019) регламентирует “внешний вид, плотность, массу, а также содержание действующего вещества в родентицидных средствах” — но не оценку их присутствия в организмах животных и человека. Отечественных работ по изучению содержания этих препаратов у человека и животных в WoS не найдено, хотя Г.М. Галстян с соавт. (2020) упоминают о токсикологическом исследовании больных людей при массовом отравлении. Присутствие суперварфаринов в пробах крови человека обсуждается в работе Г.В. Захаровой с соавт. (2019).

Наиболее распространены препараты на основе бромадиолона и бродифакума. Их принято считать препаратами кишечного действия, сочетающимися комбинированный механизм с острым эффектом: по острой токсичности при введении в желудок относятся к чрезвычайно опасным веществам. Отмечено кожно-резорбтивное действие (Иваницкая и др., 2011). ЛД₅₀ бромадиолона для разных видов млекопитающих варьирует на порядок: для кабана составляет 3 мг/кг, а для крыс — 150 мг/кг (Poché et al., 2018). Последние данные свидетельствуют о возможности воздействия на ЦНС при отсутствии выраженного гемолитического синдрома (Feinstein et al., 2017; Wang et al., 2017; Zuo et al., 2019), что соответствует нашим наблюдениям при гибели собак питомника в 2006—2011 гг. Проводимый нами анализ результатов вскрытий птиц, погибших от отравления, свидетельствует о поступлении смертельных доз токсиканта через дыхательные пути. Однако в массовом сознании суперварфарины принято считать низко токсичными.

Что именно известно про практику и следствия применения этих родентицидов?

Еще в 1990-х гг. (с расширением применения антикоагулянтов 2-го поколения) описаны случаи отравления голубей и куропаток, серых цапель, водоплавающих и хищных птиц (Lamarque et al., 1999, цит. по Guitart, 2009), лисиц и расклевывающих их орлов (Antoniou et al., 1996, цит. по Guitart, 2009). Отравление признано причиной гибели

ли половины (52.6%) диких птиц, поступивших на токсикологический анализ в Греции за 6 лет (Antoniou et al., 2005, цит. по Guitart, 2009). Второй по распространенности группой животных, систематически гибнущих при применении родентицидов, принято считать зайцеобразных (Edwards et al., 2000, цит. по Guitart, 2009).

Передача антикоагулянтов в пищевых цепях описана давно, неоднократно, в разных странах и на разных континентах (Morriss et al., 2005). Наиболее емкой представляется работа (Joermann, 1998), включающая собственные данные и обзор работ в разных странах за 40-летний период (1955—1995 гг.). Сравнивали летальность родентицидов для хищников и падальщиков при поедании грызунов, получавших отравленные приманки. “Наименее опасным для хищников и падальщиков оказался фосфид цинка: за годы исследований не было выявлено ни одного случая гибели подопытных животных при поедании ими грызунов, отравленных этим ядом, хотя и регистрировались случаи интоксикации. В опытах с антикоагулянтами 1-го поколения (хлорофацинон, куматетралил и варфарин) гибель птиц была зарегистрирована лишь в одном случае, гибель млекопитающих, напротив, наступала после 3-дневной экспозиции. Антикоагулянты 2-го поколения (бродифакум, бромадиолон, дифенакум и флюкумафен) вызывали гибель подопытных птиц после их кормления отравленными грызунами в течение всего нескольких дней, в исключительных случаях — 1 дня. Гибель млекопитающих наступала спустя 3 дня” (Милевская, 2000, с. 510).

Современные исследования доказывают передачу родентицидов по пищевым цепям. Антикоагулянты, преимущественно 2-го поколения, обнаружены у 68% из 344 исследованных хищных птиц и млекопитающих в Испании (López-Perea et al., 2015), найденных мертвыми или агонизирующими. Бромадиолон и бродифакум, использовавшиеся для борьбы с мышами, определены как причина гибели койотов в пригородах Денвера (Poessel et al., 2015).

Многолетние исследования куньих на содержание антикоагулянтов-родентицидов 2-го поколения проведены в Дании (Elmeros et al., 2018). Изучали ткани животных, сбитых автомашинами и уничтоженных при защите домашней птицы (внутри помещений и в радиусе 25 м от них). Установлено, что следы этих веществ присутствуют в тканях у 99% каменных куниц (*Martes foina*, n = 71) и 90% лесных хорей (*Mustela putorius*, n = 69). В Испании встречаемость суперварфаринов в тканях диких животных — конкурентов 2-го порядка положительно коррелирует с урбанизацией (Lopez-Perea et al., 2019), то есть с их использованием городскими жителями и фермерами.

Таким образом, опасность антикоагулянтов для нецелевых видов тесно связана со сложившейся практикой их применения и отсутствием профессионального контроля. Это также означает, что находящиеся в открытой продаже широкодоступные токсиканты поступают в продукты питания и переходят к человеку.

СУПЕРВАРФАРИНЫ И ЧЕЛОВЕК

Существует передача бромдиолонов в пищевые продукты человека — они могут присутствовать в молоке, поэтому в Швейцарии разрабатываются методы их детекции при производстве йогурта путем подбора бактериальных культур, прекращающих рост в их присутствии (Nathurusinghe, Ibrahim, 2012, 2016).

Зарегистрированы прямые отравления людей родентицидами — но до последних лет анализ был ограничен случаями суицидов и случайных отравлений, при которых установление токсиканта не требуется и не проводится (что описано далее). Подробно описаны клинические симптомы в период пребывания в стационаре, процедура детоксикации (Зобнин и др., 2013). Сделано патологоанатомическое описание изменений головного мозга при отравлении родентицидами (Ивлева и др., 2017), дано описание методами магнитно-резонансной томографии (Wang et al., 2017). Анализ изменения частоты использования родентицидов в качестве яда при суициде в провинции Хубей показал возрастание числа случаев от 5.6% в 1957–1982 до 19.7% в 1999–2008 гг. Отравления людей родентицидами составляют существенную долю причин смерти не только в Китае, но и в Северной Индии (Liu et al., 2009). Правильное определение отравления родентицидами-антикоагулянтами осложняется как отсутствием легкого доступа к необходимому высокоточному оборудованию, так и недостаточной осведомленностью медиков о возможности отравления (Chong, Mak, 2019).

Отравления родентицидами зарегистрированы на всех континентах. Центр отравлений в Иллинойсе описывает резкое возрастание числа пациентов с кровоточивостью: у всех обследованных отмечены сублетальные дозы бродифакума, и/или дифенакума, и/или бромдиолона (Devgun et al., 2020). В Самарской и Ульяновской областях в 2019 г. произошло массовое (80 установленных пациентов) отравление подсолнечным маслом (Галстян и др., 2020). Масло было изготовлено из семян подсолнечника, обработанных родентицидами. У всех пациентов наблюдался геморрагический синдром. Анализы, сделанные у части пациентов, подтвердили наличие антикоагулянтов в крови и в использовавшемся масле.

Сравнительный анализ отравлений показывает, что препараты, действующие не остро — антикоагулянты 2-го поколения, в практике применения гораздо опаснее многих, применявшихся ранее (антикоагулянты 1-го поколения, иные родентициды, табл. 3). Это связано со способностью к накоплению и длительностью их выведения. Так, например, полувыведение варфарина у крысы происходит менее чем за 2 сут (40 ч), а для бродифакума достигает 180 дней (Erickson, Urban, 2004). У человека период полувыведения бродифакума колеблется от 10 до 69 сут (243–1656 ч) (Галстян и др., 2020).

Современные данные показывают высокую опасность суперварфаринов: по лимитирующему показателю токсичности и опасности родентицидных средств — кумулятивному эффекту (средства относятся к 1-му классу чрезвычайно опасных по действующей классификации токсичности и опасности родентицидов). Бромдиолон остро токсичен в низких дозах (<https://biopax.ru/articles/bromdialon/>). Однако системные исследования присутствия этих препаратов не проводятся: Госстандарт (ГОСТ Р 58481-2019) предназначен для исследований химических препаратов на основе бромдиолонов, но не для анализа отравления ими животных и человека.

Представленный краткий обзор показывает сочетание высокой опасности антикоагулянтов 2-го поколения с крайне низкой вероятностью их своевременного обнаружения. Особо опасно отсутствие научно обоснованных тактик, стратегии и контроля применения токсикантов, включая родентициды и другие химически активные вещества, влияющие на представителей животного мира и человека. Хищные животные являются индикаторными видами химико-биологической опасности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Массовое использование родентицидов в агроценозах и природных системах происходит в ходе двух частично пересекающихся процессов: при общих обработках полей и при обнаружении локальных очагов особо опасных инфекций (чумы, туляремии и др.). Общую обработку полей проводят по своему усмотрению сельхозпроизводители, а контролем численности носителей ООИ (особо опасные инфекции) занимаются специалисты противочумной системы.

Деятельность специалистов противочумной системы (входит в состав Роспотребнадзора) направлена на предотвращение вспышек особо опасных природных заболеваний. Она включает «организацию и проведение санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий при возникновении чумы и других особо

опасных, природно-очаговых и зоонозных инфекционных заболеваний, их лабораторную диагностику; соблюдение требований специальной техники безопасности работ с микроорганизмами I–II групп патогенности” (Приказ Федеральной службы по надзору ... № 274, 2015). В РФ существует 19 Федеральных противочумных учреждений, однако их задачи включают противоэпидемические мероприятия, но не установление токсикантов, сбор и доставку материалов для анализа.

Деятельность сельхозпроизводителей направлена на повышение рентабельности и получение прибыли. Работу с родентицидами выполняют наемные работники, не имеющие специального образования и, в лучшем случае, прошедшие лишь общий инструктаж. Специализированные обследования и мониторинг состояния их здоровья отсутствуют.

Информация исследователей естественных биосистем об использовании родентицидов ограничена. Родентициды применяют после посева озимых, до наступления холодов, осенью и в начале зимы, тогда как полевые исследования зоологов и экологов происходят преимущественно в периоды максимальной активности грызунов — весной и летом. Поэтому биологи лишены информации об обработках, и вопрос о возможном долговременном воздействии на животных просто не встает. При этом сроки обработки (до наступления холодов) затрудняют сбор и доставку для исследований погибших животных — приходится выполнять анализ частично разложившихся тканей, в которых концентрация токсикантов снижена за счет естественного распада.

Токсикологические лаборатории не лицензированы для вскрытий и изъятия проб — это должны делать иные организации. Поэтому, даже при оперативной работе охотнадзора, охотников, местного населения не ясно, куда следует отправлять собранный материал. При привлечении органов внутренних дел ситуация не улучшается — у них отсутствуют условия и оборудование для хранения, нормативы и разрешения. Станции по борьбе с болезнями животных не обязаны принимать и обеспечивать сохранность материалов, даже если они не поддадутся давлению местных агропроизводителей, не заинтересованных в установлении нарушений регламента применения токсикантов. Для перевозки биоматериалов в другие регионы требуется заключение об отсутствии их инфицированности (Приказ Минздравсоцразвития № 564н, 2017) — следовательно, количество собираемых образцов (тушек) должно быть достаточно для проведения первичных исследований в пределах района и для передачи на исследование и изъятие проб для анализов. Наконец, не известно, какие именно организации могут производить анализы и устанавливать конкретные

токсиканты — если не считать единичные коммерческие фирмы, обеспечивающие анализы и сопровождение материалов при судебных спорах по очень высоким ценам, недоступным для сельских районов.

Следует констатировать, что даже при своевременном обнаружении массового отравления диких животных, быстрое и правильное определение причин этого события маловероятно. Следовательно, отсутствует принципиальная возможность защиты людей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современном российском законодательстве о применении родентицидов используется устаревшая классификация животных — подразделение их на полезных и вредных, поэтому гибель многих представителей нецелевых видов рассматривается априори как положительное явление. Однако гораздо важнее отсутствие в нормативных документах упоминания о возможности передачи химических веществ по цепям питания, что подтверждено результатами исследования проб из Краснодара и литературными данными. Биологические и охотничьи ресурсы в документах Минсельхоза не упомянуты, игнорируется существование пищевых цепей.

Гибель хищных птиц (консументов 2-го порядка) свидетельствует о получении достаточных доз яда от погибших травоядных (консументов 1-го порядка) — то есть о передаче по трофическим цепям. Таким образом, отравление хищных как летающих, так и наземных доказывает возможность поступления токсикантов в организм человека, сочетающего свойства консументов 1-го и 2-го порядков. Отравление птиц, связанных с водоемами, прежде всего цапель, питающихся рыбами и земноводными, свидетельствует о поступлении токсикантов в воду и о возможности отравления человека также и этим путем. Факты, упомянутые выше (присутствие бромдиолона в молоке и подсолнечном масле), подтверждают, что эта возможность может быть реализована на практике. Реакция хищников — их гибель — означает недопустимый уровень использования токсикантов.

Системный контроль применения современных родентицидов в РФ отсутствует. Как отмечено выше, не существует структур, в обязанности которых входит контроль качества и фактического применения родентицидов, находящихся в свободной продаже. Последние десять (после 2011 г.) лет в России никак не отслеживается производство, хранение, реализация и применение агрохимикатов при обработке полей. Согласно действующему законодательству, Россельхознадзор

лишен полномочий по надзору в этой области, но при этом их не передали никакой другой структуре.

Анализ литературы показывает, что: а) при использовании родентицидов существуют массовые отравления диких животных, основанные на передаче по пищевым цепям; б) в свободной продаже находятся токсиканты, вероятность диагностики которых крайне ограничена; в) в РФ отсутствует надзор за составом, производством, хранением, реализацией и применением токсикантов; г) во всем мире токсиканты поступают в продукты питания, что приводит к массовым отравлениям. Однако в нашей стране эти проблемы остаются вне поля зрения биологов; не проводятся исследования влияния современных родентицидов на природные системы и биологическое разнообразие.

Отрицать необходимость применения агрохимии невозможно, но ее биологические и экосистемные последствия требуют научных исследований и мониторинга. Представленный обзор литературы и некоторые факты применения родентицидов доказывают существование угрозы биологической безопасности в области, сочетающей воздействие химических и биологических факторов. Отсутствие физических границ агроценозов позволяет использовать сведения о состоянии диких животных в качестве индикаторной системы для прогнозирования возможных рисков.

БЛАГОДАРНОСТИ

Первичный сбор материала организован администрацией Новониколаевского района Волгоградской области и сотрудниками Министерства природных ресурсов Краснодарского края. Патологоанатомические исследования выполнены в ИПЭЭ РАН при участии специалистов: гистолога Е.В. Барановой, ветеринарных врачей М.В. Токуновой, Э.Г. Вольф. Токсикологический анализ выполнен под руководством С.В. Андреева в Лаборатории химических исследований дезинфекционных средств ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора. Авторы выражают всем глубокую благодарность.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания ИПЭЭ РАН.

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 исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреев С.В., Беляев Е.С., Ищенко А.А. Новый универсальный метод для определения антикоагулянтов второго поколения в родентицидах // Изв. вузов. Химия и хим. технол. 2019. Т. 62. № 1. С. 85–90.
- Галстян Г.М., Давыдкин И.Л., Николаева А.С. и др. Случай массового отравления антикоагулянтными родентицидами // Гематол. и трансфузиол. 2020. Т. 65. № 2. С. 174–189.
- Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации 2020. М.: Минсельхоз России, 2020. Часть 2. 51 с. <http://mcx.ru/ministry/departments/departament-rasteniievodstva-mekhanizatsii-khimizatsii-i-zashchity-rastenyi/industry-information/info-gosudarstvennaya-usluga-po-gosudarstvennoy-registratsii-pestitsidov-i-agrokhimikatov/>
- ГОСТ Р 58481-2019. Средства родентицидные. Методы определения физико-химических показателей // <https://docinfo.ru/gost-r/gost-r-58481-2019/>
- Заева Г.Н., Мальцева М.М., Березовский О.И. и др. Риск вторичных отравлений нецелевых видов при использовании дератизационных средств // Дезинфекционное дело. 2004. № 3. С. 5–64.
- Зобнин Ю.В., Кутателадзе Р.Г., Малых А.Ф. и др. Острые отравления антикоагулянтами по данным Иркутского токсикологического центра // Сиб. мед. журн. 2013. Т. 120. № 5. С. 131–134.
- Захарова Г.В., Пашовкина Р.Н., Краснова Р.Р. Варфарин и его аналоги – антикоагулянты кумаринового ряда в судебно-химическом и химико-токсикологическом анализе // Судебная медицина. 2019. Т. 5. № 1. С. 120–121.
- Иваницкая Е.Г., Кочергина-Никитская Е.В., Шастова Л.А. Инструкция № 45-11 от 21.02.2011 г. по применению средства родентицидного “Бромцид-Флюид”. ЗАО “Научно-коммерческая фирма “РЭТ”, Россия: НЧНОУ “Институт пест-менеджмента”, 2011. 8 с. https://dez-sredstva.com/svidet_instruct/rodent_concentr/bromocid-fljuidin.pdf.
- Ивлева Е.А., Богомолов Д.В., Путинцев В.А., Бужешов М.К. Особенности морфологических проявлений переживания отравления родентицидом // Декабрьские чтения по судебной медицине. РУДН. 2017. С. 38–41.
- Мансурова Р.Г., Кубасова Н.В., Попкова В.В., Юсупова Ф.Г. Изолирование карбофурана из биологического материала, его идентификация и количественное определение // Актуальные вопросы судебной медицины и права / Ред. В.А. Спиридонов, Н.Ш. Нигматуллин. Казань, 2010. Т. 1. С. 123–127.
- Милевская И.А. Действие родентицидов на хищников и падальщиков, поедающих отравленных грызунов. Реферат // Экол. безопасн. в АПК. Реф. Журн. 2000. № 3. С. 510.
- Нестерова Д. Химические обработки полей представляют особую опасность для людей, животных и насекомых / Россельхознадзор о массовой гибели пчел под Омском // Информационное агентство “Новый Омск”. 03.07.2020. https://newsomsk.ru/news/104376-ximicheskie-obrabotki_poley_predstavlyayut_osobuyu.

- Приказ № 274 Федеральной службы. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 1 апреля 2015 г. № 274 “Об организации деятельности системы противочумных учреждений Роспотребнадзора”. 2015. 24 с.
- Приказ № 564н. Минздравсоцразвития // Приказ от 28 августа 2017 г. № 564н “Об утверждении правил транспортировки биологического материала...”. 2017. 5 с.
- Рыльников В.А. Управление численностью проблемных биологических видов: Учебное пособие // Т. 3. Дератизация / Ред. В.А. Рыльников. М.: Институт пест-менеджмента, 2011. 220 с.
- СанПиН 3.5.3.1129-02. СП 3.5.3.1129-02 Санитарно-эпидемиологические требования к проведению дератизации // <http://docs.cntd.ru/document/901824665>.
- СанПиН 1.2.2584-10. СП 1.2.2584-10 Гигиенические требования к безопасности процессов испытаний, хранения, перевозки, реализации, применения, обезвреживания и утилизации пестицидов и агрохимикатов // <http://docs.cntd.ru/document/902204851>.
- Шубкина А.В., Северцов А.С., Чаинов Н.В. Методические аспекты применения аппаратно-программного комплекса на базе GPS для характеристики передвижений и поведения животных степной и лесостепной зон // Зоол. журн. 2008. Т. 87. № 11. С. 1–11.
- Шубкина А.В., Северцов А.С., Чепелева К.В. Изучение охотничьего поведения борзых с помощью gps-регистрации: количественная характеристика поиска и преследования жертвы // Зоол. журн. 2010. Т. 89. № 2. С. 238–253.
- Яковлев А.А., Бабич Н.В. Родентициды // Защита и карантин растений. 2011. № 10. С. 42–44.
- Antoniou V., Zantopoulos N., Skarsis D., Tsoukali-Papadopoulou H. Pesticide poisoning of animals of wild fauna // Vet. Hum. Toxicol. 1996. V. 3. P. 212–213.
- Binev R., Valchev I., Russenov A., Nikolov Y. Investigations on some chemical indices in blood of dogs after experimental acute intoxication with the carbamate insecticide carbofuran // Int. J. Adv. Res. 2016. V. 49. № 2. P. 108–115.
- Carbofuran poisoning at the interface between wildlife, livestock and humans. Report. Wildlife Conservation Society, LACANET, 2016. 17 p.
- Chong Y.-K., Mak T.W.-L. Superwarfarin (long-acting anticoagulant rodenticides) poisoning: from pathophysiology to laboratory-guided clinical management // Clin. Biochem. Rev. 2019. V. 40. № 4. P. 175–185.
- Devgun J.M., Rasin A., Kim T. et al. An outbreak of severe coagulopathy from synthetic cannabinoids tainted with long-acting anticoagulant rodenticides // Clin. Toxicol. 2020. V. 58. № 8. P. 821–828.
- Edwards P.J., Fletcher M.R., Berny P. Review of the factors influencing the decline of the European brown hare, *Lepus europaeus* (Pallas, 1778) and the use of wildlife incident data to evaluate the significance of paraquat // Agr. Ecosyst. Environ. 2000. V. 79. P. 95–103.
- Elmeros M., Lassen P., Bossi R., Topping C.J. Exposure of stone marten (*Martes foina*) and polecat (*Mustela putorius*) to anticoagulant rodenticides: effects of regulatory restrictions of rodenticide use // Sci. Tot. Environ. 2018. V. 612. P. 1358–1364.
- Erickson W., Urban D. Potential risks of nine rodenticides to birds and nontarget mammals: a comparative approach. Washington DC: United States Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substance, 2004. 225 p.
- Feinstein D.L., Akpa B.S., Ayee M.A. et al. The emerging threat of superwarfarins: history, detection, mechanisms, and countermeasures // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2017. V. 1374. № 1. P. 111–122.
- Guitart R., Sachana M., Caloni F. et al. Animal poisoning in Europe. Part 3: Wildlife // Veterin. J. 2009. V. 183 (3). P. 260–265.
- Hathurusinghe M.H., Ibrahim S.A. Survival and growth of yogurt culture in MRS broth in the presence of selected rodenticides // Milchwissenschaft. 2012. V. 67. № 1. P. 51–54.
- Hathurusinghe M.H., Ibrahim S.A. Influence of brodifacoum and bromadiolone on growth of yoghurt cultures in milk // Int. J. Dairy Technol. 2016. V. 69. № 1. P. 51–56.
- Joermann G. A review of secondary-poisoning studies with rodenticides // Bull. OEPP/EPPO Bull. 1998. V. 28. № 1/2. P. 157–176.
- Lamarque F., Artois M., Berny P., Hatier C. Réseau SAGIR: douze ans de toxicovigilance // Bull. Mens. Off. Nat. de la Chasse. 1999. V. 246. P. 18–26.
- Liu Q., Zhou L., Zheng N. et al. Poisoning deaths in China: type and prevalence detected at the Tongji Forensic Medical Center in Hubei // Forensic Sci. Int. 2009. V. 193. P. 88–94.
- López-Perea J.J., Camarero P.R., Molina-Lopez R.A. et al. Interspecific and geographical differences in anticoagulant rodenticide residues of predatory wildlife from the Mediterranean region of Spain // Sci. Tot. Environ. 2015. V. 511. P. 259–267.
- Lopez-Perea J.J., Camarero P.R., Sanchez-Barbudo I.S., Mateo R. Urbanization and cattle density are determinants in the exposure to anticoagulant rodenticides of non-target wildlife // Environ. Poll. 2019. V. 244. P. 801–808.
- Masuda B.M., Fisher P., Beaven B. Residue profiles of brodifacoum in coastal marine species following an island rodent eradication // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2015. V. 113. P. 1–8.
- Morgan A.M. Teratogenic effect of the coumarinic anticoagulant rodenticide, racumin in white rats // J. Egypt. Soc. Toxicol. 2006. V. 34. P. 5–14.
- Morriss G., Nugent G., Fisher P. Exposure of feral pigs to brodifacoum baiting for rodent control. DOC Science Internal Series Ser. 194. Wellington, New Zealand: Dept. of Conservation, 2005. 16 p.
- Poché R.M., Poché D., Franckowiak G. et al., Field evaluation of low-dose warfarin baits to control wild pigs (*Sus scrofa*) in North Texas // PLoS One. 2018. V. 13. № 11. P. e0206070.
- Poessel S.A., Breck S.W., Fox K.A., Gese E.M. Anticoagulant rodenticide exposure and toxicosis in coyotes (*Canis latrans*) in the Denver metropolitan area // J. Wildl. Dis. 2015. V. 51. Iss. 1. P. 265–268.

- Ruiz-Suárez N., Rial C., Boada L.D. et al. Are pet dogs good sentinels of human exposure to environmental polycyclic aromatic hydrocarbons, organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls? // *J. Appl. Anim. Res.* 2015. V. 44 (1). P. 135–145.
- Shilova S.A., Tchabovsky A.V. Population response of rodents to control with rodenticides // *Curr. Zool.* 2009. V. 55 (2). P. 81–91.
- Staples L., Smith M., Pontin K. Use of zinc phosphide to overcome rodent infestations // *Proceedings of the Australian postharvest technical conference, Canberra. CSIRO Stored grain research laboratory, Canberra.* 2003. P. 110–115.
- Thompson L.A., Darwish W.S. Environmental chemical contaminants in food: review of a global problem // *J. Toxicol.* 2019. V. 6. P. 1–14.
- Watts M. Poisoning our future: PAN Asia Pacific launches book on insidious effects of pesticides on children. PAN AP, 2013. 168 p.
- Wang M., Yang Y., Hou Y. et al. Effects of bromadiolone poisoning on the central nervous system // *Neuropsych. Dis. Treat.* 2017. V. 13. P. 2297–2300.
- Yegambaram M., Manivannan B., Beach T., Halden R. Role of environmental contaminants in the etiology of Alzheimer's disease: a review // *Curr. Alzh. Res.* 2015. V. 12. № 2. P. 116–146.
- Zuo W., Zhang X., Chang J. et al. Bromadiolone poisoning leading to subarachnoid haemorrhage: a case report and review of the literature // *J. Clin. Pharm. Ther.* 2019. V. 44 (6). P. 958–962.

Rodenticides and Wildlife Deletion

E. V. Erofeeva^a, Ju. E. Surkova^b, and A. V. Shubkina^{a, *}

^a *Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^b *Moscow Pedagogical State University, Moscow, Russia*

*e-mail: annashubkina@rambler.ru

Contamination with chemical products used in agricultural activities is the largest human food safety problem, but their use cannot be completely ruled out. The particular importance belongs to rodenticides, which affect mammals, birds and humans not only directly, but also indirectly. This is largely due to the fact that since the end of the twentieth century, are used anticoagulants of the second generation, the so-called superwarfarins. Their advantage is the apparent simplicity of storage and use, which led to the formation of an erroneous idea of the conditional harmlessness of this group of drugs. A brief history of the use of rodenticides, their effects on animals, birds and humans is presented. Only in recent decades the sublethal effects and accumulation of superwarfarins begun to be intensively investigated. It has been established that these drugs cause a wide range of negative effects on mammals and birds, including damaging effects on the respiratory, vascular and nervous systems, although different species of animals differ in sensitivity to them. Moreover, the transmission of these drugs along the food chain has been proven, leading to the death of not only representatives of the fauna, but also humans. For the first time, data was collected on the consequences of the use of superwarfarins in some natural systems of the southern regions of the Russian Federation. The facts of mass death of consumers of the 1st and 2nd order (birds and mammals, the so-called non-target species), directly related to their use, are given. Analysis of the literature shows that: when using rodenticides, there are massive poisoning of wild animals and birds, based on transmission along the food chain; there are toxicants on the free market, the probability of diagnosis of which is extremely limited; in the Russian Federation, there is no supervision over the composition, production, storage, sale and use of toxicants; toxicants enter human food products, which leads to mass poisoning of people in different countries. However, in our country these problems remain outside the field of vision of biologists; there is no study of the effect of modern rodenticides on natural systems and biological diversity. Practical aspects that complicate the work are mentioned. The high danger of superwarfarins is combined with an extremely low probability of their early detection. It is concluded that the death of predatory animals – consumers of the 2nd order is an indicator of the presence of a threat to biological safety in the area that combines the impact of chemical and biological factors.

Keywords: anticoagulants, non-target species, wild animals, natural systems

УДК 581.192:615.322:599.73.5

ТОКСИЧНЫЕ ФТАЛАТЫ В КОРМОВЫХ РАСТЕНИЯХ СУХИХ СТЕПЕЙ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

© 2021 г. А. Е. Скопин^{1, *}, А. А. Анискина², Г. В. Пермякова², С. Р. Лоскутов²,
Б. Д. Абатуров³, Р. Р. Джапова⁴, Е. Ч. Аюшева⁴

¹Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства
им. проф. Б.М. Житкова, Киров, Россия

²Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия

³Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

⁴Калмыцкий государственный университет им. Б.Б. Городовикова, Элиста, Россия

*e-mail: scopin@bk.ru

Поступила в редакцию 16.12.2020 г.

После доработки 16.02.2021 г.

Принята к публикации 20.02.2021 г.

Представлены предварительные данные по первичному скринингу дибутилфталата в кормовых растениях и помете травоядных на пастбищах в Ростовской области и Калмыкии. Дибутилфталат зарегистрирован в 7 видах растений: *Phlomis pungens* Willd., *Lepidium latifolium* L., *Lepidium perfoliatum* L., *Anabasis aphylla* L., *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze, *Salicornia europaea* L., *Salsola soda* L. Наибольшая концентрация этого соединения обнаружена в видах семейства Amaranthaceae. Из протестированных образцов помета травоядных дибутилфталат выделен только из помета сайгака (*Saiga tatarica* L., 1766). Поступление в организм сайгака данного ксенобиотика связано с тем, что содержащие дибутилфталат растения входят в группу его основных кормов. Высказываются предположения о возможном потенциальном воздействии дибутилфталата в кормах на численность популяции копытных. Представлен обзор токсического и физиологического действия фталатов на организм млекопитающих. Необходимо проведение мониторинговых исследований по выявлению источников загрязнения фталатами в местах обитания сайгака.

Ключевые слова: дибутилфталат, химический состав, кормовые растения, сайгак

DOI: 10.31857/S0042132421040062

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия антропогенное загрязнение все интенсивнее затрагивает природные экосистемы. Подавляющее большинство аналитических работ в этой области посвящены накоплению и циркуляции различных тяжелых металлов в экосистемах, и на порядок меньше исследований – по антропогенным загрязнителям органического происхождения. К настоящему моменту техногенная органика уже проникла даже в самые изолированные уголки планеты. Огромные объемы пластика обнаружены на вершинах неприступных гор, в глубоководных впадинах океана и в не заселенных человеком территориях (Eriksen et al., 2014; Jambeck et al., 2015; Bergmann et al., 2015, 2019; Morgana et al., 2018; Ostle et al., 2019; Shahnavaz et al., 2019; Microplastics ..., 2020; Streit-Bianchi et al., 2020; Zantis et al., 2021). Сельскохозяйственные земли оказались наиболее широко загрязнены микропластиком по всему миру, но точные уровни его концентраций и особенно-

сти распределения в экосистемах неизвестны, и реальное экологическое значение подобного загрязнения до сих пор не оценено (Piehl et al., 2019). Пластик может выступать в качестве источника загрязнения самыми разнообразными соединениями, но в последнее время пристальное внимание уделяется веществам, разрушающим эндокринную систему – от бисфенола А, обладающего ярко выраженным эстрогенным эффектом, до различных фталатов, снижающих уровень тестостерона в организме (Teuten et al., 2009; Fred-Ahmadu et al., 2020).

Фталаты представляют собой обширную группу химических соединений – смесь продуктов деградации искусственных полимерных материалов, которые нередко доминируют в объемах загрязняющих веществ в природных водах (Gunaalan et al., 2020). Одним из обычных компонентов микропластика является дибутилфталат – эфир фталевой кислоты и пластификатор, образующийся в процессе постепенного разло-

жения отходов и легко мигрирующий в окружающую среду, а высокая температура еще больше ускоряет высвобождение этого вещества из фрагментов пластика (Benjamin et al., 2015; Ye et al., 2020). Дибутилфталат входит в список веществ, использование и уровень безопасного потребления которых регламентируется в европейских официальных документах (Silano et al., 2019). Особую опасность фталаты представляют при постоянном поступлении, поскольку они достаточно быстро трансформируются и выводятся из организма млекопитающего. У человека дибутилфталат выводится в течение 48 ч (Frederiksen et al., 2007).

В абиотических условиях период полураспада дибутилфталата посредством водного гидролиза составляет 22 года, под действием атмосферного фотоокисления – до 6 дней, а при биологической деградации скорость распада этого фталата ускоряется: полное биоразложение в морских осадках происходит в течение двух месяцев (Staples et al., 1997). Пластиковые отходы на стадии биodeградации являются перманентным источником фталатов и поддерживают их циркуляцию в биосфере. Таким образом, создается псевдоустойчивость фталатов, что может привести к хроническому загрязнению экосистем и отразиться на состоянии здоровья диких животных (Hart et al., 2016).

После попадания в почву фталаты легко проникают в растения, постепенно перемещаясь из корней в листья (Sun et al., 2015). Ингибируя метаболизм питательных веществ, эти поллютанты изменяют химический состав всего растения, что выражается в снижении концентрации белка и других компонентов (Li et al., 2006). Наличие токсичных фталатов в эфирном масле различных трав отмечалось неоднократно, в частности, у видов рода *Artemisia* L. (Azimova, Glushenkova, 2012), поэтому, несмотря на то, что их наличие в растении, в том числе в маслах, связывали преимущественно с техногенным загрязнением (Graham, 1973; Schmidt, Wanner, 2016; Adams, 2017), были предположения и об эндогенном происхождении фталатов. В последнее время появились работы, подтверждающие возможность эндогенного синтеза фталатов в растениях, грибах и микроорганизмах (Шафикова и др., 2019; Tian et al., 2016). Тем не менее, вне зависимости от источника происхождения, фталаты в составе растительных кормов поступают с пищей в организм консументов, могут негативно воздействовать на эндокринную систему и выступать в качестве триггеров мутагенеза (Sharma, Kaur, 2020).

По имеющимся медицинским исследованиям известно, что дибутилфталат, как и многие другие фталаты, может оказывать разрушающее воздействие на гормональную и репродуктивную системы организма и выступать одной из

причин бесплодия млекопитающих (Fisher et al., 2004; Matsumoto et al., 2008; Huang et al., 2009; Veeramachaneni, Klinefelter, 2014; Jeddi et al., 2016; Lyche, 2017; Silano et al., 2019; Roth et al., 2020). Экспериментально доказано гепатотоксическое действие фталатов, проявляющееся в провоцировании воспалительных процессов, нарушении структуры клеток и истощении антиоксидантной ферментной защиты (Radha, Mahaboob Basha, 2020). Дибутилфталат выводится из организма млекопитающего через мочу и помет, поэтому химический анализ выделений позволяет судить о поступлении этого соединения с пищей (Frederiksen et al., 2007; Guo et al., 2011; Hart et al., 2016; Tao et al., 2021).

Цель исследования – проведение скрининга растений и помета травоядных млекопитающих на наличие широко распространенного экологически опасного соединения – дибутилфталата ($C_{16}H_{22}O_4$) с оценкой его экологического значения на степных пастбищах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор кормовых растений и помета травоядных проводили в октябре 2018 и в мае 2019 г. на разных участках экспериментальных вольеров в ассоциации “Живая природа степи” (Орловский район, Ростовская область) и в северной части буферной зоны заповедника “Черные земли” (Республика Калмыкия). Растения собирали в бумажные пакеты, высушивали в тени при комнатной температуре. Сборный образец по каждому виду растений составлял не менее 150 г сухой массы. Свежий помет, собранный в поле, высушивали при температуре 35–40°C в лаборатории в чашках Петри, с периодическим его перемешиванием. Сборный образец помета от нескольких особей одного вида травоядных составлял не менее 50 г сухой массы. На наличие фталатов протестировано 29 видов наиболее часто встречающихся представителей кормового разнотравья: *Artemisia austriaca* Jacq., *A. arenaria* DC., *A. santonica* L. (syn. *A. caerulea* L.), *A. lerchiana* Weber.ex Stechm., *A. pauciflora* Weber.ex Stechm., *Ephedra distachya* L., *Anabasis aphylla* L., *Salicornia europaea* L. (syn. *S. fruticosa* L.), *S. herbacea* Fée ex Ung.-Sternb.), *Salsola soda* L., *Bassia sedoides* (Pall.) Aschers (syn. *Sedobassia sedoides* (Pall.) Freitag & G. Kadereit), *Atriplex aucheri* Moq., *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze, *Galatella villosa* (L.) Reichenb., *G. tatarica* (Less.) Novopokr. (syn. *G. sedifolia* subsp. *dracunculoides* (Lam.) Greuter), *Kochia prostrata* (L.) Schrad. (syn. *Bassia prostrata* subsp. *prostrata* A. J. Scott.), *Suaeda salsa* (L.) Pall., *Pastinaca clausii* (Lebed.) Calest., *Chaerophyllum prescottii* DC., *Trinia multicaulis* (Poir.) Schischk., *Prangos odontalgica* (Pall.) Herrnst.&Heyn., *Achillea millefolium* L., *Tanacetum achilleifolium*

Таблица 1. Содержание дибутилфталата в кормовых растениях и помете сайгака

Виды растений и образцы помета травоядных	Место и время сбора образца	Время удерживания, мин	Линейный индекс удерживания	Концентрация дибутилфталата, %
<i>Phlomis pungens</i> Willd.	Ростовская область, май 2019	38.929	1970	4.054
<i>Lepidium perfoliatum</i> L.	Ростовская область, май 2019	38.93	1970	3.775
<i>Lepidium latifolium</i> L.	Ростовская область, май 2019	38.928	1970	2.675
<i>Anabasis aphylla</i> L.	Республика Калмыкия, октябрь 2018	38.93	1970	0.710
<i>Limonium gmelinii</i> (Willd.) O. Kuntze	Ростовская область, октябрь 2018	38.933	1970	2.003
<i>Salicornia europaea</i> L.	Ростовская область, октябрь 2018	46.659	1948	6.501
<i>Salsola soda</i> L.	Ростовская область, октябрь 2018	38.928	1970	5.906
Помет сайгака (<i>Saiga tatarica</i> L.)	Ростовская область, май 2019	46.673	1964	1.180

(Bieb.) Sch. Bib, *Tripleurospermum perforatum* (Merat.) M. Lainz (syn. *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch.-Bip.), *Lepidium latifolium* L., *L. perfoliatum* L., *Verbascum phoeniceum* L., *Falcaria vulgaris* Bernh., *Tulipa gesneriana* L., *Phlomis pungens* Willd. (syn. *Phlomis herba-venti* subsp. *pungens* (Willd.) Maire ex De-Filippis). Латинские названия растений приведены по принятым руководствам (Бакташева, 2012; Czerepanov, 2007) и по сайту <https://www.catalogueoflife.org>. На присутствие фталатов проанализирован помет сайгака (*Saiga tatarica* L., 1766), бизона (*Bison bonasus* L., 1758), лошади Пржевальского (*Equus ferus* Boddaert, 1785) и двугорбого верблюда (*Camelus ferus* Przewalskii, 1878), свободно пасущихся на пастбищах.

Образцы растений подготавливали методом дробной мацерации при комнатной температуре. Помет анализировали без какой-либо подготовки, только измельчали и помещали в вials объемом 15 мл (vialу заполняли на 2/3 объема).

Анализируемое сырье заливали пентаном поэтапно. Время экстракции семь суток. Из них в течение четырех суток материал экстрагировали с трехкратным объемом экстрагента. Далее сырье прессовали и в течение двух суток проводили экстракцию с однократным объемом чистого экстрагента. Завершающий этап – экстракция в течение суток оставшимся объемом экстрагента.

Определение фталатов в растениях выполняли на хромато-масс-спектрометре “Agilent 5975C-7890A” (США) с использованием автоматического пробоотборника для жидких образцов (Agilent 7683). Применяли 3-метровую кварцевую колонку HP-5 с внутренним диаметром 0.25 мм. В качестве газа использован гелий с постоянным потоком 1.1 мл/мин. Начальный изотермический участок колонки 50°C. Подъем температуры в колонке со скоростью 4°C/мин до 200°C и при скорости 10 – до 220°C.

Анализ помета выполнен на том же хромато-масс-спектрометре с использованием парофазного пробоотборника HeadSpace Sampler G 1888. Температура термостата пробоотборника 100°C. Время выдержки образца в термостате 7 мин. Температура испарителя 280°C. Использована та же колонка, что и при определении образцов растений. Содержание фталатов указано в % от общего содержания (доля площади пика фталатов от суммарной площади пиков других соединений на хроматограмме).

Идентификацию фталатов проводили с использованием базы данных масс-спектральной библиотеки NIST05a.L и значений линейных индексов удерживания с помощью программы AMDIS (Ткачев, 2008; D’Arcy, Mallard, 2004; NIST Chemistry Web Book, 2018).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При скрининге дибутилфталат обнаружен в химическом составе семи видов разнотравья (24% от общего числа проанализированных видов) (табл. 1). Общее количество идентифицированных соединений с помощью хромато-масс-спектрометра в каждом виде трав может достигать сотни соединений, но большинство из них имеют крайне низкую концентрацию (доли от процента). Компоненты химического состава, содержание которых превышает 1%, можно рассматривать как основу химического состава растений в проанализированной пробе. Дибутилфталат занимает существенную долю в видовом химическом профиле у исследованных трав (табл. 1). Особенно значительна концентрация дибутилфталата в представителях семейства Amaranthaceae. У солероса (*Salicornia europaea* L.) дибутилфталат имеет наибольшую концентрацию среди всех идентифицируемых соединений, что показывает важную роль этого соединения в метаболизме сукку-

лента. Кроме того, у солероса выделен и диизобутилфталат (0.7%).

При химическом анализе помета дибутилфталат был выделен только из образцов от сайгака в концентрации, показывающей значительную долю поступления этого соединения с кормом. В образцах помета других травоядных дибутилфталат не обнаружен.

ОБСУЖДЕНИЕ

До настоящего исследования анализ кормовых растительных ресурсов в степной зоне России на наличие фталатов не проводился, поэтому представленные данные – первые предварительные оценки по встречаемости этих соединений в природной флоре региона. Высокую концентрацию дибутилфталата в растениях вряд ли можно рассматривать только с точки зрения его эндогенного синтеза в виду его высокой концентрации в химическом профиле трав, поэтому наиболее вероятный источник растительных фталатов – продукты химической и микробиологической трансформации пластиковых отходов в окружающей среде.

Фталаты в пищевых растениях обычно не встречаются, или их концентрация очень низка (Fierens et al., 2017). Но некоторые растения проявляют способность их аккумулировать. В частности, у видов из семейства Amaranthaceae содержание дибутилфталата может достигать крайне высоких значений – у *Atriplex cana* Lebed. до 22% от общей суммы вторичных метаболитов в эфирном масле (Wei et al., 2019). Солерос (*Salicornia europaea* L.) неоднократно указывался как концентратор дибутилфталата (Wang et al., 2013b; Samuel et al., 2018). У *Chenopodium album* L. была выявлена незначительная концентрация дибутилфталата (Khomarlou et al., 2018).

Растения не просто накапливают диэфир фталатов, но и трансформируют их с использованием особых ферментов до моноэфиров. Уровень поглощения фталатов растениями может быть связан с интенсивностью липидного обмена. Корни с повышенным содержанием липидов способны накапливать эти гидрофобные соединения (Sun et al., 2015).

Наиболее высокая концентрация дибутилфталата нами отмечена в солянках, что легко объяснимо благодаря более быстрому проникновению органического поллютанта через жидкие среды, чем через почву. Произрастание солянок, как правило, приурочено к берегам водоемов и биотопам с избыточным увлажнением. Максимальная концентрация дибутилфталата зарегистрирована нами в солеросе (*Salicornia europaea* L.), который является однолетником. Анализ концентрации фталатов в солянках, в случае конта-

минации среды растворимыми формами этих соединений, вероятно будет отражать общее состояние загрязнения локального биотопа в текущий вегетационный сезон.

Значительные территории Западного Прикаспия в течение десятилетий подвергались искусственному орошению. Чем длительнее было орошение, тем интенсивнее и масштабнее происходили процессы соленакопления в почвах (Бананова, 1990; Геннадиев и др., 1993; Петров, 1996). На территории Калмыкии в настоящее время широко распространены разные типы почв с повышенной концентрацией солей (Калинин и др., 2018). Смена физико-химического профиля почв в сторону большей солёности, естественно, стала сопровождаться увеличением площадей растительных сообществ засоленных территорий (Бананова, 1990), которые имеют значение в качестве кормового ресурса в основном только для сайгака.

Экспериментально доказано, что разложение микропластика и выделение фталатов в среду зависит от pH раствора. Вымывание фталатов из микропластика в солевых растворах выше, чем в пресной и даже морской воде (Luo et al., 2019; Gupta et al., 2020). Обычно фталаты с более высокой молекулярной массой обладают меньшей растворимостью в воде, но это – относительно и зависит от многих параметров среды: температуры, давления и пр. (Staples et al., 1997). Таким образом, выделение фталатов из пластика будет сильно зависеть от сезона года и состава среды, в которой локализованы отходы. Дибутилфталат как фталат с низкомолекулярной массой в 3700 раз лучше растворяется в воде, чем диэтилгексилфталат, а моноэфир этих фталатов растворяются в воде еще на порядок лучше (Sun et al., 2015). Поэтому территории с засоленными почвами могут представлять собой потенциальные источники загрязнения – естественные резервуары с интенсивными процессами биохимической деструкции пластика и циркуляцией фталатов. Кроме того, на частицах микропластика адсорбируются тяжелые металлы, что еще в большей степени может усиливать токсичность органических отходов (Xu et al., 2020). У домашних копытных резкое увеличение в содержимом рубца концентрации тяжелых металлов происходит сразу после поступления значительного количества микропластика вместе с кормом (Mahadappa et al., 2020).

Суккулентные галофиты аккумулируют в своих тканях большое количество солевых растворов как средство сохранения влаги в растении. Все галофиты по степени их солеустойчивости подразделяют на несколько категорий (Акжигитова, 1982). Солерос (*S. europaea* L.) относится к гипергалофитам – группе, наиболее устойчивой к избыточному составу солей в почве, поэтому он

обильно произрастает на солончаках и по берегам водоемов. Способность накапливать растворы солей объясняет наиболее высокую концентрацию фталатов в этом растении. Разные виды родов *Salsola* L. и *Limonium* Mill. относятся к группам эуалофитов и гемигалофитов, произрастающих на менее засоленных почвах (Акжигитова, 1982), и, соответственно, вероятность поступления фталатов в них ниже, что и подтверждается нашими анализами. Высокое содержание влаги в тканях *Lepidium perfoliatum* L., по сравнению с другими представителями степного разнотравья (Колпиков, 1955), также легко объясняет нахождение водорастворимых фталатов именно у этого весеннего эфемера и их отсутствие у других кормовых растений. В последние годы культура *Lepidium sativum* L. применяется в качестве модельного тест-объекта при токсикологической оценке сред на загрязнение микропластиком и фталатами (Balestri et al., 2019; Pignattelli et al., 2020).

Большинство галофитов имеют мощную корневую систему, превышающую по биомассе надземные части растения (Базилевич, Титлянова, 2008), и наиболее полно охватывающие верхние слои почвы, а у некоторых видов стержневые корни проникают в зону капиллярной каймы засоленных грунтовых вод (Коровин, 1961). Таким образом, водорастворимые поллютанты могут легко проникать в растения. Вследствие этого, антропогенное загрязнение территорий, в том числе фталатами, важно учитывать при развитии системы галофитного растениеводства, кормопроизводства и фитомелиорации, а также при разработке мероприятий по ирригации территорий солеными водами (Шамсутдинов З., Шамсутдинов Н., 2005; Шамсутдинов и др., 2017).

Распространение и запасы кормовых растений, в которых обнаружены фталаты, определяются не только площадью засоленных почв. Общее проективное покрытие видов из родов *Salsola* L. и *Lepidium* L. зависит от мозаичности растительного покрова. В годы массового размножения грызунов, эти растения увеличивают свою биомассу, так как участвуют в формировании растительных сообществ, покрывающих бутаны сусликов и других землероев (Лавренко, 1952; Левина, 1964). Эти галофильные растения обильно произрастают в местах проседания бутанов после размывания осадками. При высокой численности грызунов площадь, занятая бутанами, составляет 1–2%, но локально может достигать 10% от общей площади полупустынных территорий Прикаспийской низменности (Левина, 1964). Соответственно, в эти годы увеличивается естественная продуктивность указанных галофитов на пастбищах. При изучении динамики урожайности растений на аридных пастбищах было показано, что многие эфемеры, в частности солянки, имеют очень сильные межгодовые колебания биомассы на

пастбище (Нечаева, 1980). В итоге запасы кормовых видов солянок могут определять динамику численности и стимулировать начало миграций у травоядных животных, связанных с этими растениями.

Растения-концентраторы фталатов — это рудеральные и малопоедаемые виды, которые избегают потреблять домашние копытные, но активно использует сайгак. *Phlomis pungens*, *Limonium gmelinii*, *Salicornia europaea*, *Lepidium latifolium*, *Salsola soda*, *Anabasis aphylla* не поедаются скотом, и эти растения лишь изредка едят верблюды (Ларин и др., 1951, 1956). Наблюдаемые случаи поедания этих растений домашними копытными объясняются во многом содержанием в них значительного количества протеина и отсутствием возможности выбора других кормов на пастбище, поэтому вышеуказанные растения составляют часть кормовой базы преимущественно в осенне-зимний период (Курочкина и др., 1986). Кроме того, в зимний период солянки (*Salsola*, *Salicornia* и *Anabasis*), содержащие алкалоиды (Растительные ресурсы ..., 2008), теряют или снижают свою токсичность. Чаще всего поедание солянок скотом и овцами отмечено после заморозков, что дополнительно связывают с вымыванием солей из естественных кормов после обильных осенних осадков (Якубов, 1955; Унчиев, 1960). Солянки — часто вынужденный корм, поэтому овцы, лошади и крупный рогатый скот подходят очень избирательно к поеданию определенных видов растительных-галофитов (Михеев, 1935; Якубов, 1955; Курочкина и др., 1986). Домашние травоядные часто не едят растения, в которых накапливаются фталаты, или их потребление крайне незначительно, поэтому из помета лошади, бизона и верблюда мы не смогли выделить дибутилфталат.

Большинство растений, где зафиксирован дибутилфталат, являются кормовыми для сайгака. Представители родов *Anabasis*, *Lepidium*, *Phlomis*, *Limonium* и *Salsola* входят в состав рациона этого копытного, к тому же солянки и анабазис могут быть важнейшим осенне-зимним кормом, необходимым для выживания вида в природе (Лебедева 1959, 1960; Банников и др., 1961; Фандеев, Слудский, 1982; Жирнов и др., 1998а; Абатуров и др., 2008, 2019). Обнаружение дибутилфталата в помете сайгака напрямую ассоциируется с его проникновением в организм вместе с растениями. У домашних копытных поступление фталатов в организм также напрямую связывают с кормами (Fierens et al., 2012). Фталаты хорошо всасываются в желудочно-кишечном тракте (Luche, 2017). Хотя возможно попадание этих соединений через водопой и при вдыхании пыли, содержащей микрочастицы поллютанта (Zhang et al., 2019).

Весной сайгак практически не посещает водопой, пополняя дефицит влаги только за счет кор-

мов (Фандеев, Слудский, 1982), поэтому выбор растений с высоким содержанием воды, а это в первую очередь галофиты и эфемеры, и служит основным источником поступления фталатов в организм травоядного. Отличия в кормовых предпочтениях сайгака по сравнению с другими растительноядными млекопитающими связаны с большей его устойчивостью к потреблению токсичных растений. На территории Калмыкии сайгак исторически придерживался солонцеватых степей (Орлов, 1928), что косвенно подтверждает его тесную зависимость от кормов, представленных галофитами.

Популяционную структуру свободно пасущихся травоядных определяют в первую очередь структура среды обитания и состояние кормовых ресурсов (Owen-Smith, 2010). Численность сайгака в северо-западной части Прикаспийской низменности в последние годы находится на низком уровне, и разрабатываются стратегии по его сохранению (Неронов и др., 2013). Предположение, что первопричиной резкого снижения численности сайгака был чрезмерный промысел и браконьерство (Рожков, Проняев, 2012; Каримова и др., 2020), не проясняет ситуацию со стабильно низкой численностью на протяжении последних лет в пределах заповедных территорий, где антропогенный фактор отсутствует. Одной из гипотез, объясняющих современное состояние численности сайгака в Прикаспии, рассматривают смену растительного покрова пастбищ в сторону преобладания ковыльных степей, менее пригодных для существования этого травоядного (Абатуров, 2007). На эту изолированную популяцию дополнительно накладывается фактор отсутствия миграций у сайгака и его переход к стационарному обитанию, что значительно снижает возможности избирательного питания и перемещения в биотопы с большими запасами и доступностью корма (Близнюк, 2009).

По статистическим данным последних лет численность сайгака в Калмыкии (Богун, 2019) находится на низком уровне, и отсутствует ожидаемый рост у этой популяции в условиях режима охраны. Однако для этой антилопы характерно быстрое восстановление популяции. Это всегда происходило после многократно наблюдаемых эпизодов катастрофического снижения численности копытных во время джутов — периодов с суровыми зимними климатическими условиями на фоне острой нехватки кормов (Слудский, 1963). У сайгака основной механизм быстро восстанавливать численность давно известен и связан с ранним половым созреванием и вовлечением молодых самок в размножение при сформированной половозрастной структуре популяции (Жирнов и др., 1998б). Но в последние годы для калмыцкой популяции сайгака зарегистрированы заметные изменения в показателях размножения

(растянутость периода гона, сдвинутость гона на более поздние сроки — конец декабря—начало января, пропуск эструсов у самок). Причина этих изменений не совсем понятна и в основном объясняется нехваткой половозрелых самцов в популяции (Кокшунова, 2013). Для других популяций сайгака таких изменений в размножении не зарегистрировано, поэтому для волго-уральской популяции сайгака в последние годы отмечено заметное возрастание численности (Сапанов, 2016). Таким образом, антропогенное загрязнение может представлять гораздо большую угрозу для стационарно живущей калмыцкой популяции и вольерных группировок, чем для широко мигрирующих животных, формирующих другие популяции сайгака.

Сайгак — гаремное животное, и репродуктивное здоровье ведущих самцов имеет особо важное значение для поддержания жизнеспособности популяции. Гон сайгака проходит в декабре, когда популяция уже перешла на питание осенне-зимними кормами, включающими разные виды солянок. Поэтому нельзя исключать возможное влияние ксенобиотиков, накапливающихся в этих растениях, на состояние репродуктивной системы животных. Дибутилфталат может оказывать влияние на начало наступления эструса и его течение (Salazar et al., 2004).

Загрязнение дибутилфталатом во многом лежит в непознанной многогранной плоскости цикла микропластика в экосистемах (Rillig, Lehmann, 2020). Его источником могут выступать различные пластиковые отходы и удобрения (Vikelsøe et al., 2002; Zhang et al., 2015, 2019; Sweeney et al., 2016). Это соединение легко распространяется в атмосфере и с осадками, а попадая в почву, проникает в растения, а затем в организм травоядных (Wang et al., 2013a; Selvaraj et al., 2015; Zhang et al., 2019; Ma et al., 2020; Langova et al., 2020). Косвенно это подтверждается повышенной концентрацией некоторых эфиров фталовой кислоты в навозе животных (Zorníková et al., 2011). Особо высокий уровень фталатов в окружающей среде отмечен в жаркий летний сезон, что объясняется большей растворимостью эфиров фталевой кислоты при повышенной температуре (Zorníková et al., 2011; Zhang et al., 2015). В последние годы все больше появляется аналитических работ, доказывающих передачу токсичных фталатов через грудное молоко, плаценту и слизистые покровы у млекопитающих (Enke et al., 2013; Kim et al., 2015; Lyche, 2017; Hliseníková et al., 2020).

Фталаты — липофильные соединения, поэтому они легко встраиваются и концентрируются в жировой ткани позвоночных. По индикации фталатов в жировой ткани, печени и молоке можно судить об интенсивности загрязнения ксенобиотиками кормов и безопасности использования

продуктов животного происхождения (Jarošová, 2006; Fierens et al., 2012; Frias, 2020). У копытных возрастание жирности молока сопровождается повышением в нем концентрации фталатов (Ge et al., 2016). В молоке овец зарегистрированы максимально рекордные уровни концентрации фталатов — до 20000 мкг/кг сухой массы, поэтому неудивительно, что встречаемость фталатов в тканях ягнят, питающихся молоком, выше, чем у взрослых животных (Rhind et al., 2007). Фталаты легко абсорбируются в кишечнике и изменяют метаболизм глюкозы в организме. Продукты деградации дибутилфталата могут вызывать инсулинорезистентность у самцов, развитие диабета у самок и приводить к ожирению (Majeed et al., 2017).

Однако об особенностях метаболизма фталатов в организме копытных после их поступления с кормом еще много неизвестно. В экспериментах по деградации частиц пластика в илах было показано нарушение процессов анаэробной ферментации, связанное со снижением образования метана и водорода (Peller et al., 2020). Скорее всего, в процессе переваривания корма в рубце у копытных фталаты могут оказывать влияние на разнообразие и активность симбиотных анаэробных микроорганизмов. Часть анаэробов — уникальные виды метаногенов, которые используют водород, а метан в свою очередь представляет собой один из конечных продуктов ферментации ими кормового субстрата (Cersosimo, Wright, 2015). Большое влияние на биохимические особенности пищеварения может оказывать и длительность ферментации ксенобиотиков. На беспозвоночных показано, что длительный процесс переваривания частиц пластика способствует большей вероятности проникновения фталатов в организм (Fred-Ahmadu et al., 2020), да и само наличие микропластика в пищеварительном тракте сильно изменяет структуру микробиома (Zhu et al., 2018).

Выделение фталатов из организма происходит двумя метаболическими путями. На первой фазе диэфиры фталевой кислоты гидролизуются до моноэфиров, а на второй фазе происходит гидрофильная глюкоронидная конъюгация, увеличивающая растворимость выводимых естественным путем фталатов (Frederiksen et al., 2007). У дибутилфталата, обладающего низкой молекулярной массой, скорость экскреции выше, чем у соединений с высокой молекулярной массой, поэтому во многих висцеральных органах (почки, селезенка, печень) фталаты с низкой молекулярной массой имеют высокую концентрацию (Yue et al., 2020). Высокая концентрация фталатов обнаруживается и в естественных жидкостях организма — амниотической жидкости, моче, крови, и поте (Frederiksen et al., 2007; Genuis et al., 2012). С мочой в виде моноэфиров выводится до 70% посту-

пившего с пищей дибутилфталата (Luche, 2017). В экскрементах концентрации данных соединений заметно ниже. В частности, из организма человека с экскрементами выводится лишь только 5% от всего введенного количества дибутилфталата (Frederiksen et al., 2007).

Основное влияние фталаты оказывают на репродуктивную и эндокринную системы травоядных, что необходимо учитывать при оценке отдаленных последствий для последующих поколений животных. Важно понимать, что основная опасность состоит в том, что фталаты могут действовать на организм, как и гормоны — даже в крайне низких концентрациях (Hlisníková et al., 2020). Фталаты негативно действуют как на репродуктивную систему самцов, так и самок. Однако характер и интенсивность воздействия разных соединений из группы фталатов может сильно отличаться (Radke et al., 2018).

Негативное воздействие фталатов на самцов более выражено и многократно доказано экспериментально в отношении дибутилфталата и диэтилгексилфталата (Radke et al., 2018). Фталаты с низкомолекулярной массой негативно воздействуют на репродуктивную систему самцов копытных даже при низких концентрациях (Yurdakok-Dikmen et al., 2019). В частности, дибутилфталат сильно снижает концентрацию тестостерона (Hlisníková et al., 2020). У самцов нарушается нормальный ход спермиогенеза вплоть до полного его отсутствия, ухудшается качество спермы, под воздействием ксенобиотиков оказываются связанными рецепторы стероидных гормонов, нарушается структура мембраны сперматозоидов и повреждается их ДНК (Yurdakok-Dikmen et al., 2019; Hlisníková et al., 2020; Roth et al., 2020).

В последние годы экспериментально доказано отрицательное воздействие фталатов на самок. Процесс развития фолликулов у полорогих длится несколько месяцев, поэтому хроническое поступление фталатов может нарушать развитие фолликулов особенно на ранних стадиях, вызывая их патологию, снижать скорость оплодотворения, изменять состояние цитоплазмы ооцитов, нарушать экспрессию генов и синтез эстрадиола (Kalo et al., 2015; Hlisníková et al., 2020; Roth et al., 2020). Также нарушается нормальный процесс роста и развития эмбрионов, снижается скорость образования бластоцист, что в итоге может привести к преждевременному прерыванию беременности (Roth et al., 2020). У молодых особей нарушаются сроки наступления полового созревания (Hlisníková et al., 2020).

К настоящему времени нет достаточного количества данных и не выработано единого консенсуса по вопросу влияния продуктов деградации пластика на организм диких млекопитающих с возможностью прогнозирования вреда в целом

для всей популяции (Zantis et al., 2021). Тем не менее, обнаружение нами дибутилфталата в биологических объектах позволяет выдвинуть еще одну гипотезу, связанную с отсутствием заметного увеличения численности калмыцкой популяции сайгака в последние годы. Вполне возможно, что низкая численность этой газели может быть также связана и с поступлением дибутилфталата в организм, что теоретически может оказывать негативное воздействие на репродуктивный потенциал популяции. Подтвердить или опровергнуть гипотезу воздействия фталатов на организм сайгака и в целом на популяцию возможно при диагностике большой выборки особей на наличие диэфиров и моноэфиров в помете животных, при идентификации моноэфиров как особо чувствительных биомаркеров в сперме самцов и в моче, а также при мониторинге гормонального статуса животных. Дибутилфталат, диэтилгексилфталат, бутилбензилфталат снижают уровень тестостерона, поэтому анализ уровня тестостерона у самцов, развивающихся плодов и молодых животных будет надежным критерием, отражающим негативное воздействие этих соединений на организм (Silano et al., 2019).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дибутилфталат присутствует во многих растениях из группы разнотравья: представители родов *Salsola*, *Salicornia*, *Anabasis*, *Lepidium*, *Phlomis*, *Limonium*. Наибольшая его концентрация обнаружена в солянках, поэтому эти растения можно использовать в качестве ключевых объектов мониторинга при оценке распространения ксенобиотиков в экосистемах степей и полупустынь, и особенно на территориях, действующих и планируемых вольерных комплексов для копытных. Солянки — однолетники, поэтому концентрация любых техногенных соединений в них будет показывать уровень загрязнения на исследуемой территории в текущем году.

Индикаторные растения, аккумулирующие фталаты, практически не поедает домашний скот, их в незначительном количестве используют двугорбые верблюды. Однако большинство этих растений входят в группу основных кормовых объектов сайгака, что позволяет успешно выживать популяции этого копытного в природе особенно в зимний период. Фталаты, в том числе дибутилфталат, представляют собой ксенобиотики, нарушающие на биохимическом и физиологическом уровне процессы нормального функционирования репродуктивной и эндокринной систем. Их поступление в высоких концентрациях и хроническое воздействие на организм, вызывает выраженный токсический эффект. Нарушение репродуктивной системы организма может спровоцировать яловость самок и стерильность самцов,

что в итоге может отразиться на совокупной численности популяции. Нами зафиксировано поступление в организм сайгака дибутилфталата с кормовыми растениями на примере вольерной группировки в Ростовской обл. На основании этого нами выдвигается гипотеза, что наблюдаемая стабильно низкая численность сайгака в Калмыкии в последние годы также теоретически может быть связана с поступлением фталатов в организм этих копытных, что вызывает особую обеспокоенность на фоне крайней важности поддержания здоровья половозрелых гаремных самцов, составляющих репродуктивное ядро популяции, и численность которых в вольноживущей популяции сайгака находится на низком уровне.

Присутствие дибутилфталата в помете травоядных ставит вопрос о необходимости дальнейших работ по изучению метаболизма растительных компонентов корма у копытных и оценке местообитаний животных по уровню контаминации кормов, почвы и природных вод антропогенными загрязняющими веществами.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Научные исследования были выполнены по гранту Российского фонда фундаментальных исследований (№ 18-04-00172 — проект “Токсические компоненты в растительности природных пастбищ как показатели качества кормовых ресурсов, их влияние на обеспеченность пищей и состояние популяций растительноядных млекопитающих в наземных экосистемах”).

В исследовании использовались аналитические приборы Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность за высказанные рецензентами замечания, что позволило значительно улучшить содержание статьи.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В исследовании, рассмотренном в статье, не использованы животные в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Абатуров Б.Д. Популяция сайгака в России и проблемы ее сохранения // Вестн. РАН. 2007. Т. 77. № 9. С. 785–793.

- Абатуров Б.Д., Ларионов К.О., Джапова Р.Р., Колесников М.П. Качество кормов и обеспеченность сайгаков (*Saiga tatarica*) пищей в условиях восстановительной смены растительности на Черных землях Калмыкии // Зоол. журн. 2008. Т. 87. № 12. С. 1524–1530.
- Абатуров Б.Д., Джапова Р.Р., Казьмин В.Д. и др. Сравнительные особенности питания лошади Пржевальского *Equus przewalskii*, двугорбого верблюда *Camelus bactrianus* и сайгака *Saiga tatarica* на степном изолированном пастбище // Изв. РАН. Сер. биол. 2019. № 6. С. 625–639.
- Аджигитова Н.И. Галофильная растительность Средней Азии и ее индикационные свойства. Ташкент: ФАН, 1982. 190 с.
- Бакташева Н.М. Конспект флоры Калмыкии. Элиста: Калмыц. ГУ, 2012. 112 с.
- Базилевич Н.И., Титлянова А.А. Биотический круговорот на пяти континентах: азот и зольные элементы в природных наземных экосистемах. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2008. 381 с.
- Бананова В.А. Современное состояние и прогноз антропогенного опустынивания на территории Калмыцкой АССР // Бюл. Моск. общ-ва испытателей природы. Отд. биол. 1990. Т. 95. № 2. С. 108–118.
- Банников А.Г., Жирнов Л.В., Лебедева Л.С., Фандеев А.А. Биология сайгака. М.: Сельхозиздат, 1961. 336 с.
- Близнюк А.И. Сайгак калмыцкой популяции. Элиста: НПП Джангар, 2009. 544 с.
- Богун С.А. Состояние популяции сайгака в заповеднике “Черные земли”: проблемы и перспективы ее освоения // Науч. тр. национального парка “Хвалынский”. Саратов-Хвалынский: Амирит, 2019. Вып. II. С. 7–14.
- Геннадиев А.Н., Пузанова Т.А., Герасимова М.И. Естественная и антропогенная эволюция почвенного покрова Западного Прикаспия // Вестн. МГУ. Серия геогр. 1993. № 1. С. 98–105.
- Жирнов Л.В., Холодова М.В., Бекенов А.Б., Грачев Ю.А. Корма, трофические связи и пищевое поведение // Сайгак: филогения, систематика, экология, охрана и использование. М.: Тип. Россельхозакадемии, 1998а. С. 122–143.
- Жирнов Л.В., Бекенов А.Б., Грачев Ю.А., Проняев А.В. Размножение // Сайгак: филогения, систематика, экология, охрана и использование / Ред. В.Е. Соколов, Л.В. Жирнов. М.: Тип. Россельхозакадемии, 1998б. С. 156–179.
- Калинин П.И., Кудреватых И.Ю., Ваганов И.М. и др. Биогеохимические процессы в степных ландшафтах Ергенинской возвышенности в голоцене // Почвоведение. 2018. № 5. С. 526–537.
- Каримова Т.Ю., Луцкина А.А., Неронов В.М. и др. Биологические особенности популяции сайгака Северо-Западного Прикаспия в периоды разной численности // Аридн. экосист. 2020. Т. 26. № 4. С. 51–58.
- Кокшуннова Л.Е. Увеличение продолжительности гона у сайгаков природной популяции и вольерной группы // Содержание и разведение сайгака в искусственных условиях / Ред. В.А. Миноранский. Ростов-на Дону: Изд-во D&V, 2013. С. 27–32.
- Колликов Д.И. Кормовые растения Черных земель Ставрополя в связи с изучением сезонных особенностей их водного режима // Мат. по изучению Ставропольского края. Ставрополь: Ставроп. кн. изд., 1955. Вып. 7. С. 333–337.
- Коровин Е.П. Растительность Средней Азии и Южного Казахстана. Ташкент: АН Узб. ССР, 1961. Т. 1. 452 с.
- Курочкина Л.Я., Османова Л.Т., Карибаева К.Н. Кормовые растения пустынь Казахстана. Алма-Ата: Кайнар, 1986. 208 с.
- Лавренко Е.М. Микрокомплексность и мозаичность растительного покрова степей как результат жизнедеятельности животных и растений // Тр. Ботанического ин-та АН СССР. Сер. 3 (Геоботаника). 1952. Вып. 8. С. 40–70.
- Ларин И.В., Агабабян Ш.М., Работнов Т.А. и др. Кормовые растения сенокосов и пастбищ СССР. М.-Л.: Госсельхозиздат, 1951. Т. 2. 948 с.
- Ларин И.В., Агабабян Ш.М., Работнов Т.А. и др. Кормовые растения сенокосов и пастбищ СССР. М.-Л.: Госсельхозиздат, 1956. Т. 3. 880 с.
- Левина Ф.Я. Растительность полупустыни Северного Прикаспия и ее кормовое значение. Л. Наука, 1964. 336 с.
- Лебедева Л.С. Питание сайгака на правом берегу Волги // Бюл. Моск. общ-ва испыт. природы. Сер. биол. 1959. Т. 64. Вып. 5. С. 27–35.
- Лебедева Л.С. Материалы к изучению весенних кормов и пастбищ сайгаков правобережья Волги // Зоол. журн. 1960. Т. 39. Вып. 9. С. 1438–1442.
- Михеев А.А. Естественные кормовые угодья. Пятигорск: Севкавказгиз, 1935. 144 с.
- Неронов В.М., Арьлова Н.Ю., Дубинин М.Ю. и др. Современное состояние и перспективы сохранения сайгака в Северо-Западном Прикаспии // Аридн. экосист. 2013. Т. 19. № 2 (55). С. 5–14.
- Нечаева Н.Т. Реакция пастбищной растительности на выпас скота в пустынях Средней Азии // Фитофаги в растительных сообществах. М.: Наука, 1980. С. 5–30.
- Орлов Е.И. Материалы к познанию фауны наземных позвоночных Калмыцкой области // Мат. к познанию фауны Нижнего Поволжья. Саратов: Изд-во отд. применения науч.-исслед. лаб. Наркомзема, 1928. Вып. 2. С. 1–47.
- Петров К.М. Естественные процессы восстановления опустошенных земель. СПб.: СПбГУ, 1996. 220 с.
- Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность // РАН, Ин-т проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова, Ботанический ин-т им. В.Л. Комарова / Ред. А.Л. Буданцев. СПб.—М.: КМК, 2008. Т. 1. 421 с.
- Рожков Ю.И., Проняев А.В. Популяции, виды, эволюция. М.: КМК, 2012. 433 с.
- Сапанов М.К. Влияние природно-климатических факторов на численность сайгаков (*Saiga tatarica* Pall.)

- (Bovidae, Artiodactyla) в Волго-Уральском междуречье // Поволж. экол. журн. 2016. № 4. С. 445–454.
- Слудский А.А. Джуты в евразийских степях и пустынях // Тр. Института зоологии АН Казахской ССР. Алма-Ата, 1963. Т. 20. С. 5–88.
- Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. Новосибирск: Офсет, 2008. 969 с.
- Унциев Н.Д. Биохимическая и хозяйственная характеристика кормовых растений зимних пастбищ Дагестана // Природная кормовая растительность Дагестана. Махачкала: Дагестан. ф-л АН СССР, 1960. С. 150–220.
- Фандеев В.А., Слудский А.А. Сайгак в Казахстане: экология, хозяйственное значение. Алма-Ата: Наука Казахской ССР, 1982. 160 с.
- Шамсутдинов З.Ш., Шамсутдинов Н.З. Галофитное растениеводство (эколого-биологические основы). М.: Сов. спорт, 2005. 404 с.
- Шамсутдинов Н.З., Шамсутдинова Э.З., Орловский Н.С., Шамсутдинов З.Ш. Галофиты: особенности экологии, мировые ресурсы, возможности многоцелевого использования // Вестн. РАН. 2017. Т. 87. № 1. С. 3–14.
- Шафикова Т.Н., Омеличкина Ю.В., Бояркина С.В. и др. Обнаружение эндогенных фталатов у бактериальных патогенов растений и животных // Докл. РАН. 2019. Т. 484. № 1. С. 121–124.
- Якубов Т.Ф. Песчаные пустыни и полупустыни Северного Прикаспия. М.: АН СССР, 1955. 532 с.
- Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography / Mass Spectrometry. Ver. 4.1. Baylor Univ.: Allured Pub. Corp., 2017. 804 p.
- Azimova Sh.S., Glushenkova A.I. Lipids, lipophilic components and essential oils from plant sources / Eds Sh.S. Azimova, A.I. Glushenkova, V.I. Vinogradova. New York: Springer, 2012. 992 p.
- Balestri E., Menicagli V., Ligorini V. et al. Phytotoxicity assessment of conventional and biodegradable plastic bags using seed germination test // Ecol. Indic. 2019. V. 102. P. 569–580.
- Benjamin S., Pradeep S., Sarath J., Kuma S. et al. A monograph on the remediation of hazardous phthalates // J. Hazard. Mat. 2015. V. 298. P. 58–72.
- Bergmann M., Gutow L., Klages M. Marine anthropogenic litter. Berlin: Springer Internat. Publishing, 2015. 447 p.
- Bergmann M., Mutzel S., Primpke S., Tekman M.B. et al. White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic // Sci. Adv. 2019. V. 5 (8). P. eaax1157. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax1157>
- Cersosimo L.M., Wright A.-D.G. Rumen methanogens // Rumen microbiology: from evolution to revolution / Eds A.K. Puniya et al. New Delhi: Springer India, 2015. P. 143–150.
- Czerepanov S.K. Vascular plants of Russia and adjacent states. New York: Cambridge Univ. Press, 2007. 528 p.
- D'Arcy P., Mallard W.G. AMDIS – user guide. Gaithersburg (MD, USA): U.S. Department of Commerce, 2004. 224 p. <https://www.nist.gov>.
- Enke U., Schleussner E., Palmke C. et al. Phthalate exposure in pregnant women and newborns – the urinary metabolite excretion pattern differs distinctly // Int. J. Hyg. Environ. Health. 2013. V. 216. № 6. P. 735–742.
- Eriksen M., Lebreton L.C., Carson H.S. et al. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea // PLoS One. 2014. V. 9. (12). P. e111913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- Fierens T., Van Holderbeke M., Willems H. et al. Phthalates in Belgian cow's milk and the role of feed and other contamination pathways at farm level // Food Chem. Toxicol. 2012. V. 50. P. 2945–2953.
- Fierens T., van Holderbeke M., Standaert A. et al. Phthalates // Toxins and other harmful compounds in foods / Eds A. Witeczak, Z.E. Sikorski. Boca Raton: CRC Press, 2017. P. 253–275.
- Fisher J.S. Environmental anti-androgens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome // Reproduction. 2004. V. 127 (23). P. 305–315.
- Fred-Ahmadu O.H., Bhagwat G., Oluyoye I.U. et al. Interaction of chemical contaminants with microplastics: principles and perspectives // Sci. Tot. Environ. 2020. V. 706. P. 135978. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135978>
- Frederiksen H., Skakkebaek N.E., Andersson A.-M. Metabolism of phthalates in humans // Mol. Nutr. Food Res. 2007. V. 51 (7). P. 899–911.
- Frias J. Sorption of potentially toxic elements to microplastics // Handbook of microplastics in the environment / Eds T. Rocha-Santos et al. Cham (Switzerland): Springer Nature AG, 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-030-10618-8_16-1
- Ge W.P., Yang X.J., Wu X.Y. et al. Phthalate residue in goat milk-based infant formulas manufactured in China // J. Dairy Sci. 2016. V. 99. P. 7776–7781.
- Genius S.J., Beesoon S., Lobo R.A., Birkholz D. Human elimination of phthalate compounds: blood, urine, and sweat (BUS) study // Sci. World J. V. 2012 (2). Article ID615068. 10 p. <https://doi.org/10.1100/2012/615068>
- Graham P.R. Phthalate ester plasticizers – why and how they are used // Environ. Health Perspect. 1973. V. 3. P. 3–12.
- Gunaalan K., Fabbri E., Capolupo M. The hidden threat of plastic leachates: a critical review on their impacts on aquatic organisms // Water Res. 2020. V. 184. P. 116170. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116170>
- Guo Y., Alomirah H., Cho H.-S.-S. et al. Occurrence of phthalate metabolites in human urine from several Asian countries // Environ. Sci. Technol. 2011. V. 45. P. 3138–3144.
- Hart L.B., Beckingham B., Wells R.S. et al. Urinary phthalate metabolites in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota Bay, FL, USA // Geo-Health. 2018. V. 2. P. 313–326.

- Hlisniková H., Petrovicová I., Kolena B. et al.* Effects and mechanisms of phthalates' action on reproductive processes and reproductive health: a literature review // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 2020. V. 17. P. 6811. <https://doi.org/10.3390/ijerph17186811>
- Huang P.-C., Kuo P.-L., Chou Y.-Y. et al.* Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns // *Environ. Internat.* 2009. V. 35 (1). P. 14–20.
- Jambeck J.R., Geyer R., Wilcox C. et al.* Plastic waste inputs from land into the ocean // *Science.* 2015. V. 347. № 6223. P. 768–771.
- Jarošová A.* Phthalic acid esters (PAEs) in the food chain // *Czech J. Food Sci.* 2006. V. 24. № 5. P. 223–231.
- Jeddi M.Z., Rastkari N., Ahmadkhaniha R., Yunesian M.* Endocrine disruptor phthalates in bottled water: daily exposure and health risk assessment in pregnant and lactating women // *Environ. Monitor. Assess.* 2016. V. 188. P. 534. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5502-1>
- Kalo D., Hadas R., Furman O. et al.* Carryover effects of acute DEHP exposure on ovarian function and oocyte developmental competence in lactating cows // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 7. P. e0130896. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130896>
- Kim S., Lee J., Park J. et al.* Concentrations of phthalate metabolites in breast milk in Korea: estimating exposure to phthalates and potential risks among breast-fed infants // *Sci. Tot. Environ.* 2015. V. 508. P. 13–19.
- Khomarlou N., Aberoomand-Azar P., Lashgari A.P. et al.* Essential oil composition and *in vitro* antibacterial activity of *Chenopodium album* subsp. *striatum* // *Acta Biol. Hungarica.* 2018. V. 69. № 2. P. 144–155.
- Langova R., Jarošova A., Polakova Š., Kos I.* Analysis of phthalic acid esters in agricultural soils // *Environ. Monitor. Assess.* 2020. V. 192. P. 92. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-8052-5>
- Li J.H., Guo H.Y., Mu J.L. et al.* Physiological responses of submerged macrophytes to dibutyl phthalate (dbp) exposure // *Aqua. Ecosyst. Health Manage.* 2006. V. 9. № 1. P. 43–47.
- Luo H., Xiang Y., He D. et al.* Leaching behavior of fluorescent additives from microplastics and the toxicity of leachate to *Chlorella vulgaris* // *Sci. Tot. Environ.* 2019. V. 678. P. 1–9.
- Lyche J.L.* Phthalates // *Reproductive and developmental toxicology* / Ed. R. Gupta. Saint Louis: Elsevier Science, 2017. P. 829–856.
- Ma T., Zhou W., Chen L. et al.* Phthalate esters contamination in vegetable–soil system of facility greenhouses in Jingmen, central China and the assessment of health risk // *Environ. Geochem. Health.* 2020. V. 42. P. 2703–2721.
- Mahadappa P., Krishnaswamy N., Karunanidhi M. et al.* Effect of plastic foreign body impaction on rumen function and heavy metal concentrations in various body fluids and tissues of buffaloes // *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 2020. V. 189. P. 109972. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109972>
- Majeed Kh. A., Yousaf M.Sh., Zaneb H. et al.* *In vitro* evaluation of the effect of dibutylphthalate on electrogenic sodium linked glucose transport in isolated rabbit ileum // *Toxicol. Environ. Chem.* 2017. V. 99. № 9–10. P. 1389–1396.
- Matsumoto M., Hirata-Koizumi M., Ema M.* Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: a review of recent studies on reproduction // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2008. V. 50. P. 37–49.
- Microplastics in terrestrial environments. Emerging contaminants and major challenges / Eds D. He, Y. Luo. Cham (Switzerland): Springer Nature AG, 2020. 469 p.
- Morgana S., Ghigliotti L., Estevez-Calvar N., Stifanese R. et al.* Microplastics in the Arctic: a case study with sub-surface water and fish samples off Northeast Greenland // *Environ. Poll.* 2018. V. 242. (Pt B). P. 1078–1086.
- NIST Chemistry WebBook, SRD 69. NIST Standard Reference Database Number 69. 2018. <https://webbook.nist.gov/chemistry>. <https://doi.org/10.18434/T4D303>
- Ostle C., Thompson R.C., Broughton D. et al.* The rise in ocean plastics evidenced from a 60-year time series // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. P. 1622. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09506-1>
- Owen-Smith N.* (ed.) Dynamics of large herbivore populations in changing environments. Towards appropriate models. Chichester-Oxford (UK): Blackwell Publishing, 2010. 201 p.
- Peller J.R., McCool J.P., Watters M.* Microplastics in soils and sediment: sources, methodologies, and interactions with microorganisms // *Handbook of microplastics in the environment* / Eds T. Rocha-Santos et al. Cham (Switzerland): Springer Nature AG, 2020. P. 1–31. https://doi.org/10.1007/978-3-030-10618-8_38-1
- Piehl S., Leibner A., Löder M.G.J., Dris R. et al.* Identification and quantification of macro- and microplastics on an agricultural farmland // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. P. 17950. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36172-y>
- Pignattelli S., Broccoli A., Renzi M.* Physiological responses of garden cress (*L. sativum*) to different types of microplastics // *Sci. Tot. Environ.* 2020. V. 727. P. 138609. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138609>
- Radha M.J., Mahaboob Basha P.* Hepatotoxic evaluation of di-n-butyl phthalate in Wistar rats upon subchronic exposure: a multigenerational assessment // *Toxicol. Rep.* 2020. V. 7. P. 772–778.
- Radke E.G., Braun J.M., Meeker J.D., Cooper G.S.* Phthalate exposure and male reproductive outcomes: a systematic review of the human epidemiological evidence // *Environ. Internat.* 2018. V. 121. P. 764–793.
- Rillig M., Lehmann A.* Microplastic in terrestrial ecosystems // *Science.* 2020. V. 368. P. 1430–1431.
- Rhind S.M., Kyle C.E., Mackie C., Telfer G.* Effects of exposure of ewes to sewage sludge-treated pasture on phthalate and alkyl phenol concentrations in their milk // *Sci. Tot. Environ.* 2007. V. 383. P. 70–80.
- Roth Z., Komsky-Elbaz A., Kalo D.* Effect of environmental contamination on female and male gametes – a lesson from bovines // *Anim. Reprod.* 2020. V. 17. № 3. P. e20200041. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0041>

- Salazar V., Castillo C., Ariznavarreta C. et al. Effect of oral intake of dibutyl phthalate on reproductive parameters of Long Evans rats and pre-pubertal development of their offspring // *Toxicology*. 2004. V. 205. P. 131–137.
- Samuel P., Kumar V.J., Dhayalan D.R. et al. Bioprospecting of *Salicornia europaea* L. a marine halophyte and evaluation of its biological potential with special reference to anticancer activity // *Indian Drugs*. 2018. V. 55 (5). P. 47–56.
<https://doi.org/10.29011/2574-7711.100038>
- Schmidt E., Wanner J. Adulteration of essential oils // *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton: CRC Press, 2016. P. 707–745.
- Selvaraj K.K., Sundaramoorthy G., Ravichandran P.K. et al. Phthalate esters in water and sediments of the Kaveri River, India: environmental levels and ecotoxicological evaluations // *Environ. Geochem. Health*. 2015. V. 37. № 1. P. 83–96.
- Shahnawaz M., Sangale M.K., Ade A.B. Bioremediation technology for plastic waste. Singapore: Springer Nature Ltd., 2019. 130 p.
- Sharma R., Kaur R. Physiological and metabolic alterations induced by phthalates in plants: possible mechanisms of their uptake and degradation // *Environ. Sustain*. 2020. V. 3. P. 391–404.
- Silano V., Baviera J.M.B., Bolognesi C. et al. Update of the risk assessment of di-butylphthalate (DBP), butyl-benzyl-phthalate (BBP), bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), di-isononylphthalate (DINP) and diisodecylphthalate (DIDP) for use in food contact materials // *EFSA J*. 2019. V. 17 (12). P. 5838.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5838>
- Staples Ch.A., Peterson D.R., Parkerton Th.F., Adams W.J. The environmental fate of phthalate esters: a literature review // *Chemosphere*. 1997. V. 35. № 4. P. 667–749.
- Streit-Bianchi M., Cimadevila M., Trettnak W. Mare plasticum – the plastic sea: combatting plastic pollution through science and art. Cham (Switzerland): Springer Nature AG, 2020. 252 p.
- Sweeney M.F., Hasan N., Soto A.M., Sonnenschein C. Environmental endocrine disruptors: effects on the human male reproductive system // *Rev. Endocr. Metab. Dis*. 2016. V. 16. № 4. P. 341–357.
- Sun J.Q., Wu X.Q., Gan J. Uptake and metabolism of phthalate esters by edible plants // *Environ. Sci. Technol*. 2015. V. 49. P. 8471–8478.
- Tao H., Zhang J., Shi J., Guo W. et al. Occurrence and emission of phthalates, bisphenol A, and oestrogenic compounds in concentrated animal feeding operations in Southern China // *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 2021. V. 207. P. 111521.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111521>
- Teuten E.L., Saquing J.M., Knappe D.R.U. et al. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife // *Phil. Transact. R. Soc. B*. 2009. V. 364 (1526). P. 2027–2045.
- Tian C., Ni J., Chang F. et al. Bio-source of di-n-butyl phthalate production by filamentous fungi // *Sci. Rep*. 2016. V. 6. P. 19791.
<https://doi.org/10.1038/srep19791>
- Veeramachaneni D.N., Klinefelter G.R. Phthalate-induced pathology in the foetal testis involves more than decreased testosterone production // *Reproduction*. 2014. V. 147. P. 435–442.
- Vikelsøe J., Thomsen M., Carlsen L. Phthalates and nonyl-phenols in profiles of differently dressed soils // *Sci. Tot. Environ*. 2002. V. 296 (1-3). P. 105–116.
- Wang J., Luo Y., Teng Y. et al. Soil contamination by phthalate esters in Chinese intensive vegetable production systems with different modes of use of plastic film // *Environ. Poll*. 2013a. V. 180. P. 265–273.
- Wang X., Zhang M., Zhao Y. et al. Pentadecyl ferulate, a potent antioxidant and antiproliferative agent from the halophyte *Salicornia herbacea* // *Food Chem*. 2013b. V. 141. P. 2066–2074.
- Wei C., Zhou Sh., Li W. et al. Chemical composition and allelopathic, phytotoxic and pesticidal activities of *Atriplex cana* Ledeb. (Amaranthaceae) essential oil // *Chem. Biodiv*. 2019. V. 16. № 4. P. e1800595.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201800595>
- Xu B., Liu F., Cryder Z. et al. Microplastics in the soil environment: occurrence, risks, interactions and fate – a review // *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol*. 2020. V. 50. P. 2175–2222.
- Ye X., Wang P., Wu Y. et al. Microplastic acts as a vector for contaminants: the release behavior of dibutyl phthalate from polyvinyl chloride pipe fragments in water phase // *Environ. Sci. Poll. Res*. 2020. V. 27. P. 42082–42091.
- Yue N., Deng Ch., Li Ch. et al. The occurrence and distribution of phthalate esters and their major metabolites in porcine tissues // *J. Agr. Food Chem*. 2020. V. 68 (25). P. 6910–6918.
- Yurdakok-Dikmen B., Stelletta C., Tekin K. et al. Effects of phthalates on bovine primary testicular culture and spermatozoa // *Cytotechnology*. 2019. V. 71. P. 935–947.
- Zantis L.J., Carroll E.L., Nelms S.E., Bosker Th. Marine mammals and microplastics: a systematic review and call for standardization // *Environ. Poll*. 2021. V. 269. P. 116142.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116142>
- Zhang Sh., Guo A., Fan T.-T. et al. Phthalates in residential and agricultural soils from an electronic waste-polluted region in South China: distribution, compositional profile and sources // *Environ. Sci. Poll. Res*. 2019. V. 26. P. 12227–12236.
- Zhang Y., Wang P., Wang L. et al. The influence of facility agriculture production on phthalate esters distribution in black soils of northeast China // *Sci. Tot. Environ*. 2015. V. 506–507. P. 118–125.
- Zhu D., Chen Q.-L., An X.-L. et al. Exposure of soil collembolans to microplastics perturbs their gut microbiota and alters their isotopic composition // *Soil Biol. Biochem*. 2018. V. 116. P. 302–310.
- Zorníkova G., Jarošova A., Hřivna L. Distribution of phthalic acid esters in agricultural plants and soil // *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 2011. V. 59. № 3. P. 233–238.

Toxic Phthalates in Forage Plants in the Dry Steppe of the European Part of Russia

A. E. Scopin^{a, *}, A. A. Aniskina^b, G. V. Permyakova^b, S. R. Loskutov^b,
B. D. Abaturov^c, R. R. Dzhapova^d, and E. Ch. Ayusheva^d

^a Zhitkov Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Kirov, Russia

^b Sukachev Institute of Forest, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Krasnoyarsk, Russia

^c Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^d Gorodovikov Kalmyk State University, Elista, Russia

*e-mail: scopin@bk.ru

Preliminary data on the primary screening of dibutyl phthalate from forage plants and herbivore feces on pastures in the Rostov Region and Kalmyk Republic are presented. Dibutyl phthalate was registered in seven plant species: *Phlomis pungens* Willd., *Lepidium latifolium* L., *Lepidium perfoliatum* L., *Anabasis aphylla* L., *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze, *Salicornia europaea* L., *Salsola soda* L. The highest concentration of this compound was found in species of Amaranthaceae family. From the tested herbivore feces, dibutyl phthalate was isolated only from saiga antelope droppings. It has been shown that the intake of this xenobiotic is related to the fact that plants containing dibutyl phthalate are included in the group of the saiga's main forages. The potential impact of dibutyl phthalate in forages on the saiga population is discussed. The toxic and physiological effects of phthalates on the mammalian organism were reviewed. It is necessary to conduct monitoring studies to identify sources of phthalate pollution in saiga habitats.

Keywords: dibutyl phthalate, chemical composition, forage plants, saiga antelope