

ЖУРНАЛ БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

### ЭКОЛОГИЯ

JOURNAL
OF THE BELARUSIAN STATE UNIVERSITY

### **ECOLOGY**

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

3

2021

МИНСК БГУ

#### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

#### Главный редактор

**МАСКЕВИЧ С. А.** – доктор физико-математических наук, профессор; директор Международного государственного экологического института имени А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь.

E-mail: direktor@iseu.by

#### Заместитель главного редактора

**ГЕРМЕНЧУК М. Г.** – кандидат технических наук, доцент; заместитель директора по научной работе Международного государственного экологического института имени А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь.

E-mail: germenchuk@iseu.by

#### Ответственный секретарь

**ЛОЗИНСКАЯ О. В.** – старший преподаватель кафедры общей биологии и генетики Международного государственного экологического института имени А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь.

E-mail: aromia@rambler.ru

- **Батян А. Н.** Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.
- *Голубев А. П.* Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.
- **Головатый С. Е.** Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.
  - Гричик В. В. Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.
- **Дардынская И. В.** Центр всемирного здоровья «Великие озера», Чикаго, США.
- Зафранская М. М. Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.
- *Кильчевский А. В.* Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь.
  - **Коровин Ю. А.** Обнинский институт атомной энергетики Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Обнинск, Россия.
  - *Ленгфельдер* Э. Радиологический институт здоровья и окружающей среды имени Отто Хуга, Мюнхен, Германия.
    - *Либератос Г.* Афинский технический университет, Афины, Греция.
    - *Логинов В. Ф.* Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь.
    - **Medsedes C. В.** ГНУ «Объединенный институт проблем информатики» Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь.
  - *Степанов С. А.* Международный независимый эколого-политологический университет, Москва. Россия.
  - *Стожаров А. Н.* Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь.
    - *Тарутин И. Г.* ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова», Минск, Беларусь.

#### **EDITORIAL BOARD**

Editor-in-chief MASKEVICH S. A., doctor of science (physics and mathematics),

professor; director of the International Sakharov Environmental Institute of

the Belarusian State University, Minsk, Belarus.

E-mail: direktor@iseu.by

Deputy editor-in-chief

GERMENCHUK M. G., PhD (engineering), docent; deputy director for research of the International Sakharov Environmental Institute of the

Belarusian State University, Minsk, Belarus.

E-mail: germenchuk@iseu.by

Executive secretary

LOZINSKAYA O. V., senior lecturer at the department of general biology and genetics of the International Sakharov Environmental Institute of the

Belarusian State University. E-mail: aromia@rambler.ru

Batyan A. N. International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State

University, Minsk, Belarus.

Golubev A. P. International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State

University, Minsk, Belarus.

Golovaty S. E. International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State

University, Minsk, Belarus.

Grichik V. V. Belarusian State University, Minsk, Belarus

Dardynskaya I. V. Great Lakes Center for Occupational and Environmental Safety and

Health, Chicago, USA.

Zafranskaya M. M. International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State

University, Minsk, Belarus.

Kilchevsky A. V. National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.

Korovin Y. A. Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia.

Lengfelder E. Otto Hug Radiological Institute for Health and Environment,

Munich, Germany.

Lyberatos G. Athens Technical University, Athens, Greece.

Loginov V. F. National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.

Medvedev S. V. The United Institute of Informatics Problems of the National Academy

of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.

Stepanov S. A. International Independent Ecological and Political University.

Moscow, Russia.

Stozharov A. N. Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus.

Tarutin I. G. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Belarus.

## Социально-экологические проблемы устойчивого развития

## Social and environmental problems of sustainable development

УДК 616-036.21:93/94

#### ПАНДЕМИИ ПОЗДНЕЙ АНТИЧНОСТИ

А. В. КОЗЛЕНКО<sup>1)</sup>

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

Исследуется проблема воздействия экологических факторов на масштабные исторические процессы. При объяснении таких явлений, как кризис и упадок Римской империи, историки выдвигают на первый план политические, социальные и экономические факторы. Этот выбор в значительной мере определен характером имеющихся в их распоряжении источников и традицией их интерпретации. С развитием археологии в середине – второй половине XX в. объем доступных ученым документов значительно увеличился. В их число попали не только объекты материальной культуры, но и человеческие останки, пыльца растений, а также ледяные керны. Имеющиеся данные позволяют получить надежную информацию об экологии определенного региона в ту или иную эпоху. Их интерпретация свидетельствует, что между второй половиной II в. и серединой VI в. климат в античном Средиземноморье испытал ряд неблагоприятных изменений. Средняя температура всего региона стала на несколько градусов ниже, изменилось количество выпадающих осадков и, следовательно, получаемых урожаев. Голод заставлял массы людей бросать свои земли и уходить в города в поисках пропитания. Эти бедствия совпали по времени с несколькими опустошительными волнами эпидемий, прокатившимися по всему миру. Самой смертоносной из них была «Юстинианова чума», жертвами которой стали по крайней мере 100 млн человек. Больше всего от болезни пострадали области с высоким уровнем урбанизации и многочисленным торгово-ремесленным населением. Произошла депопуляция

#### Образец цитирования:

Козленко АВ. Пандемии Поздней античности. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:4–10. https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-4-10

#### For citation

Kozlenko AV. Pandemics of Late Antiquity. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:4–10. Russian. https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-4-10

#### Автор:

Алексей Владимирович Козленко – кандидат исторических наук, доцент; доцент кафедры социально-гуманитарных наук и устойчивого развития.

#### Author:

Alexei V. Kozlenko, PhD (history), docent, associate professor at the department of social-humanitarian sciences and sustainable development.

strator40@mail.ru

strator40@ma11.ru

целых регионов, значительная деградация экономики и общества. Эпидемия продолжалась почти 200 лет, но, когда болезнь ослабла, восстановление общества происходило на совсем другой основе в сравнении с предыдущей эпохой. Произошедшие изменения были масштабными и обусловили переход от эпохи Античности к Средневековью. Дополнительную актуальность избранной теме придает сложившаяся ныне ситуация, когда пандемия коронавируса вновь угрожает стабильности современного миропорядка.

Ключевые слова: экология; климат; эпидемия; пандемия; чума; Римская империя; Поздняя античность.

#### PANDEMICS OF LATE ANTIQUITY

#### A. V. KOZLENKO<sup>a</sup>

<sup>a</sup>International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University, 23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

The article deals with the problem of the environmental factors impact on large-scale historical processes. As a rule, historians use political, social and economic factors while explaining such phenomena as the crisis and decline of the Roman empire. This choice is largely determined by the nature of the available sources and the tradition of their interpretation. With the development of archeology in the mid-second half of the XX century, the volume of sources available to researchers has increased significantly. They included not only objects of material culture, but also human remains, plant pollen and ice cores. These data allow us to obtain reliable information about the ecology of a particular region in a particular era. The interpretation of these data indicates that between the second half of the 2 century and the middle of the 6 century, the climate in the ancient Mediterranean experienced a number of unfavorable changes. The average temperature of the entire region has become several degrees lower, the amount of precipitation and harvests has changed. Famine forced the masses of people to abandon their lands and go to the cities in search of food. These disasters coincided with several devastating waves of epidemics that swept around the world. The most devastating of them was the so-called "Justinian plague", which killed at least 100 million people. The regions with a high level of urbanization and a large trade and craft population suffered the most from the disease. There was a depopulation of entire regions, a significant degradation of the economy and society. The epidemic lasted for almost 200 years and when the disease weakened, the restoration of society took place on a completely different basis compared to the previous era. The changes that took place were large-scale and caused the transition from Antiquity to the Middle Ages. The current situation, when the coronavirus pandemic again threatens the stability of the modern world order, gives additional relevance to the chosen topic.

Keywords: ecology; climate, epidemic; pandemic; plague; Roman Empire; Late Antiquity.

#### Введение

Со времен публикации 6-томного труда Эдварда Гиббона «История упадка и разрушения Римской империи» (1776 г.) было предложено около 200 различных концепций причинности этого явления. Среди факторов, погубивших величайшую мировую державу древности, назывались вторжения варваров, распространение христианства, экономический упадок, рабство, сокращение населения и др. Основные группы гипотез концентрируются вокруг политических, военных, социально-экономических и культурно-религиозных объяснений, которые оказываются преимущественно обусловлены характером дошедших до нас источников [1]. С развитием археологии (середина – вторая половина ХХ в.) объем доступных исследователям источников значительно возрос. Изменился также их характер и методика анализа, что, в свою очередь способствовало дальнейшей трансформации проблематики исследования. Одним из наиболее многообещающих появившихся в это время направлений стала экология, которая позволяла рассматривать крупномасштабные исторические процессы в контексте изменения природных условий существования человека. Весьма своевременно на помощь историкам пришли такие методы, как анализ ледяных кернов, позволяющий оценить количество осадков и уровень загрязнения воздуха в различные исторические эпохи, анализ пыльцы растений в археологических слоях, выявляющий состав произраставших в это время растений и, соответственно, уровень развития сельского хозяйства. Полученные таким образом новые данные позволяют ученым внести изменения в традиционные объяснения причин, положивших конец античной цивилизации. В ситуации, когда угроза стабильности привычного миропорядка вновь исходит от глобальной пандемии, предпринятые в этой области исследования дают возможность лучше оценить риски и рассчитать оптимальную стратегию ответных действий [2].

#### Материалы и методы исследования

Расцвет Римской империи приходится на золотой век Антонинов первой половины – середины II в. н. э. Ее границы в это время простирались от Северной Британии до Верхнего Египта и от атлантического побережья Марокко до Кавказских гор. Их протяженность превышала 10 тыс. км, на этой территории проживало около 65 млн человек, то есть четверть всего человечества. Римское общество имело сложную стратифицированную структуру и включало множество различных социальных групп и территорий, обладавших различным политическим устройством, социальным укладом, экономикой, образом жизни и культурой. Благодаря развитой системе сухопутных и морских путей сообщений между Римом и провинциями поддерживались интенсивные связи. Дорожная сеть насчитывала 80 тыс. 500 км мощеных дорог и 322 тыс. км грунтовых путей. В империи насчитывалось примерно 2 тыс. городских поселений, жители которых нередко составляли десятки и сотни тысяч человек. Города являлись центрами ремесла и торговли, а уровень производственных технологий был необыкновенно высок. Развалины сельскохозяйственных поселений в глубине пустыни свидетельствуют о том, что римляне успешно получали урожаи с территорий, которые сегодня кажутся для этого совершенно непригодными. Современные историки оценивают ВВП эпохи Римской империи в 93 млрд USD, что вполне сопоставимо с европейским уровнем жизни XVIII в. Эдвард Гиббон называл эру Антонинов самым счастливым временем в истории человечества, однако же сегодня мы склонны видеть достижения римской цивилизации как предпосылки ее будущего упадка и гибели [3].

С точки зрения экологов, эпоха расцвета Римской империи связана с средиземноморским климатическим оптимумом, установившимся к северу от 30° с. ш. примерно со второй половины III в. до н. э. и с некоторыми перерывами длившегося до начала V в. н. э. Это время также характеризуется низкой вулканической активностью и сравнительно высокой солнечной интенсивностью. Климат Средиземноморья тогда был наиболее теплым, влажным и стабильным, чем за несколько тысяч лет до того и позже, вплоть до нашего времени. Дендрохронологический анализ годовых колец деревьев того времени свидетельствует, что средние температуры в Европе, вероятно, более-менее соответствовали современным, или были даже на 1-2 °C выше. Уровень влажности был неодинаков, но, вероятно, регионы, которые сегодня считаются засушливыми, получали гораздо более высокий уровень осадков, чем сегодня, позволявший ввести эти земли в сельскохозяйственный оборот. Напротив, на севере Италии, северо-востоке Пиренейского полуострова, на северном склоне Альп было суще, чем сегодня. Примерно в середине или второй половине II в. в Средиземноморье начался период климатических изменений, из-за которых в течении последующих 50 лет погода в целом стала гораздо более сухой и прохладной чем раньше. Эти изменения, хотя и не стали фатальными по своим последствиям, однако же привнесли толику беспорядка в римское общество. Даже в самых плодородных провинциях империи урожаи в это время стали хуже, что вызвало рост цен на продукты питания, упадок торговли и рост инфляции [4; 9].

Однако самый сильный удар по благополучию римского золотого века нанесла эпидемия смертельной болезни, значительно проредившей население провинций. Сами древние называли ее чумой (λοιμος), но по симптоматике и описанию протекания болезни, в действительности речь идет скорее всего об оспе. Вероятно, болезнь пришла из Индии через Персидский залив и земли Вавилонии. Первые случаи заражения в источниках были отмечены в Селевкии-на-Тигре, взятой и разграбленной римлянами зимой 165-166 гг. в ходе войны против Парфии. Большое число заболевших и высокий уровень смертности заставило римское командование прервать успешно начавшееся было наступление и вернуть войска обратно на базы в Сирии. Этот шаг имел роковые последствия, поскольку возвращавшиеся из похода солдаты занесли болезнь в пределы империи. Из Сирии она вскоре перекинулась в Малую Азию, затем обнаружилась в Греции, перешла в Италию и вскоре охватила все другие части империи. Одной из причин столь широкого распространения стала густая сеть дорог и интенсивное морское сообщение между отдельными регионами. Самый тяжелый удар эпидемии пришелся на 166-170 гг., затем болезнь на некоторое время ослабла, но снова вспыхнула около 177 г. и продолжала свирепствовать с прежней силой. В 180 г. ее жертвой стал император Марк Аврелий Антонин, который умер от болезни в штаб-квартире римской армии в Виндобоне. Его преемник юный император Коммод также заразился, однако смог поправиться благодаря крепкому здоровью и гению своего врача Галена. Новая вспышка эпидемии произошла в 189 г., но в этот раз болезнь довольно быстро исчезла.

Главным источником по истории болезни, или «Антонинового мора», как ее стали называть позже, являются записки знаменитого римского врача Галена. По этой причине иногда эту эпидемию также называют его именем. В 166 г. Гален находился в Риме, когда здесь были отмечены первые случаи заболевания, а затем наблюдал повторные вспышки эпидемии в зимнем лагере римских войск в Аквилее в 168–169 гг. и все последующие рецидивы. В 180 г. ему удалось успешно исцелить заразившегося смертельной болезнью императора Коммода. К сожалению, дошедшие до нас записи Галена обрывочны и несистематичны,

поскольку он не старался описать болезнь для потомков: его больше интересовали ее симптомы, характер протекания и способы лечения. Гален был последователем Гиппократа, полагавшего, что причиной всех заболеваний является дисбаланс четырех природных элементов, которые он соотносил с внутренними жидкостями организма. Излечения больного он пытался добиться путем удаления избыточной влаги через сыпь и волдыри, появляющиеся на теле. Если сыпь сопровождалась гнойными волдырями пациент мог надеяться излечиться, в противном случае он обычно умирал. Среди других симптомов болезни Гален отмечал лихорадку, рвоту, проблемы с желудочно-кишечным трактом, диарею, неприятный запах изо рта, кашель. Много внимания Гален уделял фармакологии, применяя для лечения отвары из трав и мази [5].

Последствия мора для населения Римской империи были катастрофические. Некоторые документы позволяют судить о масштабах людских потерь. Судя по пробелам в списках увольняющихся из армии ветеранов, между 166 и 169 гг. болезнь унесла жизни около четверти солдат восточных легионов и примерно пятой части дунайской армии. Сильно пострадали жители крупных городов, численность населения которых в это время могла достигать нескольких сотен тысяч человек. В Риме, где в это время проживало более 1 млн человек, болезнь, по мнению историка Кассия Диона, уносила жизни около 2 тыс. человек ежедневно, причем умирал каждый четвертый из всех заразившихся. В Испании обезлюдели целые области, хозяйство которых оказалось заброшено, а население полностью вымерло или спаслось бегством. Налоговые списки этого времени из Египта также показывают картину массового вымирания и исхода уцелевших жителей в пустынные районы, чтобы здесь переждать бедствие. Оценки современных историков существенно разнятся в зависимости от используемых ими источников и методологии. Исследования Р. П. Дункан-Джонса и Й. Зеленера показывают смертность от эпидемии порядка 25–33 % всего населения империи. Р. Дж. Литтман дает более умеренные цифры между 7 до 10 % в среднем, с пиками, превышающими 15 % в городских районах. Таким образом, получается, что в период между 166 и 189 гг. жертвами эпидемии стали от 7 до 10 млн человек [6; 7].

Как бы ни были тяжелы потери, постепенно Римская империя оправилась от этих бедствий. К началу III в. наступает краткий период стабилизации, когда вслед за улучшением климата началось восстановление экономики и медленный рост населения. Однако этот тренд оказался краткосрочным, поскольку основные показатели так и не достигли уровня середины II в. Уже в середине III в. начался новый период похолодания, которое сопровождалось рядом сильных засух и разрушением сельского хозяйства в самых плодородных провинциях империи. Неурожаи привели к резкому подорожанию продуктов питания, упадку торговых связей и высокому уровню инфляции. Дополнительным фактором нестабильности стал рост напряжения на границах империи и обострение междоусобных конфликтов. Сочетание этих факторов сделало кризис III в. особенно разрушительным. Также, как и в прошлый раз, череда этих бедствий совпала с очередной волной эпидемии. Новая болезнь впервые проявилась в Эфиопии весной 249 г., затем быстро достигла Верхнего Египта, на кораблях с хлебом из Александрии попала в Рим и, наконец, охватила большинство провинций империи. Одной из жертв эпидемии стал император Гостилиан, скончавшийся от болезни в Риме в ноябре 251 г. С неумолимой силой болезнь продолжала бушевать на протяжении целого десятилетия прежде чем стала затихать после 262 г. Новые волны отмечались в 270, 292 и 313 гг., однако достоверно неизвестно, идет ли речь об одной и той же болезни, или о нескольких различных [8].

В истории эта эпидемия осталась известна как «Киприанова чума», по имени христианского епископа Карфагена св. Киприана, который довольно полно описал симптомы и проявления болезни в своем трактате «Книга о смертности». Хотя этому описанию не достает надежности свидетельства Галена, очевидно, что в действительности речь должна идти не о чуме, а какой-то другой болезни: «Расслабление желудка отнимает телесные силы, жар изнутри, перешедший в гортанные язвы, растравляет их, непрерывная рвота потрясает внутренность, прилив крови делает воспаление в глазах, что у некоторых отсекаются руки и другие члены вследствие заразительного гниения, от расслабления тела происходит дрожание в ногах, заграждается слух, повреждается зрение...». Это описание можно дополнить более фрагментарными и откровенно неопределенными намеками других свидетелей. По словам Понтия Карфагенского, ученика и биографа св. Киприана, болезнь характеризовалась внезапным приступом и острой начальной фазой. Хотя промежуток в два поколения между последней вспышкой оспы в правление Коммода и началом «Киприанова мора» был неизбежно связан с ослаблением приобретенного иммунитета и, следовательно, не позволяет исключать оспу из списка возможных объяснений, ни в одном описании не упоминается такая характерная черта оспы, как сыпь по всему телу. Гниющие конечности, диарея и рвота также не подходят для оспы. На роль основных кандидатов предлагались вирулентный грипп, либо геморрагическая лихорадка, по своему протеканию сходная с Эболой [8].

«Киприанов мор» вновь сильно проредил население крупнейших городов империи. По мнению историков, в Риме от болезни умирало в некоторые дни до 5 тыс. человек. Биограф св. Киприана описывал обезлюдевшие городские улицы Карфагена, повсюду валявшиеся груды мертвых тел, горожан, запершихся по своим домам и чуравшихся общения с близкими, или же в страхе убегавших из города. Сам

Киприан, остававшийся в это сложное время в городе, увещевал свою паству сохранять присутствие духа и даже в эти тяжелые дни не пренебрегать последним долгом перед умершими: «Разве мы не видим обряды смерти каждый день? Разве мы не являемся свидетелями самых причудливых ее форм? Разве мы не видим невиданные бедствия, принесенные неизвестной прежде болезнью»? Демографические последствия эпидемии продолжали ощущаться многие десятилетия спустя. Александрийский епископ Дионисий писал: «В этом огромном городе уже не так много жителей, как раньше, когда здесь было много здоровых стариков. Мы подсчитали и зарегистрировали как имеющих право на общественный продовольственный паек всех в возрасте от 14 до 80 лет и тех, кому сейчас от 40 до 70 лет гораздо меньше, чем было когда-то. Самые старые мужчины нашего поколения гораздо моложе тех, кто жили здесь раньше». Возможно, население Александрии из-за эпидемии сократилось в это время более чем вдвое [8].

В начале IV в. климат Средиземноморья снова улучшился, и эта оптимизация совпала с реставрацией империи, осуществленной Диоклетианом и Константином. Благоприятный климатический период продолжался почти целое столетие, однако и на этот раз оказался лишь передышкой перед наступлением череды бед. На рубеже IV-V вв. вновь начался процесс необратимых климатических ухудшений, получивший у климатологов название «позднеантичного малого ледникового периода». Он продолжался около 250 лет и сопровождался рекордными падениями температур в северном полушарии. Для общества, которое напрямую зависит от сельского хозяйства, последствия внезапного и резкого температурного спада, очевидно, были довольно тяжелыми. Низшей точки процесс похолодания достиг к середине VI в., и одна из гипотез связывает его с наблюдавшейся в 533-547 гг. волной сейсмической активности. По некоторым предположениям, это бедствие могло быть спровоцировано столкновением Земли с частью кометы Галлея. Удар имел не слишком разрушительную силу, но спровоцировал выброс в атмосферу большого количества осадочных пород, что в свою очередь, отразилось на похолодании климата. В 536 г. наблюдалось странное потускнение Солнца, которое продолжалось целый год. В историю этот феномен вошел как «год без Солнца» и его последствиями являются неурожаи и голод, охватившие не только Римскую империю, но и всю планету, включая Китай. Новые катаклизмы в 540 и 547 гг. еще более усугубили и без того непростую ситуацию. Скорее всего, десятилетие между 536 и 547 гг. было наиболее холодным за последние 2000 лет [9; 4].

Череда этих катастроф совпала с появлением чумы – первой достоверно зафиксированной в источниках пандемией бубонной чумы, прокатившейся по всему континенту с востока на запад и ответственной за опустошения, не знавшие себе равных. По имени правившего в то время императора она получила название «Юстиниановой чумы», хотя продолжительность эпидемии далеко превзошла хронологию его царствования. Очагом возникновения эпидемии являлась степная зона на территории современной Монголии. По пути на запад болезнь должна была пройти через половину континента. В Средиземноморье чума попала из Египта, куда она могла попасть морем из Индии. Первые случаи заражения были зафиксированы осенью 541 г. в окрестностях Пелузия, расположенного близ восточного рукава Нила. Отсюда болезнь перешла в Сирию, затем опустошила Месопотамию и Персию. Весной 542 г. корабли с египетским зерном завезли переносивших болезнь крыс в Константинополь. Здесь болезнь жестоко свирепствовала на протяжении четырех месяцев. В этом же году эпидемия охватила Грецию, а в 543 г. чумой уже был охвачен весь Апеннинский полуостров. Апогея болезнь достигла летом 544 г., когда в Константинополе от нее умирало до 5 тыс. человек в день, а в отдельные дни смертность достигала и 10 тыс. человек. Трупов было столько, что их некому было хоронить, погребальные команды, набранные из приговоренных к смерти преступников, снимали крыши с пустых домов и набивали их телами доверху. Из Италии чума попала в северную Африку и южную Испанию. В 545 г., преодолев Альпы, она проникла в пределы Франкского королевства (Галлия), оттуда в Германию. Затем, преодолев Ла-Манш, обнаружилась в Британии и в Ирландии [10].

Яркие описания симптомов болезни оставил историк Евагрий Схоластик, которому самому довелось заразиться, но повезло вылечиться: «Язва эта обнаруживалась различными болезнями: у некоторых она начиналась с головы, причем глаза наливались кровью, лицо опухало, потом переходила к горлу и, охватив его, лишала человека жизни; у других открывался понос; у третьих обнаруживалась опухоль в паху, а затем — необыкновенная горячка, и они на другой или на третий день умирали, вовсе не сознавая себя больными и чувствуя крепость в теле; иные впадали в помешательство и в этом состоянии испускали дух; иногда вскакивали на теле и поражали людей смертью черные язвеные чирьи; некоторые, подвергшись язве однажды или дважды и, оправившись от нее, после опять подвергались ей и умирали. Способы за-имствования болезни были столь разнообразны, что их и не сочтешь: одни гибли от того только, что обращались и ели вместе с больными; другие — от одного прикосновения к ним; иные — побывав только в доме, а те — на площади; некоторые, убежав из зараженных болезнью городов, сами оставались невредимы, зато приносили с собой болезнь здоровым; а были и такие, которые при всем том, что жили с больными и прикасались не только к зараженным, но и к умершим, оставались совершенно свободными от болезни; иные

же, лишившись всех своих детей или домашних, хотя и желали умереть и нарочно обращались с больными, однако не подвергались заразе, так как бы она действовала наперекор их желанию» [11].

Чума вновь вернулась зимой 558 г. Она была еще более опустошительна, чем первая волна, и продолжалась полгода. Византийский историк Агафий Миринейский, очевидец этой торой волны, сам переживший эпидемию в юности, впоследствии писал, что симптомы болезни были схожи с теми, которые наблюдались при первом ее появлении, только ее жестокость была сильнее, а течение болезни проходило быстрее. В этот раз ее жертвами часто становились полные сил молодые люди. Новый всплеск болезни произошел в 561 г., когда основной удар пришелся по Месопотамии, Палестине и Аравии, в 561 г. чума опустошила южную часть Малой Азии, в 565 г. эпидемия вспыхнула на севере Италии, в 585 г. затронут оказался север Балканского полуострова. То затухая, то вспыхивая вновь, чума продолжала опустошать Европу на протяжении более 200 последующих лет. Между ее первым зафиксированным в источниках появлением в 542 г. и последней отмеченной вспышкой в 767 г. ученые насчитывают около двух десятков отдельных волн с интервалом от 9 до 13 лет между ними. Вероятно, «пульсирующий» ритм оказывался связан с вырабатыванием коллективного иммунитета у тех, кто переболел, но все же остался жив. Однако с каждой сменой поколения болезнь вновь возвращалась, чтобы снять новую жатву среди тех, кто не имел такого иммунитета [12]. Согласно самым осторожным оценкам современных историков, за все время бытования пандемии ее жертвами стали до 100 млн человек по всему миру. В одной только средиземноморской части Европы, Ближнего Востока и северной Африке она унесла жизни около 25 млн человек. Пока невозможно объяснить, почему пандемия прекратилась через два столетия после ее начала или как она исчезла из Европы. Депопуляция опустошенных болезнью областей, или снижение вирулентности возбудителя являются весьма вероятными, но все же недостаточными факторами объяснения [4].

В 2014 г. группе ученых из Института естествознания имени Макса Планка удалось подтвердить, что возбудителем смертельной болезни являлась именно бактерия чумы (Yersinia pestis). Свое название она получила по имени Александра Ерсина (1863–1943), впервые выделившего ее во время вспышки эпидемии в Гонконге в 1894 г. ДНК патогенов были обнаружены в останках жертв эпидемии, найденных при раскопках раннесредневекового кладбища в Ашхайме и Альтенердинге близ Мюнхена (Бавария). Выявленные в ходе исследования генетические особенности относятся к штамму Yersinia pestis, появившемуся в северо-восточной части современного Китая примерно между 1000 г. до н. э. и 500 г. н. э. Та же самая бактерия являлась возбудителем эпидемии «Черной смерти», выкосившей значительную часть населения Евразии в XIV в. Обе бактерии имели родственное происхождение, однако относились все же к разным штаммам. Еще одно исследование, проведенное в том же институте в 2019 г., показало высокую вирулентность генетического кода чумной бактерии. Сравнивая друг с другом останки из 21 мест захоронений жертв эпидемии на территории Австрии, Великобритании, Германии, Франции и Испании, ученым удалось реконструировать 8 новых геномов Yersinia pestis, которые сосуществовали друг с другом в одно время в соседних регионах. Столь высокое генетическое разнообразие может быть связано с высокой способности бактерии к адаптации к определенным экологическим нишам [13]. Хотя к настоящему моменту та ее разновидность, которая несет ответственность за Юстинианову пандемию, или совершенно исчезла, или стала чрезвычайно редкой. Родственный ей штамм «Черной смерти» на рубеже XIX-XX вв. стал причиной эпидемии Азиатской чумы. Он до сих пор существует в диких популяциях грызунов, которые являются природными резервуарами заболевания, представляющими грозную опасность для человечества.

#### Заключение

Публикации последних лет обратили внимание на значение экологического фактора в макроисторическом процессе. К числу важнейших проблем такого рода относятся климатические изменения и эпидемии. Причиненный ими колоссальный ущерб разрушает привычный уклад жизни и одновременно заставляет общество искать новые модели взаимоотношений человека и природы. Как показывают результаты современных исследований, «Юстинианова чума» VI в. убила десятки миллионов людей по всему миру, причем наиболее серьезные потери понесло как раз городское население, что в конечном итоге было связано с высоким уровнем урбанизации в средиземноморской прибрежной зоне, концентрацией населения в крупных городах и скученными условиями проживания. Те же исследования показывают, что многие богатые и развитые в прошлом сельскохозяйственные районы Египта, Сирии и Малой Азии лишились в это время значительной части трудоспособного населения и оказались в запустении. Помимо очевидной демографической катастрофы, последствиями более отдаленного плана стали упадок товарного ремесла и развал торговых связей. Как показывает история предыдущих двух волн пандемии II—III вв., их последствия сами по себе не являются непреодолимыми. При благоприятной конъюнктуре общество постепенно восстанавливается после обрушившейся на него катастрофы. Однако в этом случае удар пришелся на особенно неблагополучный период истории. Для общества и экономики Римской империи, и без того

уже ослабленных войной и чередой климатических бедствий, эпидемия такого масштаба стала последним гвоздем, вбитым в крышку гроба. Когда к середине VIII в. жизнь снова нормализовалась, мир, возникший к тому времени на обломках старого, был совершенно другим в материальном, культурном, политическом и демографическом плане [4; 10; 12].

#### Библиографические ссылки

- 1. Яснитский НН. К вопросу об оценках причин гибели Римской империи в Истории Э. Гиббона. В: *История и современность* глазами молодых ученых. Сборник научных материалов. Москва: МПУ; 2000. с. 32–45.
- 2. Козленко АВ. Чума, изменение климата и падение Римской империи. В: Сахаровские чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века. Материалы 18-й международной научной конференции, 17–18 мая 2018 г., г. Минск, Республика Беларусь. Часть 1. Минск: ИВЦ Минфина; 2018. с. 52–53.
- 3. Morris I, Saller P, Sheidel W. The Cambridge Economic History of the Greco-Roman World. Cambridge: University Press; 2013. 960 p.
  - 4. Harper K. Plague, climate change and the decline of the Roman Empire. Princeton: University Press; 2017, 440 p.
  - 5. Gilliam JF. The Plague under Marcus Aurelius. American Journal of Philology. 1961;82:228-251.
  - 6. Duncan-Jones RP. The impact of the Antonine plague. Journal of Roman Archaeology. 1996;9:108–136.
  - 7. Littman RJ. Galen and the Antonine Plague. American Journal of Philology. 1973;94:243–255.
- 8. Harper K. Pandemics and passages to late antiquity: rethinking the plague of c. 249–270 described by Cyprian. *Journal of Roman Archaeology*. 2015;28:223–260.
- 9. Buntgen U, Myglan VS, Charpentier Ljungqvist F, McCormick M, Di Cosmo N. Cooling and societal change during the Late Antique Little Ice Age from 536 to around 660 AD. *Nature Geoscience*. 2016;9:231–236.
  - 10. Rosen W. Justinian's Flea. The First Great Plague and the End of the Roman Empire. Oxford: Penguin Books, 2007. 384 p.
- 11. Супотницкий МВ, Супотницкая НС. Очерки истории чумы. Часть 1. *Чума добактериологического периода*. Москва: Вузовская книга; 2006. 466 с.
  - 12. Lester K. Little Plague and the End of Antiquity. The Pandemic of 541-750 AD. Cambridge: University Press, 2008. 382 p.
- 13. Keller M, Spyrou MA, Scheib CL, Neumann G, et al. Ancient Yersinia pestis genomes from across Western Europe reveal early diversification during the First Pandemic (541–750). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2019;116:12363–12372.

#### References

- 1. Yasnitskij NN. On the question of assessing the causes of the Fall of the Roman Empire in the History of E. Gibbon] In: *Istoriya i sovremennost glazami molodykh uchonykh* [History and modernity through the eyes of young scientists]. Moscow: MPU; 2000. p. 32–45. Russian.
- 2. Kozlenko AV. Plague, change of climate and Fall of the Roman Empire. In: Sakharovskije chtenija 2018 goda: ecologicheskije problemy XXI veka: materialy 18 mezhdunarodnoj nauchnoj konferentsyi 17–18 mai 2018, Minsk, Republic of Belarus [Sakharov readings 2018: environmental problems of the XXI century. Proceedings of the 18th international scientific conference 17–18 May 2018, Minsk, Republic of Belarus]. Part 1. Minsk: IVC Minfin; 2018. p. 52–53. Russian.
- 3. Morris I, Saller P, Sheidel W. The Cambridge Economic History of the Greco-Roman World. Cambridge: University Press; 2013. 960 p.
  - 4. Harper K. Plague, climate change and the decline of the Roman Empire. Princeton: University Press; 2017. 440 p.
  - 5. Gilliam JF. The Plague under Marcus Aurelius. American Journal of Philology. 1961;82:228–251.
  - 6. Duncan-Jones RP. The impact of the Antonine plague. *Journal of Roman Archaeology*. 1996;9:108–136.
  - 7. Littman RJ. Galen and the Antonine Plague. American Journal of Philology. 1973;94:243–255.
- 8. Harper K. Pandemics and passages to late antiquity: rethinking the plague of c. 249–270 described by Cyprian. *Journal of Roman Archaeology*. 2015;28:223–260.
- 9. Buntgen U, Myglan VS, Charpentier Ljungqvist F, McCormick M, Di Cosmo N. Cooling and societal change during the Late Antique Little Ice Age from 536 to around 660 AD. *Nature Geoscience*. 2016;9:231–236.
  - 10. Rosen W. Justinian's Flea. The First Great Plague and the End of the Roman Empire. Oxford: Penguin Books, 2007. 384 p.
- 11. Supotnitskiy MV, Supotnitskaya NC. Ocherki istorii chumy. Chast 1. Chuma dobacteriologicheskogo perioda [Essays on the history of the plague. Part 1. Plague of prebacterilogical period]. Moscow: Vuzovskaya kniga; 2006. 466 p. Russian.
  - 12. Lester K. Little Plague and the End of Antiquity. The Pandemic of 541–750 AD. Cambridge: University Press, 2008. 382 p.
- 13. Keller M, Spyrou MA, Scheib CL, Neumann G, et al. Ancient Yersinia pestis genomes from across Western Europe reveal early diversification during the First Pandemic (541–750). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2019;116:12363–12372.

# **И**зучение и реабилитация экосистем

## The study and rehabilitation of ecosystems

УДК 581.526.53:574.45

## ОСОБЕННОСТИ ФЛУКТУАЦИЙ ЭФЕМЕРОВО-ЭФЕМЕРОИДОВОЙ СИНУЗИИ В ПОЛУПУСТЫННЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ КУРА-АРАЗСКОЙ НИЗМЕННОСТИ В СВЯЗИ С КЛИМАТИЧЕСКИМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ

*X. Г. ГАСЫМОВА*<sup>1)</sup>, *Р. Т. АБДЫЕВА*<sup>1)</sup>, *В. М. АЛИ-ЗАДЕ*<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Институт ботаники Национальной академии наук Азербайджана, Бадамдарское шоссе, 40, АЗ1004, Баку, Азербайджан

В условиях Кура-Аразской низменности на постоянных модельных площадках  $(10 \times 10 \text{ м})$  изучалась динамика полупустынных травянистых фитоценозов. На основании семилетних (2014-2020 гr.) стационарных наблюдений выявлены закономерности сезонных и погодичных флуктуаций злаково-разнотравного и бобово-разнотравного фитоценозов, связанные с погодными условиями. Проведен анализ данных по многолетней динамике их видового состава, структуре, запаса сырой надземной части. Общепринятыми индексами оценено  $\alpha$ -разнообразие, приведены результаты фенологических наблюдений. Установлено, что в сезонной динамике растений начало вегетации находится в зависимости от температуры воздуха марта месяца, а завершение цикла – от температуры воздуха мая – начала июня.

#### Образец цитирования:

Гасымова ХГ., Абдыева РТ, Али-заде ВМ. Особенности флуктуаций эфемерово-эфемероидовой синузии в полупустынных фитоценозах Кура-Аразской низменности в связи с климатическими изменениями. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:11–17. https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-11-17

#### For citation:

Gasimova KhH, Abdiyeva RT, Ali-zade VM. Features of the fluctuation of the ephemerous-ephemeroid synusion in the semi-desert phytocenosis of the Kura-Araz lowland in connection with climatic changes. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:11–17. Russian.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-11-17

#### Авторы:

**Хаппира Гасан кызы Гасымова** – докторант, научный сотрудник лаборатории фитосоциологии экосистемы.

**Рена Тахмазовна Абдыева** – кандидат биологических наук; ведущий сотрудник лаборатории фитосоциологии экосистемы.

Валида Мовсум кызы Али-заде – доктор биологических наук, профессор; академик; директор Института ботаники.

#### Authors:

Khatira G. Gasimova, doctoral student; researcher at the laboratory of phytosociology of ecosystems.

xatira1987@gmail.com

**Rena T.** Abdiyeva, PhD (biology); leading researcher at the laboratory of phytosociology of ecosystems.

abdiyeva.rena@mail.ru

Valida M. Ali-zade, doctor of science (biology); full professor, director of Institute of botany. vm alizade@yahoo.com

Оптимальными же сроками массового развития трав являются начало и середина мая. В случае повышенной нормы атмосферных осадков и позднего наступления летней жары эта закономерность может нарушаться, и сроки смещаться на конец мая – начало июня. За годы наблюдений в злаково-разнотравном фитоценозе из 19 видов 9, а в бобово-разнотравном из 17 видов 5 оказались постоянными. Общее проективное покрытие колебалось от 50 (сухие годы) до 100 % (влажные годы). Оценка огразнообразия показала, что видовое разнообразие фитоценозов повышалось в годы с высоким количеством атмосферных осадков, выпадающих в мае. Выявлена линейная зависимость фитомассы от суммы количества атмосферных осадков за март – июнь. Установлено, что на лучшее накопление фитомассы трав влияет количество осадков, выпавших в конце весны. Выявлены наиболее устойчивые к потеплению виды растений. В основном это злаки со средним кормовым значением: Avena eriantha, Bromus japonicus, Bromus rubens, Eremopyrum orientale, Lolium rigidum и сорное разнотравье – Capsella bursa-pastoris, Carduus pycnocephalus, Convolvulus arvensis, Erodium сісиtarium, Lepidium draba, Xanthium strumarium. Последний вид является заносным, инвазивным растением. Среди представителей бобовых относительно устойчивым к высоким температурам воздуха оказался всего один вид – Medicago minima. Установлено, что от общего травостоя лишь 35,5 % видов могут выдержать потепление на 1,5–2 °C.

*Ключевые слова*: аридные территории; погодные условия; флуктуации; обилие; доминанты; вегетация; массовое развитие; динамика α-разнообразия; динамика фитомассы.

## FEATURES OF THE FLUCTUATION OF THE EPHEMEROUS-EPHEMEROID SYNUSION IN THE SEMI-DESERT PHYTOCENOSIS OF THE KURA-ARAZ LOWLAND IN CONNECTION WITH CLIMATIC CHANGES

Kh. H. GASIMOVA<sup>a</sup>, R. T. ABDIYEVA<sup>a</sup>, V. M. ALI-ZADE<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute of Botany, National Academy of Sciences of Azerbaijan, 40 Badamdar Highway, Baku AZ1004, Azerbaijan Corresponding author: V. M. Ali-zade (vm. alizade@yahoo.com)

The dynamics of semi-desert herbaceous phytocenoses was studied under the conditions of the Kura-Araz lowland on permanent model sites (10×10 m). Based on seven-year (2014–2020) stationary observations, regularities of seasonal and annual fluctuations of cereal-forb and legume-forb phytocenoses were revealed in connection with weather conditions. The analysis of data on the longterm dynamics of their species composition, structure, stock of the raw above-ground part is carried out. The  $\alpha$ -diversity is estimated by generally accepted indices, the results of phenological observations are given. It was found that in the seasonal dynamics of plants, the beginning of the growing season depends on the air temperature in March, and the end of the cycle depends on the air temperature in May-early June. The optimal dates for the mass development of grasses are the beginning and the middle of May. In the case of an increased norm of atmospheric precipitation and a late onset of summer heat, this pattern may be violated, and the dates are shifted to the end of May – beginning of June. Over the years of observations in the cereal-forb phytocenosis of 19 species, 9, and in the legume-forb phytocenosis of 17 species, 5 turned out to be constant. The total projective cover ranged from 50 (dry years) to 100 % (wet years). The assessment of a-diversity showed that the species diversity of phytocenoses increased in years with a high amount of atmospheric precipitation in May. A linear dependence of phytomass on the total amount of atmospheric precipitation for March-June was revealed. It was found that the best accumulation of herbal phytomass is influenced by the amount of precipitation in late spring. The most resistant to warming plant species have been identified. These are mainly cereals with an average feed value: Avena eriantha, Bromus japonicus, Bromus rubens, Eremopyrum orientale, Lolium rigidum and weed herbs - Capsella bursapastoris, Carduus pycnocephalus, Convolvulus arvensis, Erodium cicutarium, Lepidium draba, Xanthium strumarium, the last species is an invasive plant. Among the representatives of legumes, only one species. Medicago minima, turned out to be relatively resistant to high air temperatures. It was found that of the total herbage, only 35.5 % of species can withstand a warming of 1.5–2 °C.

*Keywords*: arid territories; weather conditions; fluctuations; abundance; dominants; vegetation; mass development; α-diversity dynamics; phytomass dynamics.

#### Введение

Использование флуктуационных показателей ритма развития растений и их надземной фитомассы позволяет исследователям сравнить ход сезонных и разногодичных процессов, протекающих в растительном покрове, и установить закономерности развития растительности в зависимости от меняющихся погодных и экологических условий [1]. Растительность аридных зон наиболее чутко реагирует на сезонные и годичные изменения климата, поскольку находится в стрессовых условиях недостатка влаги почвы и дождевых осадков [2].

Кура-Аразская низменность (КАН) в географическом отношении является частью Арало-Каспийской низменности [3; 4], которая исторически является страховым зимним пастбищным фондом для животноводства республики. Особое значение принадлежит здесь Ширванской равнине, расположенной между левобережной части реки Куры и подножьем Большого Кавказа. Активная антропогенизация территории

(организация фермерских хозяйств), начавшаяся в XXI в., протекающая на фоне глобального потепления климата, ведет к постепенному сокращению пастбищных площадей, нарушению их видовой и структурной организации, к опустыниванию [5].

Полупустынный зональный тип растительности территории представлен эфемерово-эфемероидовыми и полынно-солянково-эфемеровыми сообществами [6]. По отношению к способности поглощения влаги из почвенных горизонтов растения подразделяются на 3 группы: 1) фреатофиты (кустарники, кустарнички, полукустарнички), получающие влагу из глубоко залегающих грунтовых вод; 2) трихогидрофиты (однолетние солянки, получающие капиллярную влагу от неглубоко залегающих грунтовых вод); 3) омброфиты (эфемеретум), развивающиеся за счет влаги атмосферных осадков. Последняя группа напрямую находится в зависимости от сезонных осадков и является наиболее уязвимой и чувствительной к погодным колебаниям.

Таким образом, цель настоящего исследования – изучение флуктуации злаково-разнотравных и бобово-разнотравных эфемерово-эфемероидовых фитоценозов в условиях полупустынь Кура-Аразской низменности.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнялась на пилотных участках Керарского опорного пункта Института ботаники НАН Азербайджана (Курдамирский административный район) в течение 2014—2020 гг. Полевые наблюдения и сбор материала проводили в разные периоды начала вегетации растений: ранневесенний (апрель-март), весенний (май) и раннелетний (июнь).

Район исследования входит в Центрально-степную климатическую область с сухим субтропическим климатом, мягкой зимой и сухим жарким летом [7]. В среднем годовая сумма осадков составляет 200-400 мм; среднемесячная годовая температура – +14,5 °C, среднемесячная температура января +1,4 °C, июля +27,3 °C; наиболее жаркий месяц август, когда абсолютная температура воздуха достигает +45 °C; число безморозных дней в году колеблется от 235 до 265; влияние моря выражается в увеличении абсолютной влажности воздуха, что благоприятно сказывается на растительности [4]. Погодные условия за 2014–2020 гг. по средним показателям температуры воздуха и количеству осадков варьировала между собой незначительно. Так, наиболее высокая температура воздуха приходилась на 2018 г. (+17.1 °C), а наименьшая – на 2016 г. (+15.6 °C); наибольшее среднегодовое количество осадков составило 466,7 мм в 2016 г., а наименьшее 230,1 мм в 2019 г. Если сравнить среднегодовые температурные показатели последних семи лет (2014–2020 гг.) с показателями литературных данных 20-летней давности [3], то можно отметить разницу по среднегодовым значениям на 2-3 С°; по среднемесячным января также на 2-3 С°, по среднемесячным июля на 2-5 С°, что однозначно указывает на аридизацию климата в данном районе. Что касается осадков, то в целом отклонений от известных норм не происходило. Таким образом, можно было предположить, что усиление потепления в сочетании со слабыми осадками отрицательно отразиться на фенологических сроках развития и жизненности растений, а также структуре и продуктивности полупустынной растительности.

Почвы района исследования характеризуются наличием сероземов с низким содержанием гумуса (1,5–2,5%) в сочетании с серо-бурыми глинистыми солонцовыми почвами [7;8]. Для гидротермического режима почвенного покрова характерен короткий по времени весенний влажный период с глубоким увлажнением почвенного профиля зимне-весенними осадками и длительный летний жаркий засушливый период с наличием в почвенном профиле пленочно-капиллярных токов и замедлением биологической активности [3].

Объектом исследования служили эфемерово-эфемероидовые полупустынные фитоценозы с участием видов злаков, разнотравья и бобовых. Наблюдения проводили на 2-х выбранных модельных участках размером 10×10 м: участок № 1 – злаково-разнотравный и № 2 – бобово-разнотравно-злаковый. Первый участок находится в естественных ксерофитных условиях: влагообеспеченность осуществляется исключительно за счет дождевых осадков. Ввиду этого он изначально был адаптирован к стрессовым условиям, что подтверждается низким обилием разнотравья и отсутствием бобовых. Второй – бобово-разнотравный с примесью злаков находится в непосредственной близости к протекающей реке и характеризуется периодическим повышением уровня грунтовых вод. Благодаря этому в нем присутствуют более мезофильные виды. Внутри участков в 3-кратной повторности закладывались метровые постоянные площадки. Ежегодно, в период начала вегетации, массового развития и отмирания травостоя на участках проводились геоботанические описания с учетом проективного покрытия, видового состава и числа методом постоянных пробных площадей [9]. Степень количественного участия видов в формировании фитоценозов определяли по шкале обилия-покрытия Ж. Браун-Бланке. Видовое α-разнообразие на площадках оценивали наиболее популярными индексами Шеннона (Н), Менхеника (Мп) и Маргалефа (Мg) [10]. Оценка биологической продуктивности проводилась по величине сырой надземной фитомассы сообщества методом укоса [11], а статистические расчеты – в программном обеспечении Past 3. версии Windows 2007 с использованием пакета Microsoft Excel. Названия растений определялись по многотомнику «Флора Азербайджана» [12].

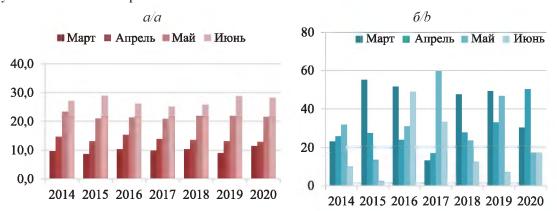
#### Результаты исследования и обсуждение

Растительность исследуемой территории представлена эфемеровыми, полынно-солянково-эфемеровыми сообществами. Мониторинг свидетельствует, что в настоящее время злаково-разнотравный эфемеретум образуется преимущественно злаками Aegilops cylindrica Host, Bromus japonicus Thunb., Bromus rubens L., Eremopyrum triticeum (Gaertn.) Nevski, Hordeum murinum subsp. leporinum (Link) Arcang., Lolium rigidum Gaudin, Poa bulbosa L. с единичным присутствием разнотравья из Calendula arvensis (Vaill.) L., Tragopogon graminifolius DC. и др. Бобово-разнотравно-злаковые фитоценозы включают в основном представителей разнотравья и бобовых: Calendula arvensis, Echinochloa crus-galli (L.) Beauv., Filago pyramidata L., Frankenia hirsuta L., Matricaria chamomilla L., Medicago rigidula (l.) All., M. minima (L.) L., Melilotus officinalis (L.) Pall., Senecio leucanthemifolius subsp. vernalis (Waldst. & Kit.) Greuter, Taraxacum desertorum Schischk., Tragopogon graminifolius, Torularia contortuplicata O. Schulz., Psylliostachys spicata (Willd.) Nevski., Veronica persica Poir. с незначительным участием злаков Aegilops cylindrica Host, Bromus rubens L., Poa bulbosa.

При анализе среднемесячных (март – июнь) температур воздуха выявлена незначительная разногодичная разница в 2–3 °C, количество же выпавших осадков было неоднозначным. Так, март – июнь 2014 и 2018 гг. характеризовались низкими осадками на фоне высоких температур и поэтому оценивались нами как засушливые годы. По температурным показателям, близким к 2018 г., можно считать 2019, 2020 гг. Однако по сравнению с 2018 г. они характеризуются большим количеством осадков, выпавших в периоды начала вегетации (март – начало апреля в 2019, 2020 гг.) и массового цветения (май 2019 г.). В 2015 г. осадки марта превысили норму всех лет, апрель также был достаточно влажным. 2016, 2017 гг. характеризовались относительно низкими температурными показателями воздуха. При этом в 2016 г. выпало наибольшее количество осадков по всем месяцам, а в 2017 г. выпало их наибольшее количество в мае.

Таким образом, 2014 г. можно считать наиболее жарким и сухим неблагоприятным годом, 2016 г. умеренно-жарким и влажным, 2015, 2018, 2020 гг. – жаркими, но ранневесенними влажными, 2017 – жарким, поздневесенним влажным, 2019 – жарким, ранневесенне и поздневесенним влажным (рис. 1, a,  $\delta$ ).

По результатам фенологических наблюдений начало вегетации растительности (рис. 2.) в 2014 г., ввиду резкого повышения температуры воздуха, пришлось на вторую декаду марта, а в 2018 г. близким по погодным условиям весны на третью.



 $Puc.\ 1.\ Динамика погодных показателей за период март – июнь 2014—2020 гг.: <math>a$  – температура воздуха;  $\delta$  – количество выпавших дождевых осадков

Fig. 1. Dynamics of weather indicators for the period March – June 2014-2020: a – air temperature, b – the amount of rainfall

При этом массовая вегетация была короткой и уже во второй декаде апреля перешла в массовое цветение, которое завершилось во второй декаде мая. В отличие от 2014 г., апрельские осадки 2018 г. благоприятно сказались на растительности, и она вегетировала до начала мая. Однако с повышением температуры воздуха и сокращением осадков она также резко завершила цикл в середине третьей декады мая. В 2015 г. осадки марта превысили норму всех лет, апрель также был достаточно влажным. На фоне теплого атмосферного воздуха это вызвало раннее начало вегетации трав (конец марта – первая декада апреля). Однако низкая доля выпавших осадков и высокая температура в мае – июне вызвали завершение жизненного цикла растений уже к концу мая. Наиболее длительный цикл развития растений наблюдался в 2016 и 2019 гг. В первом случае (2016 г.) завершился во второй декаде июня и чуть раньше в первой декаде июня в 2019 г. При этом, начало вегетации травостоя в 2016 г. из-за низких температура ранней весны началось позже 2017 г. Близким к 2016 г. по фенологическим показателям оказался 2019 г. Однако низкие осадки июня и повышение температуры воздуха вызвали более раннее высыхание травостоя. Неоднозначным оказался и 2020 г. Начавшееся в апреле массовое развитие травостоя из-за низких осадков на фоне повышенной

температуры воздуха завершилось во второй декаде мая. Таким образом, анализ сроков вегетации, массового развития и высыхания трав свидетельствует, что на раннюю вегетацию положительное влияние оказывают высокие температуры марта месяца. Но интенсивные атмосферные осадки могут ее задерживать. Разгар вегетации и массовое развитие зависят от температур воздуха в сочетании с количеством атмосферных осадков, а завершение цикла от температуры воздуха.

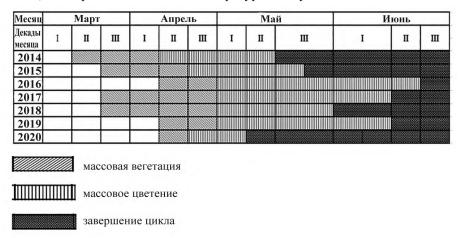


Рис. 2. Фенологический спектр флуктуации сроков развития травостоя в полупустынных фитоценозах

Fig. 2. Phenological spectrum of fluctuations in terms of herbage development in semi-desert phytocenoses

Анализ растительности участков № 1 и № 2, имевших разное положение по увлажнению почвы, показал существенное различие по видовому составу. За годы наблюдений на участке № 1 было зарегистрировано 19 видов (Adonis aestivalis L., Aegilops cylindrica, Alyssum desertorum Stapf., Avena eriantha Durieu, Bromus japonicus, Bromus rubens, Calendula arvensis, Chrysopogon zizanioides (L.) Roberty, Convolvulus arvensis L., Eremopyrum orientale (L.) Jaub. & Sp., Erodium cicutarium (L.) L. Her., Gagea reticulate (Pall.) Schult. & Schult. f.), Lolium rigidum, Papaver arenarium M. Bieb., Poa bulbosa, Ranunculus oxyspermus Willd., Rapistrum rugosum (L.) All., Tragopogon graminifolius, Xanthium strumarium L., из которых 8 видов (42,1 %) составляли злаки, а остальные 11 видов (57,9%) – разнотравье. Как следует из итогов наблюдения, на первом участке злаков насчитывалось 8 видов (42,1%). Несмотря на некоторое преобладание разнотравья, высокими отметками обилия все же характеризовались более устойчивые к засухе злаки, что, по-видимому, связано с высокой ксерофитностью погодных условий и режима увлажнения почвы. Из 17 видов 9 (52,9 %) -Aegilops cylindrica, Avena eriantha, Bromus japonicus, Bromus rubens, Convolvulus arvensis, Eremopyrum orientale, Erodium cicutarium, Lolium rigidum, Tragopogon graminifolius проявили себя постоянными и учавствовали в травостое во все годы. Однако их обилие было неоднозначным. В 2014 г., сухом и жарком, число особей Aegilops cylindrica, Avena eriantha, Tragopogon graminifolius в 1,5–2 раза было ниже, чем в остальные годы, во флористическом составе в этот год не отмечены A. desertorum, Chrysopogon zizanioides, Papaver arenarium, P. bulbosa, Ranunculus oxyspermus Willd., которые появились во влажном и умеренно жарком 2016 г. и умеренно влажном 2019 г. В эти же влажные годы (2016, 2019) произошло снижение числа особей Bromus rubens и Lolium rigidum, а также видов Bromus japonicus, Convolvulus arvensis, Eremopyrum orientale, Erodium cicutarium, Xanthium strumarium L., которые на засушливость не реагировали.

На участке № 2, как отмечалось выше, развивающимся на относительно влажной почве в составе флоры насчитывалось 17 видов (Aegilops cylindrica, Allium rubellum M. Bieb., Alyssum desertorum, Capsella bursapastoris (L.) Medic., Carduus pycnocephalus subsp. Marmoratus (Boiss. & Heldr.) Р. Н. Davis., Cota altissima (L.) J. Gay, Erodium cicutarium, Lepidium draba L., Linaria micrantha (Cav.) Hoffmanns. & Link, Lolium rigidum, Lotus tenuis Waldst. & Kit. ex Willd., Matricaria aurea (Loefl.) Sch. Bip., Medicago minima, Medicago rigidula, Melilotus officinalis, Vicia sativa L., Xanthium strumarium), из которых 10 видов (58,8 %) составили разнотравье, 5 (29,4 %) – бобовые и 2 (11.8 %) – злаки. Так, в 2014 г. и 2020 г. не выявлены Alyssum desertorum, Cota altissima (L.) J. Gay, Medicago rigidula, Melilotus officinalis, Vicia sativa, за исключением Carduu spycnocephalus, Erodium cicutarium, Lepidium draba, существенно снизилась численность Aegilops cylindrica, Capsella bursapastoris, Linaria micrantha, Medicago minima, Vicia sativa. В результате фитоценоз из бобово-разнотравного перешел в разнотравно-бобовый. В 2016 и 2019 гг. повысилась численность Aegilops cylindrica, Medicago minima, Melilotus officinalis, произошла смена доминантов и фитоценоз вновь стал бобово-разнотравным. Постоянство проявили Capsella bursa-pastoris, Carduus pycnocephalus, Erodium cicutarium, Lepidium draba, Medicago minima.

За 7 лет наблюдений проективное покрытие фитоценозов на участке № 1 изменялось в пределах от 50– 80 %, а на участке № 2-60–100 % соответственно. За годы наблюдений в обоих фитоценозах численность

одних видов снижалась, других повышалась, а некоторые виды вовсе выпадали из состава. В зависимости от погодных условий разных годов в фитоценозах происходила смена доминантов. Доминантами первого участка во влажные 2016–2019 гг. Aegilops cylindrica, в сухие ксерофитный Bromus rubens, а на втором – в 2014 гг. доминировали Medicago minima, в 2016–2019 гг. — Lotus temuis, Medicago minima. Первый участок оставался во все годы монодоминантным. Здесь происходила четкая смена одного доминанта другим. Второй – в 2014 г. был монодоминантным, а в остальные годы полидоминантым. Расчет α-разнообразия также подтвердил зависимость видового состава и численности особей от климатических условий. Количество видов изменялось по годам на участке № 1 от 8 до 17 видов, на участке № 2 – в пределах 7–15 видов. При этом высокими показателями α-разнообразия характеризовались годы с максимальным количеством осадков в мае месяце (2016, 2017, 2018, 2019). По сравнению с остальными годами показатели несколько ниже (табл.).

Таблица

#### Индексы видового разнообразия на участках № 1, № 2 за 2014–2020 гг.

Table

Indices of si	pecies diversit	v in n	lots No	1 and	No 2	for 2014-2	020
mulces of s	pecies unversi	ушр	TOTS TAO.	1 anu	110. 4	101 2017-2	UZU

Индексы	Годы наблюдений							
α-разнообразия	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Участок № 1								
Н	1,36	1,57	1,83	2,05	1,9	1,85	1,71	
Mn	0,29	0,4	0,55	0,61	0,67	0,59	0,57	
Mg	1,05	1,62	2,33	2,29	2,47	2,38	2,03	
	Участок № 2							
Н	1,59	2,18	2,28	2,24	2,25	2,24	2,11	
Mn	0,84	1,05	0,89	1,0	1,12	0,93	1,11	
Mg	1,55	2,51	2,48	2,46	2,70	2,51	2,43	

Примечание. Шенон (H), Менхеник (Mn), Маргалеф (Mg).

Изучение ритмов сезонного развития фитоценозов свидетельствует, что наиболее оптимальными сроками массового развития в обоих полупустынных фитоценозах являются I и II декады мая. Анализ по годичной динамике фитомассы травостоя показал, что наибольшая ее масса приходится на годы с высокими для данной местности дождевыми осадками апреля и мая (2016, 2017, 2019 гг.), наименьшим показателем отличился засушливый 2014 г., средние значения фитомассы пришлись на 2018 и 2017 гг. (рис. 3, a,  $\delta$ ).



Рис. 3. Соотношение показателей разногодичной динамики фитомассы (сырая масса 1 г / 1 м²) на опытных участках: a – № 1; 6 – № 2 (определенный 10.05.2014 – 10.05.2020 гг.)

Fig. 3. Ratio of indicators of different-year dynamics of phytomass (wet weight  $1g / 1 \text{ m}^2$ ) in experimental plots: a - No. 1; b - No. 2 (determined on 10.05.2014 - 10.05.2020)

Кореляционный анализ связи сырой фитомассы растений на участках с общим количеством осадков за март – июнь по годам (2014-2020) указывает на достаточно высокую прямую связь. Так, в злаково-разнотравном участке от составил 80-90 %, а на бобово-разнотравно-злаковом – 70-80 %.

#### Заключение

На флуктуации видового и доминантного состава, а также показатели α-разнообразия травянистый полупустынных фитоценозов КАН влияние оказывают термические условия воздуха и количество осадков,

выпадающих в мае. При этом длительность жизненного цикла растений зависит от температуры воздуха марта – июня, а фитомасса находится в большей зависимости от метеорологических условий поздней весны (апрель, май). В условиях продолжающегося потепления климата наиболее устойчивыми к жестким ксерофитным условиям из злаков являются Avena eriantha, Bromus japonicus, Bromus rubens, Eremopyrum orientale, Lolium rigidum — 12,9 %, из разнотравья — Capsella bursa-pastoris, Carduus pycnocephalus, Convolvulus arvensis, Erodium cicutarium, Lepidium draba, Xanthium strumarium — 19,4 %, а из бобовых — Medicago minima — 3,2 %, то есть лишь 35,5 % травостоя. В полупустынях Кура-Аразской низменности следует ожидать, в первую очередь, сокращение длительности жизненного цикла эфемерового разнотравья и бобовых, соответственно, снижение кормового качества этих фитоценозов.

#### Библиографические ссылки

- 1. Беляева НВ, Терентьева ЕЮ. Исследование закономерностей вегетативного цикла некоторых раститительных сообществ висимского заповедника с помощью комплексных фенологических показателей отечественная геоботаника: основные вехи и перспективы. В: Структура и динамика растительных сообществ. Экология растительных сообществ. Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием. Том 2. Санкт-Петербург: [б. н.]; 2011. с. 10–15.
- 2. Masson-Delmotte V, Zhai P, Portner H.-O, Roberts D, et al. IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). Global warming of 1.5 °C. In: IPCC special report on the impacts of global warming of 1.5 °C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty. Geneva (Switzerland): IPCC; 2018. 630 p.
  - 3. Museyibov MA. Physical Geography of Azerbaijan. Baku: Education; 2000. 47 p.
  - 4. Mamedov G. National Atlas of the Republic of Azerbaijan, Baku: Izdatelstvo NÂN Azerbaijana; 2014. 244 p.
- 5. Мансимов МР. Воздействие изменения климата на процессы опустынивания в Азербайджане. В: Водная Конференция. Санкт-Петербург: [б. н.]; 2019. с. 56–61.
- 6. Vegetation map of Azerbaijan. Scale 1: 600,000. In: Hajiyev VC, editor. State Committee for Geodesy and Cartography of the Republic of Azerbaijan. Baku: Izdatelstvo NAN Azerbaijana; 1996.
  - 7. Azizov GZ. Water-salt balance of meliorated soils of Kur-Araz lowland and scientific analysis of their results. Baku: Elm; 2006. 260 p.
- 8. Mamedov AI, Gasimova Kh, Husiyev EK, Farzaliyev V, Alizade VM, and Toderich K. Root and Shoot Relation of the Quinoa and Forage Plants in Salt-Affected Clay Soil Emerging Research in Alternative Crops. *Environment & Policy* (Springer). 2020;58:185–220.
  - 9. Корчагин АА, Лавренко ЕМ. Полевая геоботаника. Том 3. Москва: Издательство Академии Наук СССР; 1964. с. 300-432.
  - 10. Лебедева НВ, Дроздов НН, Криволуцкий ДА. Биологическое разнообразие. Москва: ВЛАДОС; 2004. 432 с.
- 11. Базилевич НИ. Продуктивность сенокосов и пастбищ травяных экосистем СССР. Новосибирск: Издательство Сибирского отделения; 1986. с. 4–10.
  - 12. Karjagin II, Sosnovsky DI, editors. Flora of Azerbaijan. In 8 Parts. Baku: Izdatelstvo NAN Azerbaijana; 1950–1961.

#### References

- 1. Belyaeva NV, Terentyeva EY. Issledovaniye zakonomernostey vegetativnogo tsikla nekotorykh rastititel'nykh soobshchestv visimskogo zapovednika s pomoshch'yu kompleksnykh fenologicheskikh pokazateley otechestvennaya geobotanika: osnovnyye vekhi i perspektivy. [Investigation of the regularities of the vegetative cycle of some plant communities of the Visim reserve using complex phenological indicators Russian geobotany: main milestones and prospects]. In: Structure and dynamics of plant communities Ecology of plant communities. Materials of the All-Russian scientific conference with international participation. Tom 2. Saint Petersburg: [publisher unknown]; 2011. p. 10–15. Russian.
- 2. Masson-Delmotte V, Zhai P, Pörtner H.-O, Roberts D, et al. IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). Global warming of 1.5 °C. In: IPCC special report on the impacts of global warming of 1.5 °C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty. Geneva (Switzerland): IPCC; 2018. 630 p.
  - 3. Museyibov MA. Physical Geography of Azerbaijan. Baku: Education; 2000. 47 p.
  - 4. Mamedov G. National Atlas of the Republic of Azerbaijan, Baku: Izdatelstvo NAN Azerbaijana; 2014. 244 p.
- 5. Mansimov MR. Vozdeystviye izmeneniya klimata na protsessy opustynivaniya v Azerbaydzhane. [Impact of climate change on desertification processes in Azerbaijan]. Water Conference. Saint Petersburg: [publisher unknown]; 2019. p. 56–61. Russian.
- 6. Vegetation map of Azerbaijan. Scale 1: 600,000. In: Hajiyev VC, editor. State Committee for Geodesy and Cartography of the Republic of Azerbaijan. Baku: Izdatelstvo NAN Azerbaijana: 1996.
  - 7. Azizov GZ. Water-salt balance of meliorated soils of Kur-Araz lowland and scientific analysis of their results. Baku: Elm; 2006. 260 p.
- 8. Mamedov AI, Gasimova Kh, Husiyev EK, Farzaliyev V, Alizade VM, and Toderich K. Root and Shoot Relation of the Quinoa and Forage Plants in Salt-Affected Clay Soil Emerging Research in Alternative Crops. *Environment & Policy* (Springer). 2020;58:185–220.
- 9. Korchagin AA, Lavrenko EM. *Polevaya geobotanika. Tom 3*. [Field geobotany. Part 3]. Moscow: Publishing House Academy of Sciences; USSR; 1964. p. 300–432. Russian
- 10. Lebedeva NV, Drozdov NN, Krivolutskiy DA. *Biologicheskoye raznoobraziye*. [Biological diversity]. Moscow: VLADOS; 2004. 432 p. Russian.
- 11. Bazilevich NI. *Produktivnost' senokosov i pastbishch travyanykh ekosistem SSSR* [Productivity of hayfields and pastures of grassy ecosystems in the USSR]. Novosibirsk: Izdatelstvo Sibirskogo otdeleniya; 1986. p. 4–10. Russian.
  - 12. Karjagin II, Sosnovsky DI, editors. Flora of Azerbaijan. In 8 Parts. Baku: Izdatelstvo NAN Azerbaijana; 1950–1961.

Статья поступила в редколлегию 06.08.2021. Received by editorial board 06.08.2021. УДК 575.13:575.17:582.632.2:630\*165.3

#### ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (QUERCUS ROBUR L.) В БЕЛАРУСИ

#### **В. Е. ПАДУТОВ**<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Институт леса Национальной академии наук Беларуси, ул. Пролетарская, 71, 246001, г. Гомель, Беларусь

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) является одним из основных лесообразующих видов Республики Беларусь. Анализ микросателлитных локусов хлоропластной ДНК выявил 18 аллельных вариантов, образующих 17 различных сочетаний (гаплотипов). Двенадцать из них являются редкими (общая доля встречаемости составляет 15 %), а пять — широко распространенными (доля встречаемости варьирует от 7 до 48 %): гаплотип № 1 (µdt189, µdt3122, µdt4141, µcd494, µcd574, µkk4109), гаплотип № 2 (µdt190, µdt3120, µdt4141, µcd495, µcd574, µkk4109), гаплотип № 3 (µdt189, µdt3120, µdt4141, µcd494, µcd575, µkk4109), гаплотип № 7 (µdt189, µdt3122, µdt4142, µcd494, µcd574, µkk4109) и гаплотип № 8 (µdt189, µdt3121, µdt4142, µcd494, µcd574, µkk4109). Установлено, что географическое распространение доминирующих гаплотипов с запада на восток (по градиенту усиления континентальности климата) имеет следующий порядок: № 8 – № 7 – № 3 – № 1 – № 2. Выявлено, что гаплотип № 3 преимущественно встречается в дубравах, произрастающих на возвышенностях, гаплотип № 8 – в понижениях, гаплотипы № 1, № 2 и № 7 – на средних элементах рельефа. Только для гаплотипа № 2 фактически наблюдаемые и теоретически ожидаемые частоты встречаемости в различных типах дубрав близки между собой. Для гаплотипов № 1 и № 8 установлены разнонаправленные тенденции: в тех типах леса, где для гаплотипа № 1 выявлено увеличение фактической частоты встречаемости по сравнению с ожидаемой, для гаплотипа № 8 наблюдается снижение, а где для гаплотипа № 1 – снижение, то для гаплотипы № 3 и № 7.

*Ключевые слова:* дуб черешчатый; *Quercus robur* L.; микросателлитный анализ; хлоропластная ДНК; гаплотип; популяционно-генетическая структура; факторы окружающей среды.

## THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE POPULATION GENETIC STRUCTURE OF THE PEDUNCULATE OAK (QUERCUS ROBUR L.) IN BELARUS

#### V. E. PADUTOV<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Forest Institute, National Academy of Sciences of Belarus, 71 Praletarskaja Street, Gomel 246001, Belarus

Pedunculate oak (*Quercus robur* L.) is one of the main forest forming species in the Republic of Belarus. 18 allelic variants were identified by means of microsatellite loci analysis, which are grouped into 17 different combinations (haplotypes). Twelve of them are rare (the total frequency of occurrence is 15 %) and five are widespread (the proportion of occurrence

#### Образец цитирования:

Падутов ВЕ. Влияние факторов окружающей среды на популящионно-генетическую структуру дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Беларуси. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:18–26. https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-18-26

#### For citation:

Padutov VE. The influence of environmental factors on the population genetic structure of the pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in Belarus. *Journal of the Belarusian State University*. *Ecology*. 2021;3:18–26. Russian.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-18-26

#### Автор:

**Владимир Евгеньевич Падутюв** – доктор биологических наук; член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси; заведующий научно-исследовательским отделом генетики, селекции и биотехнологии.

#### Author:

Vladimir E. Padutov, doctor of science (biology); corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus; head of the research department of genetics, breeding and biotechnology. forestgen@mail.ru

varies from 7 to 48 %). The last of the named groups includes haplotypes No. 1 (µdt189, µdt3123, µdt4142, µcd494, µcd574, µkk4109), No. 2 (µdt190, µdt3120, µdt4141, µcd495, µcd574, µkk4109), No. 3 (µdt189, µdt3120, µdt4141, µcd494, µcd575, µkk4109), No. 8 (µdt189, µdt3121, µdt4142, µcd494, µcd574, µkk4109). It was found that the geographical distribution of the dominant haplotypes from west to east (along the gradient of climate continentality increasing) has the following order No. 8 – No. 7 – No. 3 – No. 1 – No. 2. It was revealed that haplotype No. 3 is predominantly found in oak forests growing on hills. Haplotype No. 8 prones to form forest stands in depressions, while haplotypes No. 1, No. 2 and No. 7 mainly occupied middle relief elements. The actually observed and theoretically expected frequencies of occurrence in different types of oak forests are close to each other only in the case of haplotype No. 2. For haplotypes No. 1 and No. 8 opposite tendencies of distribution were revealed. In those forest types where for haplotype No. 1 there was an increase in the actual frequency of occurrence compared to the expected one, for haplotype No. 8 there was opposite situation. The reverse trend was also true for this pare of haplotypes. The second pair for which opposite tendencies of distribution were also revealed is haplotypes No. 3 and No. 7.

*Keywords*: pedunculate oak; *Quercus robur* L.; microsatellite analysis; chloroplast DNA; haplotype; population genetic structure; environmental factors.

#### Введение

Несмотря на высокий адаптационный потенциал дуба черешчатого и благоприятные для произрастания высокопродуктивных дубрав почвенно-климатические условия многих регионов республики наблюдается постепенное уменьшение доли дубрав в лесном фонде Беларуси. По мнению ученых, в настоящее время площади дубовой формации страны почти в два раза меньше потенциально возможных [1; 2]. Поэтому актуальной является проблема поиска путей эффективного восстановления деградирующих и создания новых высокопродуктивных и устойчивых насаждений дуба черешчатого. Наряду с естественным возобновлением леса, вследствие влияния ряда факторов, в первую очередь из-за отсутствия достаточного количества благонадежного естественного возобновления и смены дубовых насаждений другими породами, в лесном хозяйстве широко практикуется создание лесных культур. Научная организация искусственного восстановления в Беларуси предусматривает лесотипологический подход, то есть создание в одном из типов или хозяйственной группе предпосылок для местопроизрастания. Лесосеменное сырье должно использоваться при аналогичных или близких к ним условиях, что особенно актуально для дуба черешчатого, характеризующегося большим внутривидовым разнообразием.

Одним из эффективных путей увеличения доли дубрав является использование популяционно-генетического подхода, позволяющего учитывать при проведении лесовосстановительных мероприятий генетическую структуру популяций, которая формируется в результате естественной истории вида и представлена наиболее приспособленными к определенным условиям произрастания генотипами [3]. Установление особенностей популяционно-генетической структуры вида необходимо также для организации на генетической и лесотипологической основе постоянной лесосеменной базы дуба черешчатого Беларуси, важными объектами которой являются лесосеменные плантации [4]. Однако их закладка производилась на основании отбора деревьев по их морфологическому описанию. В то же время морфологические признаки, как и другие фенотипические параметры, в значительной степени формируются под влиянием условий окружающей среды, в результате этого генетические характеристики лесных селекционно-семеноводческих объектов в Беларуси остаются неизвестными [5].

Масштабное исследование с использованием хлоропластной ДНК древостоев дуба черешчатого [6], произрастающих в странах Европы, показало их высокую разнородность по генетическому происхождению вследствие распространения из разных рефугиумов ледникового периода: Пиренейского, Апеннинского и Балканского. Однако является ли современная геногеографическая структура отражением миграционных особенностей или на нее оказали влияние другие факторы до сих пор остается неизвестным. Предположение польских исследователей [7] о том, что балканские гаплотипы на севере Польши остановлены конкурентоспособными апеннинскими гаплотипами является не конкретизированным, поскольку не понятен механизм конкуренции.

Генетическая структура популяций вида формируется в течение длительного биологического времени (многих поколений) под влиянием естественного отбора, который направлен на сохранение генотипов, наиболее приспособленных к определенным почвенно-климатическим условиям. В свою очередь, большое разнообразие лесорастительных условий, наблюдающееся в пределах ареалов древесных растений, обусловливает различия и специфику векторов естественного отбора в популяциях.

Цель исследования: изучить влияние природных факторов на распространение в Беларуси древостоев дуба черешчатого различного генетического происхождения (по данным хлоропластной ДНК – хпДНК).

#### Материалы и методы исследования

Исследования выполнялись в средневозрастных, приспевающих, спелых и перестойных дубовых древостоях естественного происхождения Брестской, Витебской, Гомельской, Гродненской, Минской

и Могилевской областей. Для проведения генетического анализа в 100 выделах, представляющих наиболее репрезентативные типы дубрав, были взяты выборки деревьев. Каждая популяционная выборка представлена 15–30 деревьями, расположенными на расстоянии не менее 50 м друг от друга. В качестве экспериментального материала использовались побеги или древесина (2325 образца).

Выделение ДНК проводили модифицированным СТАВ-методом [8]. Для анализа хпДНК использовался микросателлитный (SSRP) анализ по шести локусам [9] с применением следующих пар праймеров:

```
μdt1 (F: 5'-ATCTTACACTAAGCTCGGAA-3', R: 5'-TTCAATAACTTGTTGATCC-3'); μdt3 (F: 5'-TGTTAGTAATCCTTTCGTT-3', R: 5'-AGGTATAAAGTCTAAGGTAA-3'); μdt4 (F: 5'-GATAATATAAAGAGTCAAAT-3', R: 5'-CCGAAAGGTCCTATACCTCG-3'); μcd4 (F: 5'-TTATTTGTTTTTGGTTTCACC-3', R: 5'-TTTCCCATAGAGAGTCTGTAT-3'); μcd5 (F: 5'-CCC-CCG-GATCTCTGTCA-3', R: 5'-TAATAAACGAGAATCACATAA-3'); μkk4 (F: 5'-TTGTTTACCTATAATTGGAGC-3', R: 5'-TAGCGGATCGGTTCAAAACTT-3').
```

Полимеразная цепная реакция выполнена по следующей программе: длительная денатурация (3 мин, 94 °C); 30 циклов – денатурация (30 с, 94 °C), отжиг (25 с, 72 °C), элонгация (25 с, 72 °C); длительная элонгация (7 мин, 72 °C); охлаждение реакционной смеси (5 мин, 4 °C). Электрофоретическое фракционирование продуктов амплификации выполнялось на генетическом анализаторе ABI PRISM 310 в соответствии с прилагаемой производителем инструкцией.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Анализ хпДНК с использованием микросателлитных праймеров по шести локусам выявил у дуба черешчатого на территории Беларуси 18 аллельных вариантов, которые образуют 17 различных сочетаний аллелей (гаплотипов). Пять гаплотипов являются доминирующими, долевое участие которых в составе дубрав составляет от 7 до 48 % (табл. 1). Представленность остальных двенадцати, производных от основных гаплотипов и встречающихся на ограниченных территориях в пределах одного или нескольких районов, варьирует от 1 до 3 % (если рассматривать в целом для территории республики). Вероятно, их появление может быть объяснено мутациями, возникшими в проанализированных локусах хпДНК дуба черешчатого за время постледникового распространения и произрастания на территории Беларуси.

Таблипа 1

#### Долевое участие (в %) гаплотипов дуба черешчатого на территории Беларуси

Table 1

#### Fractional participation (in %) of pedunculate oak haplotypes on the territory of Belarus

Гопполи	Гаплотип Область							
Таплотип	Брестская	Витебская	Гомельская	Гродненская	Минская	Могилевская	Беларусь	
№ 1	26	46	60	20	53	62	48	
№ 2	_	_	14	_	4	28	7	
№ 3	22	_	6	13	31	5	11	
№ 7	22	13	4	27	8	_	10	
№ 8	17	33	_	13	_	_	9	
Редкие	13 (2*)	8(2*)	16 (5*)	27 (4*)	4 (1*)	5 (1*)	15 (12*)	

<sup>\*</sup> Количество редких гаплотипов, выявленных на исследуемой территории.

Филогенетические деревья, построенные с помощью разных методов (метод ближайшего соседа и метод максимального правдоподобия), оказались сходными между собой и показывают наличие двух групп (ветвей) гаплотипов хпДНК дуба черешчатого. К первой из них относятся восемь вариантов, включая доминирующие гаплотипы № 7 и № 8 (соответственно генетические паспорта –  $\mu$ dt1<sup>89</sup>,  $\mu$ dt3<sup>122</sup>,  $\mu$ dt4<sup>142</sup>,  $\mu$ cd4<sup>94</sup>,  $\mu$ cd5<sup>74</sup>,  $\mu$ kk4<sup>109</sup> //  $\mu$ dt1<sup>89</sup>,  $\mu$ dt3<sup>121</sup>,  $\mu$ dt4<sup>142</sup>,  $\mu$ cd4<sup>94</sup>,  $\mu$ cd5<sup>74</sup>,  $\mu$ kk4<sup>109</sup>), ко второй – девять вариантов, в том числе доминирующие гаплотипы № 1, № 2 и № 3 (соответственно –  $\mu$ dt1<sup>89</sup>,  $\mu$ dt3<sup>123</sup>,  $\mu$ dt4<sup>142</sup>,  $\mu$ cd4<sup>94</sup>,  $\mu$ cd5<sup>74</sup>,  $\mu$ kk4<sup>109</sup> //  $\mu$ dt1<sup>90</sup>,  $\mu$ dt3<sup>120</sup>,  $\mu$ dt4<sup>141</sup>,  $\mu$ cd4<sup>95</sup>,  $\mu$ cd5<sup>74</sup>,  $\mu$ kk4<sup>109</sup> //  $\mu$ dt1<sup>89</sup>,  $\mu$ dt3<sup>120</sup>,  $\mu$ dt4<sup>141</sup>,  $\mu$ cd4<sup>95</sup>,  $\mu$ cd5<sup>74</sup>,  $\mu$ kk4<sup>109</sup> //  $\mu$ dt1<sup>89</sup>,  $\mu$ dt3<sup>120</sup>,  $\mu$ dt4<sup>141</sup>,  $\mu$ cd4<sup>95</sup>,  $\mu$ cd5<sup>75</sup>,  $\mu$ kk4<sup>109</sup>).

Встречаемость доминирующих гаплотипов дуба черешчатого отличается в разных географических регионах Беларуси. Так, гаплотип  $\mathbb{N}_2$  1, получивший название «Центрально-Белорусского», обнаружен на территории всех шести областей с постепенным увеличением удельной доли встречаемости с запада на восток. Гаплотип  $\mathbb{N}_2$  3 выявлен в центральной и южной частях страны, произрастая в местах распространения представителей карпатской флоры [10] на территории Беларуси, что дало основание назвать его «Карпатским». Гаплотип  $\mathbb{N}_2$  («Юго-Восточный») встречается преимущественно в двух областях,

локализуясь в юго-восточной части страны, а гаплотип № 7 («Западный») – распространен по западу Беларуси. Гаплотип № 8 («Северный») сконцентрирован в северной и западной частях Беларуси (свое название получил из-за первоначального обнаружения на севере республики).

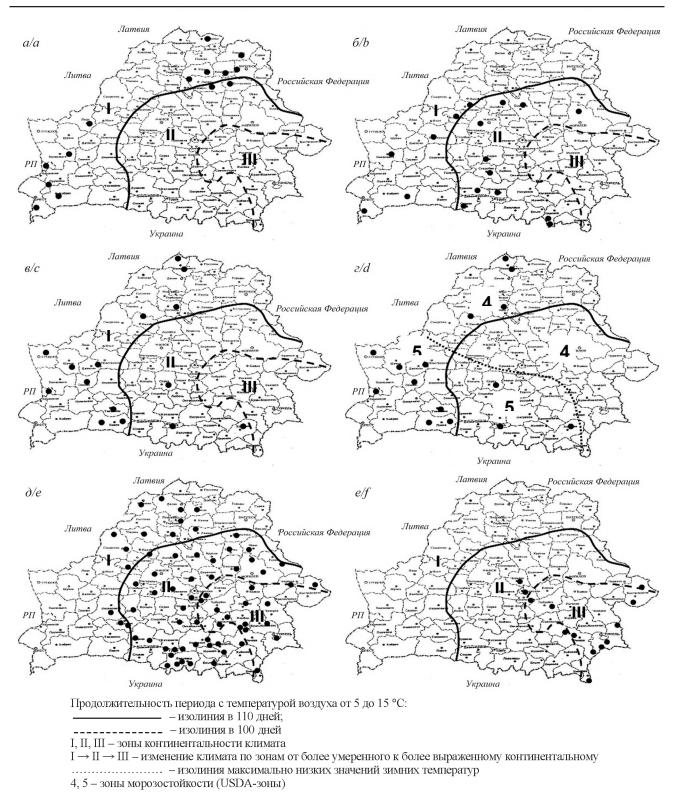
Учитывая, что наследование хлоропластной ДНК происходит только от материнского дерева к потомкам, выявленные гаплотипы можно рассматривать для дальнейшего анализа в качестве маркеров отдельных генетических линий и установления наличия/отсутствия генетического родства между деревьями, а также популяциями в которых они произрастают. В связи с неоднозначным пониманием или невозможностью строгого разграничения границ обитания популяции, а также характером изоляции и фенотипической изменчивости, понятие «популяция» иерархично: от относительно небольших групп особей, которые часто обозначают специальным термином «микропопуляция», или «дем» – очень крупных популяционных систем [11]. Как отмечает Ю. П. Алтухов [12], именно многоликость популяций, задаваемая внутренне присущим им принципом иерархического построения, является важнейшей фундаментальной особенностью популяционного уровня. В настоящее время имеется достаточно много объяснений смысла термина «популяция», поскольку это понятие может рассматриваться с различных точек зрения. Если учитывать генетический аспект, то одним из наиболее полных определений можно рассматривать следующее: «популяция – совокупность особей одного вида, занимающих определенный ареал, свободно скрещивающихся друг с другом, имеющих общее происхождение, генетическую основу и, в той или иной степени, изолированных от других популяций данного вида» [11; 13]. Фактически из всех признаков, которые характеризуют популяцию, наличие/отсутствие генетического родства является единственным параметром, который можно оценить.

На территории Беларуси, если учитывать фактор генетического родства, нами выявлено 17 отдельных популяций, двенадцать из них встречаются только локально, а пять – достаточно широко. Учитывая большие регионы распространения и разнообразные условия произрастания, для обозначения этих пяти доминирующих в республике популяций более приемлемы термин «популяционная система» (разработан советскими учеными под руководством Ю. П. Алтухова [14]), или «метапопуляция», широко используемый за рубежом, опубликованные в сборнике «Жизнеспособность популяций: Природоохранные аспекты» [15]. Если является верным наше предположение о том, что генетически родственные популяции (с одинаковым гаплотипом хпДНК) образуют единую популяционную систему, то их представители, даже если они произрастают в разных регионах страны, должны проявлять общие для каждой из метапопуляций популяционные характеристики в зависимости от таких факторов условий произрастания, как зонально-климатические, геоморфологические, почвенно-гидрологические и др.

Климатические особенности. Несмотря на то, что в целом территория Беларуси характеризуется умеренно континентальным климатом, между регионами страны наблюдаются определенные различия. На основе показателя континентальности климата (продолжительность периода с температурами от 5 до 15 °C) Беларусь делится на ряд климатических зон с различной степенью его выраженности [16]. Используя изолинии в 110 дней (Пинск – Барановичи – Вилейка – Лепель – Горки) и 100 дней (Брагин – Василевичи – Глуск – Могилев – Славгород), пространственное распределение гаплотипов дуба черешчатого изучено по трем зонам от более умеренного (зона II) до более выраженного континентального (зона III) климата (рис. 1).

Установлены геногеографические особенности распространения популяций дуба черешчатого по климатическим зонам. Так, хорошо видно, что древостои, представленные «Северным» гаплотипом, произрастают в зоне I (рис. 1, a). «Западный» гаплотип также широко распространен в зоне I, но, кроме того, был выявлен в нескольких насаждениях в южной части зоны II (рис. 1, a), что может быть объяснено климатической зональностью, основанной на максимально низких значениях зимних температур. Для северной части зоны II (рис. 1, a) характерна более низкая температура (-34...-29 °C), по сравнению с южной частью (-29...-23 °C). «Карпатский» гаплотип встречается в зонах I и II, при этом чаще в зоне II (рис. 1, a). «Центрально-Белорусский» гаплотип полностью охватывает территорию зон II и III и частично, на северо-западе, присутствует в зоне I (рис. 1, a). «Юго-Восточный» гаплотип преимущественно локализуется в зоне III, характеризующейся наиболее выраженным континентальным климатом по отношению к двум другим зонам (рис. 1, a).

Следует отметить, что в Латвии наиболее распространены «Западный» (33 %) и «Северный» (12 %) гаплотипы, а «Центрально-Белорусский» встречается лишь у единичных индивидов (0,5 %) [17]. На территории Польши нами обнаружено присутствие «Западного» гаплотипа, а в Воронежской обл. Российской Федерации — «Юго-Восточного». Таким образом, можно говорить о том, что «Северный» и «Западный» гаплотипы, в основном, распространены в районах с более умеренным климатом, а «Центрально-Белорусский» и «Юго-Восточный» — с более континентальным. Следует отметить, что «Северный» и «Западный» гаплотипы формируют на филогенетическом дереве одну ветвь, а «Центрально-Белорусский» и «Юго-Восточный» — другую. Достаточно широкое распространение «Карпатского» гаплотипа в зоне I (в отличие от родственных ему «Центрально-Белорусского» и «Юго-Восточного» гаплотипов) может объясняться адаптацией к более умеренному континентальному климату за счет миграции карпатских популяций через территорию Польши, где пролегал один из их миграционных путей [10].



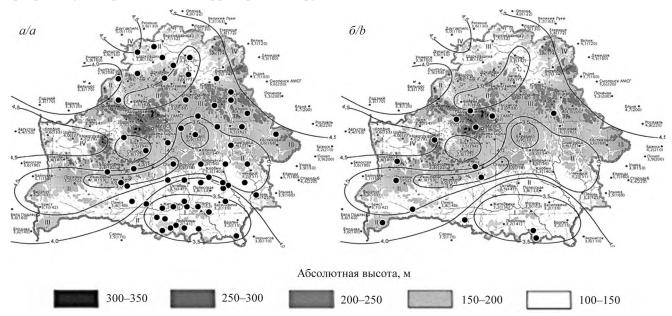
 $Puc.\ 1.$  Распространение популяций дуба черешчатого по территории Беларуси. Гаплотипы: a-№ 8 «Северный»; beta - № 2 ( «Карпатский», beta - № 2 ( «Карпатский», beta - № 2 ( «Исто-Восточный»)

Fig. 1. Distribution of pedunculate oak populations over the territory of Belarus. Haplotypes: a-No. 8 «Nothern»; b-No. 3 «Carpathian»; c,d-No. 7 «Western»; e-No. 1 «Central Belarusian»; f-No. 2 «Southeastern»

Необходимо отметить, что существовавшее к настоящему времени зонально-климатическое картирование, разработанное в конце XX в. на основании карт температурных показателей за период 1961–1988 гг., уже начинает корректироваться в связи с наблюдающимися климатическими изменениями [16; 18]. Вследствие этого в различных регионах республики возникают условия, к которым ныне произрастающие в этих

местах дубравы могут оказаться мало адаптированными. Не исключено, что это является одной из причин наблюдающегося в настоящее время усыхания дубрав.

Особенности рельефа. Для популяций дуба черешчатого, произрастающих в одной климатической зоне, характерна приуроченность к определенным высотным поясам. Так, в зоне I «Северный» гаплотип выявляется в основном на пониженных частях рельефа (Полесская низменность и Прибугская равнина), в то время как «Западный» – на более высоких геоморфологических элементах (150-200 м над уровнем моря), встречаясь главным образом на равнинах (за исключением Неманской низменности). На юго-востоке страны в зоне III (Полесская и Приднепровская низменности) в пойменных дубравах выявляется «Центрально-Белорусский» гаплотип, а в суходольных насаждениях – «Юго-Восточный». В зоне II «Центрально-Белорусский» гаплотип (рис. 2а) выявлен не только в понижениях рельефа (Полесская низменность), но также встречается на равнинных частях (Центрально-Березинская и Оршанско-Могилевская равнины), замещая на этих высотах «Западный» (в зоне I) и «Юго-Восточный» (в зоне III) гаплотипы. Кроме того, древостои, характеризующиеся «Центрально-Белорусским» гаплотипом, преодолев наиболее низкие места Белорусской гряды, распространились на территорию зоны І, где сейчас произрастают в западной части Полоцкой низменности. «Карпатский» гаплотип (рис. 26) встречается преимущественно на возвышенностях Белорусской гряды (200–350 м над уровнем моря), а также в ряде суходольных дубравах юго-западной части (Загородье, Малоритская и Столинская равнины) и южной части (Мозырская равнина) Белорусского Полесья, то есть в регионах, где проходили разные миграционные пути карпатской флоры и дуба черешчатого на территорию Беларуси [10; 19].



*Рис. 2.* Геоморфологическое распределение популяций дуба черешчатого по территории Беларуси. Гаплотипы: a − № 1 «Центрально-Белорусский»,  $\delta$  − № 3 «Карпатский»

Fig. 2. Geomorphological distribution of pedunculate oak populations over the territory of Belarus. Haplotypes: a – No. 1 «Central Belarusian», b – No. 3 «Carpathian»

Лесотипологические особенности. Распространение популяций дуба черешчатого разных филогенетических ветвей, произрастающих на одной территории и приуроченных к сходным элементам рельефа, характеризуется также почвенно-гидрологическими условиями. На территории Беларуси выделяются такие типы дубрав, как орляковый, черничный, кисличный, снытевый, крапивный, папоротниковый, луговиковый, злаково-пойменный, ясенево-пойменный, широкотравно-пойменный, ольхово-пойменный [20]. Также иногда отмечают крапивный мелиоративный и папоротниковый мелиоративный, но они встречаются очень редко и среди проанализированных дубрав отсутствовали. Аналогично в исследование не попали крапивные и луговиковые дубравы. Кроме того, были объединены в единую группу все пойменные дубравы. Вследствие этого, для изучения распространения доминирующих гаплотипов в дубравах с различными условиями произрастания были использованы такие основные типы, как кисличный, черничный, орляковый, снытевый, пойменный и папоротниковый.

На территории Беларуси преобладающими являются кисличные дубравы. С продвижением на север увеличиваются площади, занятые снытевыми дубравами, а на юг (в первую очередь на юго-запад) – дубравами черничными [2]. Так, в Западно-Двинском геоботаническом округе доля снытевых дубрав составляет

33 %, в то время как в остальных округах варьирует от 3 % (Неманско-Предполесский геоботанический округ) до 15 % (Оршано-Могилевский геоботанический округ). В Бугско-Полесском геоботаническом округе доля черничных дубрав достигает 38 %, а в остальных округах находится в пределах от 3 % (Западно-Двинский геоботанический округ) до 28 % (Полесско-Приднепровский геоботанический округ). В целом по стране (по данным предоставленным республиканским лесоустроительным предприятием «Белгослес») доля встречаемости анализируемых шести типов дубрав составляет: кисличный – 46 %, черничный – 20, орляковый – 11, снытевый – 8,5, пойменный – 8,3, папоротниковый – 4 %.

На основании долевого участия конкретных типов дубрав и частот встречаемости доминирующих гаплотипов было рассчитано ожидаемое распределение гаплотипов, которое сопоставлено с их фактическим распространением (табл. 2). Выявлено, что только для «Юго-Восточного» гаплотипа ожидаемые и наблюдаемые частоты встречаемости близки между собой. Для «Центрально-Белорусского» гаплотипа фактическая частота встречаемости почти в два раза ниже в снытевых и черничных дубравах, чем этого можно было ожидать. «Карпатский» гаплотип в снытевых дубравах не встречался, а зато в черничных его в три раза больше по сравнению с теоретически рассчитанной величиной. Для «Западного» гаплотипа характерен недостаток в кисличных дубравах и в два-три раза увеличение в снытевых, пойменных и орляковых дубравах. Для «Северного» гаплотипа наблюдается значительное уменьшение встречаемости в кисличных и пойменных, а увеличение – в снытевых и черничных дубравах.

Попарное сопоставление гаплотипов по увеличению или уменьшению фактической частоты их представленности в различных типах дубрав относительно теоретически ожидаемых величин, показывает, что наибольшие различия наблюдаются в следующих парах: «Центрально-Белорусский» – «Северный» и «Карпатский» – «Западный» (табл. 3).

Таблица 2 Распределение гаплотипов дуба черешчатого в зависимости от типа дубрав (ожидаемое/фактическое, в %)

Table 2 Distribution of pedunculate oak haplotypes depending on the type of oak forests (expected /actual, %)

Тип леса	Гаплотипы							
Типппеса	Центрально-Белорусский	Карпатский	Юго-Восточный	Западный	Северный			
Кисличный	31,1/34,4	7,4/8,5	5,1/5,1	5,0/2,4	3,8/2,0			
Снытевый	7,2/4,4	1,7/0	1,2/1,7	1,2/2,4	0,9/3,7			
Пойменный	11,6/12,4	2,8/1,7	1,9/1,7	1,9/3,4	1,4/0,5			
Черничный	5,1/2,4	1,2/3,7	0,8/1,2	0,8/0	0,6/1,2			
Папоротниковый	2,2/3,2	0,5/0,5	0,4/0	0,3/0	0,3/0			
Орляковый	2,2/2,4	0,5/0	0,4/0	0,3/1,2	0,3/0			

Таблица 3

Отклонение фактического распределения гаплотипов дуба черешчатого по типам дубрав от теоретически ожидаемого

Table 3

Deviation of the actual distribution of pedunculate oak haplotypes from the theoretically expected in the specified types of oak forests

Гонголинг	Тип леса							
Гаплотипы	Кисличный	Снытевый	Пойменный	Черничный	Папоротниковый	Орляковый		
Центрально-Белорусский	+	_	+	_	+	+		
Северный	_	+	_	+	_	_		
Карпатский	+	_	_	+	_	_		
Западный	_	+	+	_	_	+		

Примечание: знак «+» обозначает увеличение фактически наблюдаемой встречаемости по сравнению с ожидаемой; знак «-» обозначает уменьшение фактически наблюдаемой встречаемости по сравнению с ожидаемой.

Необходимо отметить, что наиболее сильно выраженное разграничение по типу леса наблюдается между теми гаплотипами, для которых характерно распространение на сходных элементах рельефа: для «Центрально-Белорусского» и «Северного» гаплотипов – пониженные, для «Карпатского» и «Западного» гаплотипов – повышенные. В северной части Беларуси в кисличных дубравах в 75 % случаев выявлен «Центрально-Белорусский» гаплотип, а в 75 % снытевых дубрав – «Северный» гаплотип. В целом, для генетически родственных «Центрально-Белорусского» и «Карпатского» гаплотипов наблюдается предпочтение к кисличным типам дубрав, а для генетически родственных «Северного» и «Западного» гаплотипов – к снытевым.

#### Заключение

Проведенное с использованием методов ДНК-анализа исследование дубовых насаждений Беларуси свидетельствует, что географическая локализация популяций дуба черешчатого различного генетического происхождения определяется совокупностью климатических, геоморфологических и почвенно-гидрологических факторов. Это позволяет рассматривать совокупности генетически родственных популяций как единые популяционные системы, или метапопуляции, маркерами которых являются гаплотипы хлоропластной ДНК. Если рассматривать по градиенту усиления континентальности климата, то географическое распространение гаплотипов имеет следующий порядок: гаплотип № 8 («Северный») – гаплотип № 7 («Западный») – гаплотип № 3 («Карпатский») – гаплотип № 1 («Центрально-Белорусский») – гаплотип № 2 («Юго-Восточный»). Гаплотип № 3 («Карпатский») чаще встречается в дубравах, располагающихся на возвышенностях. Гаплотип № 8 («Северный») характеризуется приуроченностью к древостоям, произрастающим на пониженных частях рельефа, а гаплотипы № 7 («Западный») и № 2 («Юго-Восточный») – на более высоких геоморфологических элементах (150-200 м над уровнем моря). Дубовые насаждения, в которых выявлен гаплотип № 1 («Центрально-Белорусский»), в I и III зонах в основном растут в низинах и в поймах рек, а в зоне II занимают различные элементы рельефа. Для дубрав, которые характеризуются наличием доминирующих гаплотипов из различных ветвей филогенетического дерева, наблюдается тенденция к произрастанию в отличающихся условиях местообитания. Особенно это заметно в случае их присутствия в одном и том же географическом районе, то есть заметен эффект расхождения по разным экологическим нишам. Это свидетельствует о том, что в ходе своего исторического развития популяции различного генетического происхождения адаптировались к определенным условиям местообитаний. Таким образом, при проведении мероприятий по лесовосстановлению и лесоразведению следует использовать репродуктивный материал, позволяющий создавать максимально устойчивые и продуктивные лесные культуры дуба черешчатого в конкретных условиях произрастания.

#### Библиографические ссылки

- 1. Багинский ВФ, Есимчик ЛД. *Лесопользование в Беларуси: История, современное состояние, проблемы и перспективы.* Минск: Беларуская навука; 1996. 367 с.
- 2. Лазарева МС, Барсукова ТЛ. Особенности распространения и типологическая структура дубовых насаждений Беларуси в разрезе лесорастительных районов. В: *Труды БГТУ. Серия 1. Лесное хозяйство. Выпуск 17.* Минск: [б. н.]; 2009. с. 130–133.
  - 3. Алтухов ЮП. Генетика популяций и сохранение биоразнообразия. Соросовский образовательныйжурнал. 1995;1:32-43.
- 4. Ковалевич АИ. Селекционное семеноводство в воспроизводстве лесов: состояние, проблемы и пути решения. В: Современное состояние, проблемы и перспективы лесовосстановления и лесоразведения на генетико-селекционной основе. Международная научно-практическая конференция, 8–10 сентября 2009 г., Гомель, Беларусь. Гомель: [б. н.]; 2009. с. 13–18.
  - 5. Падутов ВЕ. Генетические ресурсы сосны и ели в Беларуси. Гомель: ИЛ НАНБ; 2001. 144 с.
- 6. Petit RJ, Csaikl UM, Bordåcs S, Burg K, et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks: Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management.* 2002;156(1–3):5–26.
- 7. Dering M, Lewandowski A, Ufnalski K, Kedzierska A. How far to the east was the migration of white oaks from the Iberian refugium? *Silva Fennica*. 2008;42(№ 3):327–335.
  - 8. Падутов ВЕ, Баранов ОЮ, Воропаев ЕВ. Методы молекулярно-генетического анализа. Минск: Юнипол; 2007. 176 с.
- 9. Deguilloux M-F, Pemonge M-H, Bertel L, Kremer A, Petit RJ. Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. *Molecular Ecology.* 2003;12(6):1629–1636.
- 10. Парфенов ВИ. Обусловленность распространения и адаптация видов растений на границах ареалов. Минск: Наука и техника; 1980. 208 с.
- 11. Глазко ВИ, Глазко ГВ. Русско-англо-украинский толковый словарь по прикладной генетике, ДНК-технологии и биоинформатике. Киев: КВІЦ; 2001. 588 с.
  - 12. Алтухов ЮП. Генетические процессы в популяциях. Москва: Академкнига; 2003. 431 с.
- 13. Тиходеева МЮ, Лебедева ВХ. *Практическая геоботаника (анализ состава растительных сообществ)*. Санкт-Петербург: Издательство Санкт-Петербургского университета; 2015. 166 с.
  - 14. Алтухов ЮП, редактор. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях. М.: Наука; 2004. 619 с.
  - 15. Сулей М, редактор. Жизнеспособность популяций: Природоохранные аспекты. Москва: Мир; 1989. 224 с.
- 16. Давыденко ОВ. Агроклиматическое районирование Беларуси в условиях изменения климата. *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География.* 2009;1:106–111.

- 17. Падутов ВЕ, Баранов ОЮ, Каган ДИ, Ковалевич ОА, Вейнберга ИГ, Бауманис И, Рунгис ДЕ. Анализ генетической структуры и происхождения дуба черепгчатого (Quercus robur L.) в Беларуси и Латвии (с целью уточнения лесосеменного районирования). В: Беларусь Европейский союз, Белорусская инновационная неделя. Минск: [б. н.]; 2011. с. 17–18.
- 18. Мельник В, Яцухно В, Денисов Н, Николаева Л, Фалолеева М. Агроклиматическое зонирование территории Беларуси с учетом изменения климата в рамках разработки национальной стратегии адаптации сельского хозяйства к изменению климата в Республике Беларусь. Результат 1 по проекту СЕЕF2016-071-ВL. Минск–Женева: [б. н.]; 2017. 83 с.
- 19. Еловичева ЯК. Палинология Беларуси (к 100-летию Белорусского государственного университета). В 4 частях. Минск: БГУ; 2018. 831 с.
- 20. Юркевич ИД, Ловчий НФ, Гельтман ВС. *Леса Белорусского Полесья (геоботанические исследования)*. Минск: Наука и техника; 1977. 288 с.

#### References

- 1. Baginsky VF, Esimchik LD. Lesopol'zovanie v Belarusi: Istoriya, sovremennoe sostoyanie, problemy i perspektivy [Forest management in Belarus: History, current state, problems and prospects]. Minsk: Belaruskaya navuka; 1996. 367 p. Russian.
- 2. Lazareva MS, Barsukova TL. Peculiarities of distribution and typological structure of oak stands in Belarus in the context of forest regions. In: *Trudy BGTU. Seriya 1. Lesnoye khozyaistvo. Vypusk 17* [Proceedings of BSTU. Ser. 1. Forestry. Issue 17]. Minsk: [publisher unknown]; 2009. p. 130–133. Russian.
  - 3. Altukhov YuP. Population genetics and biodiversity conservation. Soros Educational Journal. 1995;1: 32–43. Russian.
- 4. Kovalevich AI. Selective seed production in forest reproduction: state, problems and solutions. In: Sovremennoye sostoyanie, problemy i perspectivy lesovosstanovleniya i lesorazvedeniya na genetiko-selektsonnoi osnove. Mezhdunarodnaya nauchno-practicheskaya konferentsiya, 8–10 sentyabrya 2009 g.; Gomel, Belarus' [Current state, problems and prospects of reforestation and afforestation on a genetic and selection basis. International scientific and practical conference. 2009 September 8–10, Gomel, Belarus]. Gomel: [publisher unknown], 2009. p. 13–18. Russian.
- 5. Padutov VE. Geneticheskie resursy sosny i eli v Belarusi [Genetic resources of pine and spruce in Belarus]. Gomel: IL NASB; 2001. 144 p. Russian.
- 6. Petit RJ, Csaikl UM, Bordåcs S, Burg K, et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks: Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*. 2002;156(1–3):5–26.
- 7. Dering M, Lewandowski A, Ufnalski K, Kedzierska A. How far to the east was the migration of white oaks from the Iberian refugium? *Silva Fennica*. 2008;42(№ 3):327–335.
- 8. Padutov VE, Baranov OYu, Voropaev EV. *Metody molekulyarno-geneticheskogo analiza* [Methods of molecular genetic analysis]. Minsk: Yunipol; 2007. 176 p. Russian.
- 9. Deguilloux M-F, Pemonge M-H, Bertel L, Kremer A, Petit RJ. Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. *Molecular Ecology*. 2003;12(6):1629–1636.
- 10. Parfenov VI. Obuslovlennost' rasprostraneniya i adaptatsiya vidov rastenii na granitsakh arealov [Conditionality of plant species distribution and adaptation at the boundaries of ranges]. Minsk: Nauka i technika; 1980. 208 p. Russian.
- 11. Glazko VI, Glazko GV. Russko-anglo-ukrainskii tolkovy slovar' po prikladnoi genetike, DNK-tekhnologii i bioinformatike [Russian-English-Ukrainian dictionary with definitions on applied genetics, DNA-technology and bioinformatics]. Kyiv: CPIC; 2001. 588 p. Russian.
- 12. Altukhov YuP. Geneticheskie protsessy v populatsiyakh [Genetic processes in populations]. Moskow: Akademkniga; 2003. 431 p. Russian.
- 13. Tikhodeeva MYu, Lebedeva VKh. *Prakticheskaya geobotanica (analiz sostava rastitel'nykh soobshchestv)* [Practical geobotany (analysis of the composition of plant communities)]. Saint Petersburg: Publishing House of Saint Petersburg University; 2015. 166 p. Russian.
- 14. Altukhov YuP, editor. *Dinamika populyatsionnykh genofondov pri antropogennykh vozdeystviyakh* [Dynamics of population gene pools under anthropogenic ipressures]. Moskow: Nauka; 2004. 619 p. Russian.
- 15. Soule ME. *Zhiznesposobnost' populyatsui: Priridookhrannye aspekty* [Viable Population for Conservation]. Moskow: Mir; 2004. 224 p. Russian.
- 16. Davydenko OV. Agroklimaticheskoe rayonirovanie Belarusi v usloviyakh izmeneniya klimata [Agro-climatic zoning of Belarus in conditions of climate change]. Journal of the Belarusian State University. Series 2. Chemistry. Biology. Geography. 2009;1:106–111. Russian.
- 17. Padutov VE, Baranov OYu, Kagan DI, Kovalevich OA, Veinberga IG, Baumanis I, Rungis DE. Analysis of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) genetic structure and origin in Belarus and Latvia (in order to clarify the forest seed zoning). In: *Belarus' Evropeiskii soyuz, Belorusskaya innovatscionnaya nedelya* [Belarus European Union, Belarusian Innovation Week: catalog]. Minsk: [publisher unknown]; 2011. p. 17–18. Russian.
- 18. Melnik V, Yatsukhno V, Denisov N, Nikolaeva L, Faloleeva M. *Agroklimaticheskoe zonirovanie territorii Belarusi s uchetom izmeneniya klimata v ramkakh razrabotki natsional'noi strategii adaptatsii sel'skogo khozyaistva k izmeneniyu klimata v Respublike Belarus'* [Agroclimatic zoning of the territory of Belarus taking into account climate change in the frames of the development of a national strategy for agriculture adapting to climate change in the Republic of Belarus]. *Rezul'tat 1 po proektu CEEF 2016-071-BL* [Result 1 for the project CEEF 2016-071-BL]. Minsk Geneva: [publisher unknown]; 2017. 83 p. Russian.
- 19. Elovicheva YaK. *Palinologiya Belarusi (k 100-letiyu Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta)* [Palynology of Belarus (to the 100th anniversary of the Belarusian State University)]. In 4 parts. Minsk: BSU; 2018. 831 p. Russian.
- 20. Yurkevich ID, Lovchiy NF, Geltman VS. Lesa Belorusskogo Poles'ya (geobotanicheskie issledovaniya) [Forests of Belarusian Polesie (geobotanical research)]. Minsk: Science and technology, 1977. 288 p. Russian.

Статья поступила в редколлегию 30.07.2021. Received by editorial board 30.07.2021. УДК 502.175:502.211:622.276

## ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ВРЕДНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОБЪЕКТЫ ЖИВОТНОГО МИРА ПРИ ОБУСТРОЙСТВЕ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НЕФТЯНЫХ СКВАЖИН

 $\mathcal{A}$ . В. ПОТАПОВ $^{1}$ , Н. Г. ГАЛИНОВСКИЙ $^{1}$ , В. С. АВЕРИН $^{1}$ , О. М. ДЕМИДЕНКО $^{1}$ 

<sup>1)</sup>Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины, ул. Советская, 104, 246039, г. Гомель, Беларусь

На основе анализа состояния зооценозов в условиях экосистем, сопряженных с площадками разведки и добычи нефти, произведена оценка ущерба, наносимого зообиоте обустройством и эксплуатацией нефтяных скважин. Впервые для Гомельского региона разработаны мероприятия и практические рекомендации, минимизирующие наносимый ущерб. Было выявлено, что обустройство дополнительной полосы, шириной до 20 м, засаженной травянисто-кустарниковой растительностью, способствуют сохранению видового состава беспозвоночных животных за счет образования пограничного эффекта. Отсутствие подобной буферной зоны приводит к проникновению песка в лесную экосистему, изменяет ее гидрологический режим, что приводит к усыханию деревьев и росту численности стволовых вредителей лесных пород. Также выявлено, что оборудование нефтяных скважин в луговых экосистемах, связанное со снятием естественного дерна, а также вырубкой древесно-кустарниковой растительности и завозом сюда песка для обустройства зоны обваловки и зоны отчуждения приводит к изменениям видовой структуры сообществ беспозвоночных. Подобная антропогенная трансформация луговых экосистем сопровождается ростом численности беспозвоночных животных, приуроченных к обитанию на обширных песчаных пространствах и уменьшении доли видов, предпочитающих травянистые местообитания. В результате исследований было показано, что сохранение снятого в ходе технологических работ почвенного слоя целесообразно для дальнейшей рекультивации трансформированной экосистемы. Было выявлено, что при высеве травосмеси из овсяницы красной и овечьей, мятлика лугового, райграса многолетнего совместно с внесением комплексного азотно-фосфорного удобрения в зоне отчуждения нефтяной скважины наблюдался рост численности жесткокрылых внутри площадки с посевами. Кроме того, внутри посевов снижалось обилие видов, приуроченных к песчаным территориям и отмечался рост численности, а также видовое богатство луговых видов, тяготеющих к территориям с высоким проективным покрытием трав. При этом так же, как и в случае с беспозвоночными, отмечается увеличение численности жесткокрылых у наружной кромки посевов, что, по нашему мнению, может быть объяснено своеобразным краевым эффектом.

*Ключевые слова:* зообиота; нефтедобыча; эксплуатация нефтяных скважин; оценка ущерба; практические рекомендации.

#### Образец цитирования:

Потапов ДВ, Галиновский НГ, Аверин ВС, Демиденко ОМ. Предотвращение вредного воздействия на объекты животного мира при обустройстве и эксплуатапии нефтяных скважин. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:27–39.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-27-39

#### For citation:

Potapov DV, Galinovskiy NG, Averin VS, Demidenko OM. Preventing the harmful effect on fauna at oil wells arrangement and operation . *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:27–39. Russian.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-27-39

#### Авторы:

**Дмитрий Викторович Потапов** – старший преподаватель кафедры зоологии, физиологии и генегики.

**Николай Геннадьевич Галиновский** – кандидат биологических наук; доценг кафедры зоологии, физиологии и генетики.

**Виктор Сергеевич Аверин** – доктор биологических наук, профессор; декан биологического факультета.

**Олег Михайлович Демиденко** – доктор технических наук, профессор, проректор по научной работе.

#### Authors:

*Dmitry V. Potapov*, senior lecturer at the department of zoology, physiology and genetics.

potapov@gsu.by

*Nikolay G. Galinovskiy*, PhD (biology); associate professor at the department of zoology, physiology and genetics.

galinovsky@gsu.by

*Viktor S. Averin*, doctor of science (biology), full professor, dean at the faculty of biology.

averin@gsu.by

*Oleg M. Demidenko*, doctor of science (technical), full professor, deputy director for research.

### PREVENTING THE HARMFUL EFFECT ON FAUNA AT OIL WELLS ARRANGEMENT AND OPERATION

D. V. POTAPOV<sup>a</sup>, N. G. GALINOVSKIY<sup>a</sup>, V. S. AVERIN<sup>a</sup>, O. M. DEMIDENKO<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Francisk Skorina Gomel State University, 108 Saveckaja Street, Homiel 246028, Belarus Corresponding author: Potapov D. V. (potapov@gsu.by)

The damage that is incurred to zoobiota by oil wells development and operation has been evaluated for Gomel region for the first time. This evaluation has been made based on the analysis of zoocenoses state under the conditions of ecosystems that are linked to oil exploration and production sites. Measures and practical recommendations have been also developed. They can reduce the damage incurred. It has been found out that development of an additional area facilitates the conservation of invertebrate animals species composition by edge effect formation. This area is up to 20 meters wide and planted with grass and shrubs. The absence of such a buffer zone leads to ingress of sand to a forest ecosystem, changes its hydrological conditions, which factors into trees shrinkage and increase of secondary insects number. It has also been revealed that the equipment of oil wells in grassland ecosystems brings about changes in species composition of invertebrate communities. The above-mentioned equipment is associated with natural thatch removal as well as with cutting down trees and shrubs, and injection of sand here to develop bunding zone and setback (buffer) area. Similar anthropogenic transformation of grassland ecosystems is accompanied by an increase of the number of invertebrate animals inhabiting vast sand spaces and a decrease in the proportion of species preferring grassy habitats. As a result of research, it has been shown that it makes sense to preserve the soil layer removed at technological works for further soil reclamation of the transformed ecosystem. It has been detected that the Coleoptera number has increased within the site in the setback (buffer) area of oil wells. Grass mixture of red and sheep's fescue, meadow grass, and perennial ryegrass were sowed on this site and the complex nitrogen-phosphate fertilizer was added. Moreover, species abundance inhabiting sand areas has been decreasing within seeds and the number and richness of meadowy species tending to areas of high projective grass cover have been increased. At the same, time there is an increase of Coleoptera number neat the outer edge of seeds as in the case with invertebrate animals. In our opinion, it can be explained by a particular border effect.

Keywords: zoobiota; oil production; oil wells operation; damage evaluation; practical recommendations.

#### Введение

На территории Гомельской обл. (Республика Беларусь) активно производится разведка и добыча нефти в условиях природных экосистем разного типа. Это оказывает большое влияние на состояние биоты, населяющей экосистемы, сопряженные с нефтедобычей.

Как показывают исследования, проведенные в условиях Судовицкого (2016–2018 гг.) и Южно-Осташковичского (2019–2020 гг.) нефтяных месторождений, ключевыми критериями воздействия являются антропогенная трансформация природных территорий, сопровождающаяся снижением проективного покрытия растительности, изменением гидрорежима в сторону снижения влажности, изменением видового состава биоты, а также численности отдельных видов беспозвоночных и позвоночных животных [1–4].

Опираясь на вышеперечисленные факторы, изучение состояния экосистем и различных видов зообиоты в них, сопряженных с площадками добычи нефти, является крайне актуальным, особенно в связи с возможностью оценки ущерба, наносимого нефтедобычей и выработкой предложений, минимизирующих этот ущерб. Немаловажным является готовность представителей организации, ведущей нефтедобычу (ПО «Белоруснефть»), к сотрудничеству по оценке ущерба, приносимого нефтедобычей природным сообществам, что является обязательным условием осуществления разведки нефтяных месторождений и добычи нефти на них.

Применение рекомендаций позволит минимизировать ущерб животному миру при обустройстве и эксплуатации нефтяных скважин во время проведения нефтеразработок, а также учитывать фактические данные воздействия на биоту, при расчете компенсационных выплат за ущерб животному миру.

#### Материалы и методы исследования

Территория Гомельской обл. является единственной в условиях Беларуси, где производится разведка и добыча нефти. Условно 63 нефтяных месторождения Гомельской обл. приурочены к 3 типам экосистем:

- 1) луговые экосистемы речных пойм (Судовицкое, Отрубовское, Березинское, Восточно-Березинское, Озерщинское нефтяные месторождения и др.);
- 2) открытые агроэкосистемы сельскохозяйственных угодий (Речицкое, Красносельское, Ветхинское нефтяные месторождения и др.);

- 3) лесные экосистемы (Тишковское, Западно-Тишковское, Южно-Тишковское, Южно-Осташковичское нефтяные месторождения и др.).
- В 2016–2018 гг. осуществлены исследования состояния зообиоты на трех стационарах в условиях притеррасных незатапливаемых луговых экосистем поймы р. Березина (Судовицкое нефтяное месторождение).
- 1. Скважина № 32 зона обваловки  $100 \times 70$  м, зона отчуждения  $150 \times 120$  м. Зона обваловки характеризуется полным отсутствием биоты, а в зоне отчуждения встречаются травянистые растения (ослинник двудомный, очиток едкий, ястребинка волосистая, пырей ползучий, овсяница овечья, овсюг) с площадью проективного покрытия 30 %. Почва песчаная.
- 2. Скважина № 36 зона обваловки 92×92 м, зона отчуждения 110×120 м. Зона обваловки сильно запесочена, характеризуется полным отсутствием биоты, далее встречаются травянистые растения (ослинник двудомный, икотник серо-зеленый, ястребинка волосистая, пырей ползучий, мятлик луговой, подорожник ланцетолистный) с площадью проективного покрытия (30–40) %. Почва недалеко от зоны обваловки песчаная, в 10–15 м от ее обваловки начинается тяжелая супесь, площадь проективного покрытия здесь увеличивается до 50 %. За полосой отчуждения с северной стороны начинается лесной массив.
- 3. Скважина № 47 зона обваловки составляет  $100 \times 105$  м, зона отчуждения  $140 \times 150$  м. Зона обваловки, как и на прочих скважинах добычи нефти, характеризуется полным отсутствием биоты. В начале зоны отчуждения (15–20 м) проективное покрытие составляет всего 5 %: встречаются немногочисленные травянистые растения пырей ползучий, ястребинка волосистая). Через 30–40 м зоны отчуждения проективное покрытие резко увеличивается (до 85 %), появляются мятлик луговой, полынь горькая, мышиный горошек и другие полевые растения. Почва песчаная.
- В 2019–2020 гг. осуществлены исследования состояния зообиоты на 2 стационарах в условиях экосистем лесного типа (Южно-Осташковичское нефтяное месторождение).
- 1. Скважина № 127 зона обваловки  $100 \times 100$  м, зона отчуждения  $120 \times 120$  м. Стационар учетов зообиоты расположен в условиях экотона (смежной полосы с лугово-кустарниковой растительностью), между зоной отчуждения скважины и лесной стацией.
- 2. Скважина № 174 зона обваловки 80×80 м, зона отчуждения 90×90 м. Стационар учетов зообиоты расположен в условиях лесной стации.

Сбор беспозвоночных животных проводился при помощи почвенных ловушек. В качестве почвенных ловушек использовались полистироловые стаканы, объемом 0,5 л, на одну треть заполненные фиксатором – формалином. Ловушки выставлялись из расчета 20 почвенных ловушек на один стационар. При этом на участках с нефтяными скважинами ловушки выставлялись в линию по мере удаления от края обваловки скважины.

Собранные беспозвоночные в лаборатории выкладывались на ватные слои для дальнейшего хранения и определения. Идентификация видов жесткокрылых проводилась с использованием определительных таблиц [5–8].

Для статистической обработки количественных показателей использовались пакеты прикладных программ. Первичная база беспозвоночных, включающая в себя данные о таксономической принадлежности, распространении, биопреферендуме, гигропреферендуме, пищевой специализации и численности составлялась с использованием MS Excel. Для анализа распределений, средних, ошибок и верификации гипотез об их различиях и связях использовался пакет Statistica 7.0. Показатели α-разнообразия в сообществах [9–12], а также кластерный анализ проводился с использованием программного пакета BioDiversity Pro. Расчет индекса разнообразия Шеннона, моделей распределения рассчитывался с использованием натурального основания логарифма.

В основу кластеризации заложен коэффициент сходства Жаккара. Доминирование в сообществах определялось по шкале Ренконена [13]. По ней виды, доля которых составляет более 5 % от общего числа особей, считаются доминантными; (2–5) % – субдоминантными; (1–2) % – рецедентными; менее 1 % – субрецедентными.

На основе полученных данных был составлен аннотированный список видов жесткокрылых обследованных стационаров, который включает в себя следующие харатеристики: название, распространенные синонимы, тип ареала, биотопическую приуроченность, зимующую фазу, срок генерации [14–16].

#### Результаты исследования и их обсуждение

Обоснование обустройства дополнительной полосы между зоной отчуждения скважины и краем лесного массива шириной 15–20 м, засеянной травянисто-кустарниковой растительностью (на примере скважин № 127 и 174 Южно-Осташковичского нефтяного месторождения). В ходе проведения исследований было изучено изменение численности беспозвоночных по мере удаления от края зоны отчуждения на участках, примыкающих к скважинам. Отмечено, что если вблизи скважины № 127 на

территории экотона по мере продвижения к краю леса численность беспозвоночных изменялась незначительно, что и подтверждается невысоким коэффициентом регрессии (рис. 1), то на участке лесного массива, примыкающем к скважине № 174, наблюдалось резкое снижение численности по мере продвижения вглубь от края зоны отчуждения с относительно высоким коэффициентом регрессии (рис. 2).

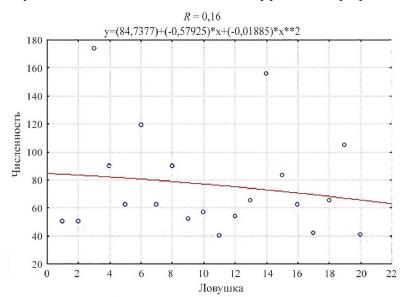
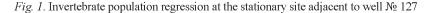


Рис. 1. Регрессия численности беспозвоночных на стационаре, примыкающем к скважине № 127



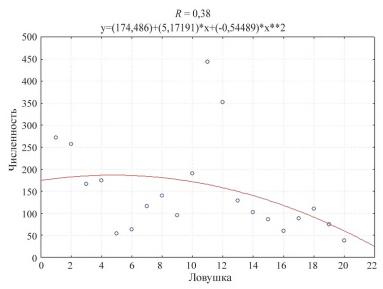


Рис. 2. Регрессия численности беспозвоночных на стационаре, примыкающем к скважине № 174

Fig. 2. Invertebrate population regression at the stationary site adjacent to well № 174

Плавность линии регрессии вблизи скважины на экотоне можно объяснить достаточно постоянными условиями обитания беспозвоночных, без их резких изменений, связанных с хозяйственной деятельностью человека по обустройству скважины, отсутствием резкой вариабельности и площади проективного покрытия растительности. При обнаруженной достоверной регрессии это может свидетельствовать об отсутствии каких-либо преимуществ для беспозвоночных при удалении от этой скважины.

В отличие от участка вблизи скважины № 127, на другом участке, граничащим со скважиной № 174, проводилось его активное преобразование, связанное с обустройством нефтескважины. Обустройство скважины включало в себя расширение зоны отчуждения в сторону лесного массива, выраженное в вырубке участка леса глубиной порядка 10–15 м. И если 5 первых ловушко-линий в 2019 г. находились в глубине лесного массива, то в 2020 г. они уже были расположены на открытом песчаном пространстве зоны отчуждения, которая регулярно перепахивалась грейдером для предотвращения появления растительности.

На участке, подвергнувшимся вырубке (скважина № 174), среди беспозвоночных значительно упала доля насекомых (с 90,39 % в 2019 г. до 77,19 % в 2020 г.) в пользу паукообразных, относительное обилие которых выросло в 2,5 раза. Также после вырубки не фиксировались представители таракановых – типичных обитателей лесной подстилки. Это можно объяснить изреживанием оставшихся на исследованном участке лесных насаждений, что привело к деградации травянисто-мохового яруса (в связи с изменением гидрологического режима), в котором остался только хвойный опад.

Распределение численности жесткокрылых по мере удаления от края зоны отчуждения скважины № 127 также достаточно плавное, без резких скачков (рис. 3), только в начале ловушко-линии на внешней границе экотона наблюдалось увеличение численности. Это может быть связано с ростом численности медляка песчаного (*Opatrum sabulosum*), который фиксировался именно в первых ловушках, недалеко от края зоны отчуждения, с меньшим проективным покрытием растительности и большими зонами, покрытыми голым песком.

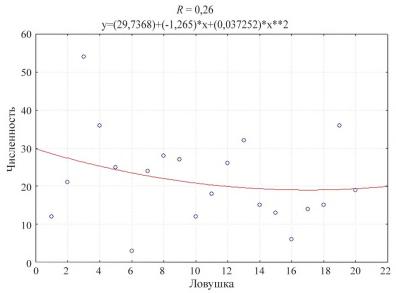


Рис. 3. Регрессия численности жесткокрылых на стационаре, примыкающем к скважине № 127

Fig. 3. Regression of the Coleoptera population at the stationary site adjacent to well № 127

При оценке влияния удаления от края зоны отчуждения на численность жесткокрылых на стационаре вблизи скважины № 174 за весь период исследований отмечается достоверное снижение численности по мере продвижения вглубь лесного массива, а затем резкое ее увеличение при очень высоких показателях коэффициента регрессии (рис. 4), свидетельствующем о значительной зависимости этих двух признаков между собой.

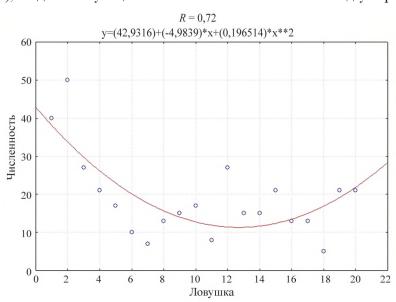
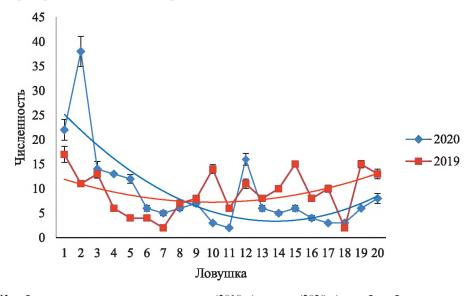


Рис. 4. Регрессия численности жесткокрылых на стационаре, примыкающем к скважине № 174

Fig. 4. Regression of the Coleoptera population at the stationary site adjacent to well № 174

При этом, как показали исследования, проведенные ранее для скважин Судовицкого нефтяного месторождения, рост численности жужелицы *H. flavescens* характерен в условиях увеличения площадей с открытыми запесоченными пространствами, что и наблюдалось в данном случае. Для сравнения – до вырубки численность беспозвоночных была достаточно выравнена на всем протяжении исследованной территории по мере удаления от скважины (рис. 5).

Также необходимо отметить тот факт, что в результате вырубки достоверно снизилась численность беспозвоночных (рис. 5). Следует выделить значительный рост стволовых вредителей сосны. Рост численности большого соснового долгоносика (*Hylobius abietis*) составил более, чем в 2,5 раза (от 13,59 до 35,45 %), сосновая смолевка (*Pissodes pini*) не только увеличила свою численность более, чем в 3 раза (от 1,63 до 5,73 %), но и вошла в число доминантов на этом участке. Кроме того, если рассматривать видовое сходство жесткокрылых на стационаре до и после вырубки, то коэффициент Жаккара составил всего 0,35, что может свидетельствовать о значительной перестройке видового спектра до слабого сходства после активного вмешательства человека.



Puc. 5. Колебание численности жесткокрылых до (2019 г.) и после (2020 г.) вырубки вблизи скважины № 174

Fig. 5. Variation in the number of Coleoptera before (2019) and after (2020) logging near well № 174

Таким образом, полученные данные позволяют рекомендовать резервирование дополнительной полосы между зоной отчуждения и краем лесного массива шириной 15–20 м, засеянной травянисто-кустарниковой растительностью. Данная буферная зона будет способствовать нивелированию негативного эффекта вырубок древесных насаждений и прочих мероприятий по обустройству скважин для фауны лесных экосистем.

Обоснование целесообразности минимизации выноса песка и строительных материалов естественным путем и в ходе работы технологического транспорта из зон строительства и обустройства скважин (на примере скважин № 32, 36 и 47 Судовицкого нефтяного месторождения). При строительстве и обустройстве нефтяных скважин происходит прямая трансформация текущей экосистемы в связи со снятием естественного дерна, а также вырубкой древесно-кустарниковой растительности и завозом сюда песка для обустройства зоны обваловки и зоны отчуждения. Данные преобразования не проходят бесследно для фауны жесткокрылых и прочих беспозвоночных, обитающих в луговых и лесных ценозах.

Как показали исследования герпетобионтных жесткокрылых, проведенные в экосистемах, примыкающих к нефтескважинам Судовицкого нефтяного месторождения, было выявлено, что жужелицы *Calathus erratus* и *Harpalus flavescens*, выделенные в роли массовых доминантов по итогам анализа трехлетней численности, в целом преобладали на протяжении всего периода исследований.

В результате проведенного дисперсионного анализа было выявлено, что на исследованных скважинах наблюдалось достоверное влияние антропогенной трансформации территории на изменение численности жесткокрылых: скважина № 36 - F=2,898, p<0,001 (рис. 6); скважина № 47 - F=1,866, p<0,05 (рис. 7). Для скважины № 32 дисперсионный анализ не показал прямого влияния – F=1,028, p=0,44 (рис. 8), но в тоже время наблюдающаяся тенденция позволила предположить наличие не планомерного, а ступенчатого изменения, что косвенно подтверждается и достаточно значимой криволинейной регрессией.

Для проверки этой гипотезы нами был проведен кластерный анализ, который достоверно объединил всю ловушко-линию в 4 кластера, которые совпадали с озвученными выше зонами (голый песок, песок с редкой растительностью, песок с 50 % проективным покрытием растительности и краевой участок,

примыкающий к пойме). Оценка влияния фактора удаленности уже на кластеры показала крайне высокую зависимость для центра каждого – F = 172,88, p << 0,0001 (рис. 9).

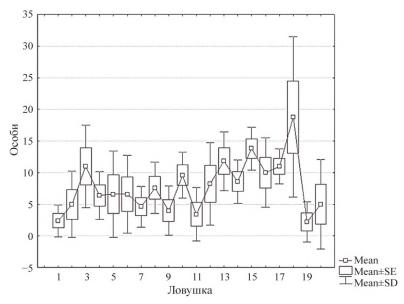


Рис. 6. Результаты однофакторного дисперсионного анализа оценки влияния удаленности от края обваловки нефтяной скважины на численность жесткокрылых в условиях стационара скважины № 36

Fig. 6. Results of a single-factor analysis of variance to assess the effect of the distance from the edge of the oil well collapse on the number of Coleoptera in the stationary conditions of well № 36

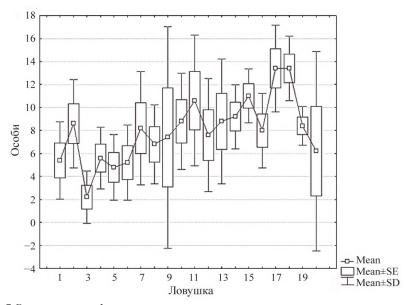
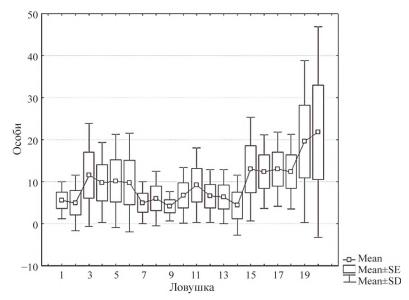


Рис. 7. Результаты однофакторного дисперсионного анализа оценки влияния удаленности от края обваловки нефтяной скважины на численность жесткокрылых в условиях стационара скважины № 47

Fig. 7. Results of a single-factor analysis of variance to assess the effect of the distance from the edge of the oil well collapse on the number of Coleoptera in the stationary conditions of well  $N_{\rm e}$  47

Таким образом, можно сказать, что трансформация человеком поймы в результате организации нефтяных скважин, ведущая к аридизации территории путем запесочивания, существенно влияет на численность жесткокрылых, приводя к существенному и достоверному ее падению, а также росту численности видов, предпочитающих сухие и песчаные стации.

В связи с этим целесообразно, по возможности, минимизировать вынос песка и строительных материалов естественным путем и в ходе работы технологического транспорта из зон строительства в сторону естественных экосистем, а также осуществлять движение технологического транспорта только по установленным маршрутам движения, максимально используя существующие дороги и подъездные пути.



Puc. 8. Результаты однофакторного дисперсионного анализа оценки влияния удаленности от края обваловки нефтяной скважины на численность жесткокрылых в условиях стационара скважины № 32

Fig. 8. Results of a single-factor analysis of variance to assess the effect of the distance from the edge of the oil well collapse on the number of Coleoptera in the stationary conditions of well  $N_2$  32

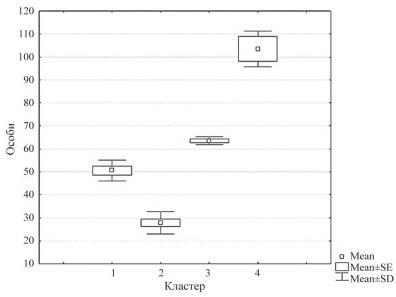


Рис. 9. Результаты дисперсионного анализа оценки влияния удаленности от края обваловки нефтяной скважины на кластеры

Fig. 9. Results of the dispersion analysis of the impact of the distance from the edge of the oil well collapse on the clusters

Обоснование целесообразности сохранения снятого в ходе технологических работ почвенного слоя с использованием методов, исключающих снижение его качественных показателей (на примере скважин № 32, 36 и 47 Судовицкого нефтяного месторождения). В течение полевого сезона 2018 г. на территории Судовицкого нефтяного месторождения проводились работы по восстановлению земель, нарушенных в ходе организации и эксплуатации нефтяных скважин. Рекультивационным мероприятиям подверглись участки, сопряженные с зоной отчуждения скважин № 32, 36 и 47. Зона отчуждения характеризовалась сильным запесочиванием привозным песком, в связи с разносом его из зоны обваловки естественным путем. В пределах зон отчуждения на пробных участках площадью 50 м² (5×10 м) вначале был произведен горнотехнический этап рекультивации, сопровождавшийся механической обработкой территории: очистка поверхности почвы от камней, мусора, остатков растительной ветоши, сорняков-космополитов. Далее осуществлен биологический этап, суть которого свелась к высеву на пробных участках (согласно стандартным методикам) злаковой травосмеси, состоящей из овсяницы красной и овечьей,

мятлика лугового, райграса многолетнего. Также паралельно с высевом производилось внесение удобрения «Аммофоскамид» (марка «для газона»), содержащего азот и фосфор. Высев травосмеси на пробных полщадках был осуществлен в апреле 2018 г.

В течение полевого сезона 2018 г. были осуществлены повторные выезды на стационары Судовицкого нефтяного месторождения с целью оценки состояния рекультивационных площадок. Необходимо отметить невысокую степень всхожести примененных травосмесей: проективное покрытие растительности на пробных площадках увеличилось с 0 до 20–30 %. Это объясняется бедностью почв экспериментальных площадок, представленных привозным речным песком, а также малым количеством осадков за отчетный период. В ходе летне-осенних посещений рекультивационных площадок был произведен дополнительный подсев семян травосмесей и внесение удобрений, использованных при первом посещении, а также расчет продуктивности выросшей растительности.

Рассчитанная продуктивность растительной массы высеянных злаков на экспериментальной площадке в зоне отчуждения скважины № 32 составила 57,12 г/м²; скважины № 36 – 159,65 г/м²; скважины № 47 – 58,16 г/м². Как видно из полученных данных, самая высокая скорость восстановления проективного покрытия растительности наблюдалась в окрестностях скважины № 36, характеризующейся наименьшей степенью запесочивания, в то время как в условиях «аридных» (запесоченных) скважин № 32 и 47 зарастание экспериментальных площадок проходило медленно и неполноценно. Однако подбор оптимальных для запесоченных почв травосмесей в совокупности с использованием азотно-фосфорных удобрений позволит значительно ускорить темпы восстановления природных экосистем, сопряженных с площадками нефтедобычи.

Всего за период исследований на 3 скважинах Судовицкого нефтяного месторождения с разной степенью проективного покрытия луговой растительностью было коллектировано 7527 экземпляров беспозвоночных животных, относящихся к 4 крупным таксонам: открыточелюстные насекомые, многоножки, паукообразные и ракообразные. Следует отметить, что только насекомые и паукообразные обитали в окрестностях всех исследованных скважин, ракообразные были отмечены только около скважины № 32, а многоножки не были зафиксированы у скважины № 47. При этом насекомые являлись монодоминантами, и их численность на всех участках была преобладающей как внутри посевов, так и у их наружной границы (табл. 1).

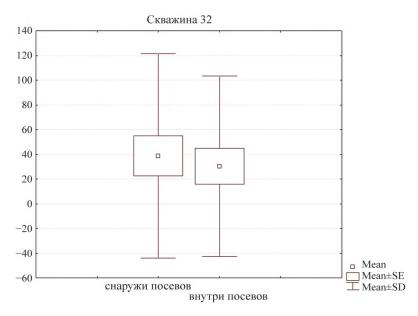
Таблица 1 Таксономический состав и относительное обилие беспозвоночных в зоне посевов смеси злаковых трав

Table 1

Taxonomic composition and relative abundance of invertebrates in the area of mixed grass crops

Таксон	Скважина № 32		Скважина № 36		Скважина № 47	
	снаружи посевов	внутри посевов	снаружи посевов	внутри посевов	снаружи посевов	внутри посевов
HEXAPODA	87,9	93,5	97,4	96,7	99,3	98,9
Otrthoptera	1,2	1,5	9,1	5,5	1,2	0,9
Heteroptera	2,3	0,3	2,6	2,1	0,1	0,5
Dermaptera	0,9	0	0	0	66,5	64,0
Coleoptera	17,3	12,3	79,3	85,2	31,4	32,3
Lepidoptera	0,2	0,1	0,3	0,3	0,1	0
Hymenoptera	77,9	85,8	8,2	6,2	0,7	2,3
Diptera	0,2	0	0,5	0,7	0	0
MYRIAPODA	0,2	0	0,1	0,1	0	0
ARACHNIDA	10,1	5,7	2,5	3,2	0,7	1,1
CRUSTACEA	1,8	0,8	0	0	0	0
Всего экземпляров	1006	788	1179	1528	1777	1249

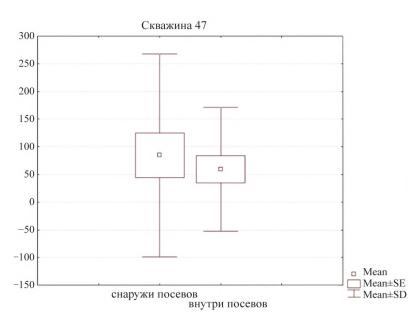
В результате проведения сравнения выборок беспозвоночных, обитавших внутри посевов и у их внешней границы, с использованием непараметрического Wilcoxon pair test было установлено и с крайне высокой степенью уверенности можно утверждать, что обилие беспозвоночных животных внутри посевов злаковых трав и у их внешней кромки статистически достоверно отличается лишь в окрестности скважин, имевших значительные площади песчаных пространств − скважины № 32 и 47 (рис. 10, 11). При этом отмечается увеличение численности беспозвоночных у наружной кромки посевов.



T=54,5; Z=3,07; *p*=0,002

Рис. 10. Влияние посевов злаковых трав на численность беспозвоночных у скважины № 32

Fig. 10. Effect of grass crops on the number of invertebrates at well  $N_2$  32



T=50; Z=2,05; p=0,04

Рис. 11. Влияние посевов злаковых трав на численность беспозвоночных у скважины № 47

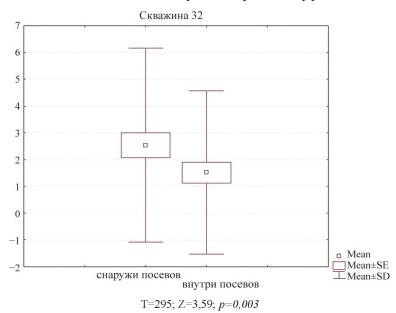
Fig. 11. Effect of grass crops on the number of invertebrates at well № 47

В результате того, что среди открыточелюстных насекомых в учетных выборках преобладали жесткокрылые (высокая численность перепончатокрылых на скважине  $N \ge 32$  и кожистокрылых на скважине  $N \ge 47$  связана только с такими видами, как муравьем Lasius niger и уховерткой Labidura riparia соответственно), нами был проведен анализ видового состава и численности этой группы насекомых в посадках злаковых трав.

Всего за период исследований было собрано 3 344 экземпляров жесткокрылых 60 видов, относящихся к 13 семействам. По видовому богатству и численности преобладали жужелицы, долгоносики и пластинчатоусые жуки, несколько уступали им по этим показателям щелкуны.

Был проведен анализ влияния посевов злаковых трав на численность жесткокрылых в сообществах, схожий с таковым с проведенным ранее по беспозвоночным. В результате сравнения выборок жесткокрылых,

обитавших внутри посевов и у внешней их границы, с использованием того же непараметрического Wilcoxon pair test было установлено, что обилие жесткокрылых животных внутри посевов злаковых трав и у их внешней кромки статистически достоверно отличаются лишь в окрестности скважин, имевших значительные участки запесочивания — скважины № 32 и 47 (рис. 12, 13). При этом так же, как и в случае с беспозвоночными, отмечается увеличение численности жесткокрылых у наружной кромки посевов, что, по нашему мнению, может быть объяснено своеобразным краевым эффектом.



Puc.~12. Влияние посевов злаковых трав на численность жесткокрылых у скважины № 32

Fig. 12. Influence of cereal grass crops on the number of Coleoptera at well № 32

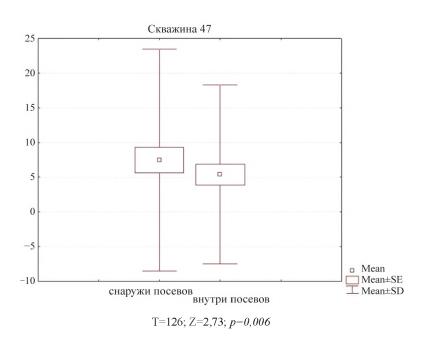


Рис. 13. Влияние посевов злаковых трав на численность жесткокрылых у скважины № 47

Fig. 13. Influence of cereal grass crops on the number of Coleoptera at well № 47

Проведенный анализ структуры доминирования показал, что жужелица *Harpalus flavescens* преобладала на всех экспериментальных участках, вне зависимости от места учета (внутри или снаружи посевов), что может говорить о ней, как о своеобразном индикаторе антропогенной нарушенности пойменных экосистем, связанной с увеличением песчаных сухих территорий.

При подробном рассмотрении сообществ жесткокрылых в зоне экспериментальных посевов было выявлено, что на скважине № 32 как внутри, так и снаружи посевов доминировали хрущик *Maladera holosericea* и чернотелка *Gonocephalum pusillum*, что может свидетельствовать о приуроченности к данному местообитанию без привязки к площади проективного покрытия и наличия густого растительного покрова. Это может служить дополнительным сигналом нарушенности пойменных экосистем, связанных с запесочиванием. Внутри посевов на этой скважине преобладала жужелица *Amara aenea*, а снаружи – щелкун *Dicronychus equiseti*.

На скважине № 36 жужелица *Calathus erratus* доминировала как внутри посевов, так и у внешней их границы. Это объясняется тем, что травянистая растительность – это типичное местообитание этой полевой жужелицы, а обилие травы снаружи, у границы экспериментального участка, позволяет хорошо себя чувствовать этому виду и в этих условиях.

Скважина с наибольшей площадью песчаных пространств (№ 47) отличалась, наряду с *Harpalus flavescens*, только двумя доминантами, которые преобладали вне зависимости от наличия травянистого покрова. Это были жужелица *Harpalus rubripes* и хрущик *Maladera holosericea*. Данные виды также можно отметить в качестве дополнительного индикатора ксерофизации поймы в результате деятельности человека.

Нами проведен анализ сходства видового состава жесткокрылых в каждом из сообществ скважин внутри экспериментальных посевов злаковых трав и снаружи, у внешней границы (табл. 2). В результате проведенного сравнения было установлено слабое видовое соответствие между жесткокрылыми, обитавшими внутри посевов злаковой смеси и у их наружной кромки около скважины № 32. Средняя степень соответствия по видовому составу характерна для скважин № 36 и 47 (табл. 2).

Таблица 2

#### Сходство видового состава жесткокрылых в зоне посевов смесей злаковых трав

Table 2

#### Similarity of the species composition of Coleoptera in the zone of crops of mixtures of grasses

Место	Скважина № 32		Скважин	a № 36	Скважина № 47	
обследования	снаружи посевов	внутри посевов	снаружи посевов	внутри посевов	снаружи посевов	внутри посевов
Коэффициент Жаккара, К <sub>л</sub>	0,37		0,56		0,60	

#### Заключение

Таким образом, для повышения продуктивности почв и растительности, а также привлечения представителей зообиоты в зону трансформации мы рекомендуем осуществлять в зоне отчуждения высев травосмесей. Они представлены семенным материалом травянистых сортов из расчета 30–60 кг семенного материала на 1 га при внесении азотных удобрений из расчета 150 кг на га. Кроме этого, рекомендуется снятый в ходе технологических работ почвенный слой хранить с применением методов, исключающих снижение его качественных показателей, и в дальнейшем использовать эти почвы для обратного восстановления земель.

#### Библиографические ссылки

- 1. Галиновский НГ, Демиденко ОМ, Потапов ДВ. Оценка влияния обустройства нефтяных скважин на сообщества жесткокрылых (Ectognatha, Coleoptera) на примере Судовицкого нефтяного месторождения (Республика Беларусь). *Известиия ITV*. 2018;3(108):24–29.
- 2. Галиновский НГ, Потапов ДВ, Аверин ВС. Жесткокрылые (Ectognatha, Coleoptera) отваловки скважин Судовицкого нефтяного месторождения (Светлогорский район) с разной степенью развития растительного покрова. В: Актуальные проблемы экологии. Сборник научых статей. Гродно: ЮрСаПринт; 2018. с. 52–55.
- 3. Потапов ДВ. К вопросу о состоянии сообществ мышевидных грызунов в условиях нефтедобычи. *Альманах современной науки и образования*. Тамбов: Грамота; 2016;10(112):59–62.
- 4. Аверин ВС, Потапов ДВ, Галиновский НГ. Видовая структура сообществ мышевидных грызунов в условиях добычи нефти разными способами. *Известия ГТУ*. 2017;3(102):5–10.
  - 5. Лопатин ИК. Жуки-листоеды фауны Белоруссии и Прибалтики. Минск: Вышэйшая школа; 1986.
  - 6. Лопатин ИК, Нестерова ОЛ. Насекомые Беларуси: листоеды (Coleoptera, Chrysomelidae). Минск: Технопринт, 2005.
- 7. Быховский БЕ, главный редактор. Определитель насекомых Европейской части СССР. Том 2. Жесткокрылые. Веерокрылые. Москва Ленинград: Наука; 1964—1981.
- 8. Фролов АВ. Определитель жуков рода *Aphodius* (Coleoptera, Scarabaeidae) Беларуси. *Весці Нацыянальная акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук*. 1999;4:98–104.

- 9. Magurran A. Ecological diversity and its measurement. London Sydney: Croom Helm; 1983.
- 10. Касимов НС и др. География и мониторинг биоразнообразия. Москва: Издательство Научного и научно-методического центра; 2002.
  - 11. Menchinik E. A comparson of some species diversity indices applied to samples of field insects. *Ecology*. 1964;45:859–861.
- 12. Schülter D, Ricklefs D. Species Diversity: An Introduction To The Problem. In: Species diversity in ecological communities. Historical and geographical perspectives. New York: [publisher unknown]; 1993. p. 1–10.
- 13. Renkonnen O. Statistish-Okologische Untersuchungen uber die terrestrische Kaferwelt der finnischen Bruchmoore. *Annales Botanici Societatis Zoologicae-Botanicae Fennicae*. 1938;6:1–30.
- 14. Александрович ОР. Жуки жужелицы (Coleoptera, Carabidae) фауны Белоруссии. В: Фауна и экология жесткокрылых Белоруссии: сборник научых статей. Минск: Навука і тэхніка; 1991. с. 37–78.
- 15. Александрович ОР, Писаненко АД. Пластинчатоусые жуки (Coleoptera, Scarabaeidae) фауны Белоруссии. В: *Фауна и эко- погия жесткокрылых Белоруссии: сборник научых статей*. Минск: Навука і тэхніка; 1991. с. 79–94.
- 16. Буга СВ, Шалапенок ЕС. Обзор фауны кокцинеллид (Coleoptera, Coccinellidae) Белоруссии. В: Фауна и экология жесткокрылых Белоруссии: сборник научых статей. Минск: Навука і тэхніка; 1991. с. 111–126.

#### References

- 1. Galinovsky NG, Demidenko OM, Potapov DV, Averin VS. Assessment of the impact of oil well construction on the coleopteran communities (Ectognatha, Coleoptera) using the example of the Sudovitsk oil field (Republic of Belarus). *Izvestia Gomelskogo gosudarsvennogo universiteta im. F. Skoriny.* 2018;3(108):24–29. Russian.
- 2. Halinouski M, Potapov D, Averin V. Zhestkokrylyye (Ectognatha, Coleoptera) otvalovki skvazhin Sudovitskogo neftyanogo mestorozhdeniya (Svetlogorskiy rayon) s raznoy stepeniyu razvitiya rastitelnogo pokrova [Beetles (Ectognatha, Coleoptera) wells Sudovitskogo oil field (Svetlogorsk district) with varying degrees of vegetation]. In: Aktualnyye problemy ekologii: sbornik nauchykh statey. Grodno: YurSaPrint; 2018. p. 52–55. Russian.
- 3. Potapov D. On the question of the state of communities of mouse-like rodents in the conditions of oil production. *Almanakh sovremennoy nauki i obrazovaniya*. Tambov: Gramota; 2016;10(112):59–62. Russian.
- 4. Averin VS, Potapov DV, Galinovsky NG. Species structure of mouse-rodent communities in conditions of oil production in different ways. *Izvestia Gomelskogo gosudarsvennogo universiteta im. F. Skoriny.* 2017;3(102):5–10. Russian.
- 5. Lopatin IK. Zhuki-listoyedy fauny Belorussii i Pribaltiki [Leaf-Beetles fauna of Belarus and the Baltic States]. Minsk: Vysheyshaya shkola; 1986. Russian.
- 6. Lopatin IK, Nesterova OL. *Nasekomyye Belarusi: listoyedy (Coleoptera, Chrysomelidae)* [Insects of Belarus: leaf beetles (Coleoptera, Chrysomelidae)]. Minsk: Technoprint; 2005. Russian.
- 7. Bykhovsky BE, editor-in-chief. Opredelitel nasekomykh Yevropeyskoy chasti SSSR. Tom 2. Zhestkokrylyye. Veyerokrylyye [Keys to insects of the European part of the USSR. In 5 volumes]. Moscow Leningrad: Nauka; 1964–1981. Russian.
- 8. Frolov AV. Keys to coleoptera of the genus Aphodius (Coleoptera, Scarabaeidae) of Belarus. Vesci Nacyyanal'naj akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk. 1999;4:98–104. Russian.
  - 9. Magurran A. Ecological diversity and its measurement. London Sydney: Croom Helm, 1983.
- 10. Kasimov NS, et al. *Geografiya i monitoring bioraznoobraziya* [Geography and monitoring of biodiversity]. Moskow: Izdatel'stvo Nauchnogo i nauchno-metodicheskogo centra; 2002. Russian.
  - 11. Menchinik E. A comparson of some species diversity indices applied to samples of field insects. *Ecology*. 1964;45:859–861.
- 12. Schülter D, Ricklefs D. Species Diversity: An Introduction To The Problem. In: Species diversity in ecological communities. Historical and geographical perspectives. New York: [publisher unknown]; 1993. p. 1–10.
- 13. Renkonnen O. Statistish-Okologische Untersuchungen uber die terrestrische Kaferwelt der finnischen Bruchmoore. *Annales Botanici Societatis Zoologicae-Botanicae Fennicae*. 1938;6:1–30.
- 14. Alexandrovich OR. Zhuki zhuzhelitsy (Coleoptera, Carabidae) fauny Belorussii [Beetles of the ground beetle (Coleoptera, Carabidae) of the fauna of Byelorussia]. In: Fauna i ecologiya zhestkokrylych Belorussii: sbornik nauchnych statej. Minsk: Navuka i tekhnika; 1991. p. 37–78. Russian.
- 15. Alexandrovich OR, Pisanenko AD. *Plastinchatousyye zhuki (Soleoptera, Scarabaeidae) fauny Belorussii* [Lamellar beetles (Soleoptera, Scarabaeidae) of the fauna of Byelorussia]. In: *Fauna i ecologiya zhestkokrylych Belorussii: sbornik nauchnych statej.* Minsk: Navuka i tekhnika; 1991. p. 79–94. Russian.
- 16. Buga SV, Shalapenok EŚ. *Obzor fauny koktsinellid (Coleoptera, Coccinellidae) Belorussii* [Review of the coccinellid fauna (Coleoptera, Coccinellidae) of Byelorussia]. In: *Fauna i ecologiya zhestkokrylych Belorussii: sbornik nauchnych statej*. Minsk: Navuka i tekhnika; 1991. p. 111–126. Russian.

Статья поступила в редколлегию 12.05.2021. Received by editorial board 12.05.2021.

# Радиология и радиобиология, радиационная безопасность

# RADIOLOGY AND RADIOBIOLOGY, RADIATION SAFETY

УДК 614.876+614.84+614.73

## ПРОГНОЗНАЯ ОЦЕНКА ПОСЛЕДСТВИЙ ТЯЖЕЛОЙ АВАРИИ НА БЕЛОРУССКОЙ АЭС ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ

В. В. КЛЯУС<sup>1)</sup>, Е. В. НИКОЛАЕНКО<sup>1)</sup>, О. М. ЖУКОВА<sup>1)</sup>, Н. С. КОЧЕРГИНА<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Научно-практический центр гигиены, ул. Академическая, 8, 220012, г. Минск, Беларусь

Представлены результаты прогнозной оценки уровней аварийного выброса радионуклидов, мощности дозы гамма-излучения, плотности выпадений на почву. Дан прогноз доз облучения населения Беларуси в результате возможной тяжелой запроектной аварии на Белорусской АЭС (далее – БелАЭС). Установлено, что при реперной запроектной аварии на БелАЭС (выброс радионуклидов в окружающую среду порядка  $4.5 \cdot 10^{15}$  Бк), продолжительность переноса радиоактивного загрязнения на расстояние до 100 км от БелАЭС при различных сценариях метеоусловий составит менее 2 ч. Суммарная плотность выпадения  $^{131}$ I на территории до 100 км вокруг БелАЭС составит менее 29 кБк/м² (0.78 Ки/км²), плотность выпадения  $^{137}$ Cs -5.6 кБк/м² (0.78 Ки/км²). Максимальное прогнозируемое значение дозы облучения щитовидной железы составит до 93.8 мЗв, дозы облучения всего тела -2.86 мЗв.

#### Образец цитирования:

Кляус ВВ, Николаенко ЕВ, Жукова ОМ, Кочергина НС. Прогнозная оценка последствий тяжелой аварии на Белорусской АЭС для здоровья населения. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:40—48. https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-40-48

#### For citation:

Kliaus VV, Nikalayenka AU, Zhukova OM, Kacharhina NS. Prognosys of the consequences of the severe accident at the Belorusian NPP to public health. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:40–48. Russian. https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-40-48

#### Авторы:

**Виктория Вячеславовна Кляус** – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник лаборатории радиационной безопасности.

**Елена Владимировна Николаенко** – кандидат медицинских наук; заведующий лаборатории радиационной безопасности.

**Ольга Митрофановна Жукова** – кандидат технических наук; старший научный сотрудник лаборатории радиационной безопасности.

**Наталья Сергеевна Кочергина** — специалист лаборатории радиационной безопасности.

#### Authors:

Viktoryia V. Kliaus, PhD (biology); senior researcher at the laboratory of radiation safety.

vkliaus@gmail.com

Alena Ü. Nikalayenka, PhD (medicine); head of the laboratory of radiation safety.

nikolaenko67@gmail.com

Olga M. Zhukova, PhD (engineering); senior researcher at the laboratory of radiation safety.

Olga.Zhukova.47@inbox.ru

Natallia S. Kacharhina, specialist at the laboratory of radiation safety.

natkoch09@gmail.com

На основании полученных результатов исследований обоснован перечень и объем необходимых защитных мероприятий для населения и разработаны рекомендации по проведению аварийного радиационного мониторинга (далее – APM) вокруг БелАЭС с учетом международных рекомендаций и нормативных документов Республики Беларусь.

*Ключевые слова:* радионуклид; Белорусская АЭС; тяжелая запроектная авария; мощность дозы; объемная активность; выпадения; доза облучения населения; аварийный радиационный мониторинг.

## PROGNOSYS OF THE CONSEQUENCES OF THE SEVERE ACCIDENT AT THE BELORUSIAN NPP TO PUBLIC HEALTH

V. V. KLIAUS<sup>a</sup>, A. U. NIKALAYENKA<sup>a</sup>, O. M. ZHUKOVA<sup>a</sup>, N. S. KACHARHINA<sup>a</sup>

<sup>8</sup>Scientific Practical Centre of Hygiene, 8 Akademičnaja Street, Minsk 220012, Belarus Corresponding author: V. V. Kliaus (vkliaus@gmail.com)

The article presents the results of assessment of the levels of emergency radionuclide discharge, gamma dose rates, radionuclide fallout, as well as the prognosis of public exposure doses to the population of Belarus as a result of a possible severe nuclear accident at the Belarusian NPP. It was found that, in the case of a severe nuclear accident at the Belarusian NPP with total activity of the accidental release of  $4.5 \cdot 10^{15}$  Bq, the transfer of radioactive contamination to a distance up to 100 km from the site under various meteorological scenarios, will be less than 2 hours. The total contamination density of the territory with  $^{131}$ I and  $^{137}$ Cs isotopes within 100 km radius around the Belarusian NPP will be less than 29 kBq/m² (0.78 Ci/km²) and less than 5.6 kBq/m² (0.15 Ci/km²) respectivelly. Maximum value of the thyroid dose will be up to 93.8 mSv, and of the effective dose – 2.86 mSv. Based on the obtained results, the justification for public protective measures was made and recommendations were given for conducting emergency radiation monitoring, taking into account international recommendations and national radiation safety standards of the Republic of Belarus.

*Keywords:* radionuclide; Belarusian NPP; severe nuclear accident; specific activity; dose rate; public exposure doses; radiation monitoring.

#### Введение

В соответствии с законодательством Республики Беларусь в компетенцию органов государственного санитарного надзора (далее – госсаннадзора) и ситуационно-кризисного центра (далее – СКЦ) Министерства здравоохранения Республики Беларусь входит оценка доз облучения населения (прогнозируемых и полученных), радиационный мониторинг продуктов питания и питьевой воды в населенных пунктах в ситуациях планируемого, существующего и аварийного облучения<sup>1</sup>.

Как показывает практика, на АЭС возможны нарушения режимов нормальной эксплуатации и возникновения аварийных ситуаций с выходом радиоактивных веществ за пределы площадки АЭС – запроектные аварии (далее – ЗА), что представляет потенциальный риск для населения и окружающей среды, требующий принятия срочных защитных мероприятий за пределами площадки в границах заранее установленных радиусов аварийного реагирования<sup>2</sup>, технических и организационных мер по проведению АРМ. Разработки научно обоснованной программы по проведению АРМ продуктов питания, питьевой воды и населенных пунктов, а также методических основ оценки прогнозируемых и полученных доз облучения населения при авариях на атомных электростанциях требует проведения прогнозных оценок возможных последствий тяжелых аварий для здоровья населения при отсутствии защитных мероприятий и после их введения.

Цель исследования: выполнить оценку возможных радиологических последствий реперной тяжелой запроектной аварии на БелАЭС для здоровья населения Беларуси, обосновать перечень и объем защитных мероприятий для населения и разработать рекомендации по проведению аварийного радиационного мониторинга вокруг БелАЭС.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>О радиационной безопасности [Интернет] : Закон Республики Беларусь, 18 июня 2019 г. № 198-3. [Процитировано 01 июня 2020]. Доступно по: https://www.pravo.by/upload/docs/op/H11900198\_1561496400.pdf.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>План защитных мероприятий при радиационной аварии на Белорусской атомной электростанции (внешний аварийный план) [Интернет]: утвержден постановлением Совета Министров Республики Беларусь 22 марта 2018 г. № 211. [Процитировано 01 июня 2020]. Доступно по: https://energodoc.by/document/view?id=3245.

#### Материалы и методы исследования

*Методы оценки результатов.* Для оценки возможных последствий тяжелых аварий на БелАЭС для здоровья населения Беларуси в качестве запроектной аварий выбран реперный сценарий тяжелой аварии с большой течью теплоносителя первого контура с отказом активной части CAO3 (ДУ346+ECCS) и дополнительным наложением полного обесточивания АЭС в первые 24 ч, описанный в ПООБ БелАЭС и основанный на результатах выполнения вероятностного анализа безопасности (ВАБ-1 и ВАБ-2) [1].

В качестве исходного состояния энергоблока рассмотрен режим работы блока на 100 % мощности. Аварийный выброс на интервале 1–30 суток после аварии формируется при этом за счет низкого (байпас контайнмента и байпас фильтров) и высотного (через венттрубу) выбросов. При оценке доз облучения населения выброс на данном этапе аварии консервативно рассмотрен на высоте 30 м, так как низкий выброс является менее благоприятным сценарием при аварии на АЭС.

Оценка аварийного выброса радионуклидов выполнена с помощью программного кода InterRas [2], оценка содержания радионуклидов в объектах окружающей среды и доз облучения человека – кода JRODOS [3].

Для моделирования переноса радионуклидов в атмосфере и прогноза радиоактивных выпадений при ЗА на БелАЭС были рассмотрены 5 сценариев метеоусловий, характерных для Островецкой площадки, выбранных на основе анализа многолетних метеорологических данных: 2 летних, 2 зимних и 1 условный сценарий экстремальных погодных условий с максимальной скоростью ветра, наблюдавшейся за последние 5 лет (табл. 1).

Таблица 1

#### Сценарии метеоусловий, использованные при прогнозировании последствий ЗА на БелАЭС

 $Table \ \ 1$  Scenarios of the meteorological conditions used to predict the consequences of the beyond design basis accident at the Belarusian NPP

Сценарий	1	2	3	4	5
Дата	03.06.2019	10.05.2019	09.01.2019	31.01.2019	условный
Направление ветра, °	110	102	125	70	45
Скорость ветра, м/с	2	2	2,5	3	25
Категория устойчивости атмосферы	D	F	С	Е	D
Высота слоя перемешивания, м	400	100	560	100	800
Осадки, мм	нет	дождь, 1,2	нет	мокрый снег	нет
Температура воздуха, °С	+20	+15	-14	+2	+15
Давление, мм. рт. ст	750	738	745	743	800
Влажность воздуха, %	70	80-100 (при осадках)	85	95	70

Дозы облучения населения рассчитаны за первые 10 ч, 7 дней и за первый месяц после аварии с целью сравнения полученных значений с действующими национальными и международными критериями реагирования, а также оценки вероятности возникновения у населения Республики Беларусь детерминированных и стохастических эффектов [4–6].

Рассчитаны следующие дозы облучения:

- средняя ОБЭ взвешенная поглощенная доза облучения красного костного мозга;
- эквивалентная доза облучения щитовидной железы;
- эффективная доза внешнего облучения от проходящего радиоактивного облака;
- эффективная доза внешнего облучения от выпадений;
- эффективная доза внутреннего облучения от ингаляционного поступления радионуклидов;
- эффективная доза внутреннего облучения от потребления загрязненных радионуклидами продуктов питания;
- общая эффективная доза, которая складывается из эффективных доз внешнего и внутреннего облучения [2; 3].

В качестве репрезентативного лица для оценки общей эффективной дозы облучения при авариях выбран взрослый человек (старше 17 лет), потребляющий продукты питания местного производства. Уровни

потребления выбраны в соответствии со статистическими данными в целом по Республике Беларусь. Для оценки дозы облучения щитовидной железы в качестве репрезентативных лиц выбраны дети до 12 лет.

Прогнозирование последствий ЗА и анализ полученных результатов проводились с учетом установленных для БелАЭС радиусов аварийного реагирования:

- зона предупредительных мер (далее 3ПМ) радиус 3 км. Защитные меры в пределах 3ПМ принимаются до или вскоре после выброса радиоактивного материала или облучения с учетом создавшейся обстановки;
- зона планирования срочных защитных мер (далее 3ПСМ) радиус 15 км. Защитные меры в пределах 3ПСМ выполняются на основе данных радиационного мониторинга окружающей среды или с учетом создавшейся обстановки.

Зоны определяются как территории приблизительно круглой формы с центром окружностей, совпадающим с геометрическим центром отрезка, соединяющим устья вентиляционных труб энергоблоков № 1 и 2 Белорусской АЭС. Исходя из складывающейся обстановки, в аварийной ситуации может потребоваться проведение защитных мероприятий только в конкретной части (секторах) зон аварийного реагирования. Кроме того, согласно рекомендациям МАГАТЭ, предусматриваются меры по мониторингу (на подготовительном этапе, до возникновения аварийной ситуации) мощности дозы от выпадений и последующего проведения защитных мероприятий в течение такого срока (от недели до месяца), когда их осуществление позволит эффективно снизить возникновение стохастических эффектов (на расстоянии до 100 км), а также ограничить потребления местных продуктов питания и питьевой воды (на расстоянии до 300 км).

#### Результаты исследования и их обсуждение

Общая расчетная активность аварийного выброса радионуклидов при реперной 3A на 5EAC за первые сутки составит  $4.5 \cdot 10^{15}$  Бк (табл. 2).

Таблица 2

#### Выброс радионуклидов в окружающую среду за первые сутки при ЗА на БелАЭС, Бк

Table 2

Radionuclide release into the environment during the first 24 hours after the beyond design basis accident at the Belarusian NPP, Bq

Радионуклид	Активность, Бк	Радионуклид	Активность, Бк	Радионуклид	Активность, Бк
<sup>134</sup> Cs	$9,90 \cdot 10^{12}$	I-135	5,00·10 <sup>13</sup>	Xe-131m	$2,60\cdot10^{13}$
<sup>136</sup> Cs	$2,00\cdot10^{12}$	Kr-83m	$8,20\cdot10^{12}$	Xe-133	$3,60\cdot10^{15}$
<sup>137</sup> Cs	6,90·10 <sup>12</sup>	Kr-85	$3,40\cdot10^{13}$	Xe-133m	8,80·10 <sup>13</sup>
<sup>138</sup> Cs	6,90·10 <sup>12</sup>	Kr-85m	4,40·10 <sup>13</sup>	Xe-135	2,90·10 <sup>14</sup>
$^{131}{ m I}$	3,60·10 <sup>13</sup>	Kr-87	$2,20\cdot10^{13}$	Xe-135m	1,30·10 <sup>13</sup>
$^{132}I$	3,00·10 <sup>13</sup>	Kr-88	$7,40\cdot10^{13}$	Xe-138	$6,00\cdot10^{12}$
133 <sub>I</sub>	$6,50\cdot10^{13}$	Rb-86	7,10·10 <sup>10</sup>	Bcero	4,50·10 <sup>15</sup>
$^{134}\mathrm{I}$	2,30·10 <sup>13</sup>	Rb-88	$6,10\cdot10^{13}$	bcero	4,50.10

Продолжительность переноса радиоактивного загрязнения на расстояние до 100 км от БелАЭС при сценариях 1-4 3A с общим выбросом радионуклидов в атмосферу, равным  $2,15\cdot10^{15}$  Бк (за 10 ч), составит менее 2 ч (рис. 1).

Максимальные значения мощности дозы гамма-излучения при ЗА на БелАЭС составят (согласно прогнозу) до 77 мкЗв/ч в непосредственной близости от площадки (сценарий 2). Данные значения превышают критерий ДУВЗ (мощность дозы на высоте 1 м над уровнем земли – 1 мкЗв/ч) на расстоянии до 8 км от БелАЭС и требуют введения в данном радиусе таких защитных мер, как прекращение потребления местных продуктов питания (овощей и молока) и питьевой воды из открытых источников. Кроме того, в течение недели, согласно международным рекомендациям МАГАТЭ [5], потребуется проведение радиационного аварийного мониторинга местных продуктов питания в радиусе до 100 км от станции [6].

Диапазон значений доз облучения красного костного мозга взрослого человека за 10 ч с момента аварии при сценариях 1–5 в радиусе 3 км от Белорусской АЭС составит от  $1,7\cdot10^{-5}$  до  $1,91\cdot10^{-4}$  Гр, в радиусе 15 км от Белорусской АЭС – от  $1,24\cdot10^{-6}$  до  $1,53\cdot10^{-5}$  Гр, в радиусе 100 км – от  $3,21\cdot10^{-10}$  до  $6,13\cdot10^{-7}$  Гр (табл. 3). Следовательно, критерий аварийного реагирования – 1 Гр не будет превышен ни в одном из рассмотренных сценариев ЗА. Принятия срочных защитных мер для населения Беларуси для предотвращения или сведения к минимуму тяжелых детерминированных эффектов при ЗА на Белорусской АЭС не потребуется [4–6].

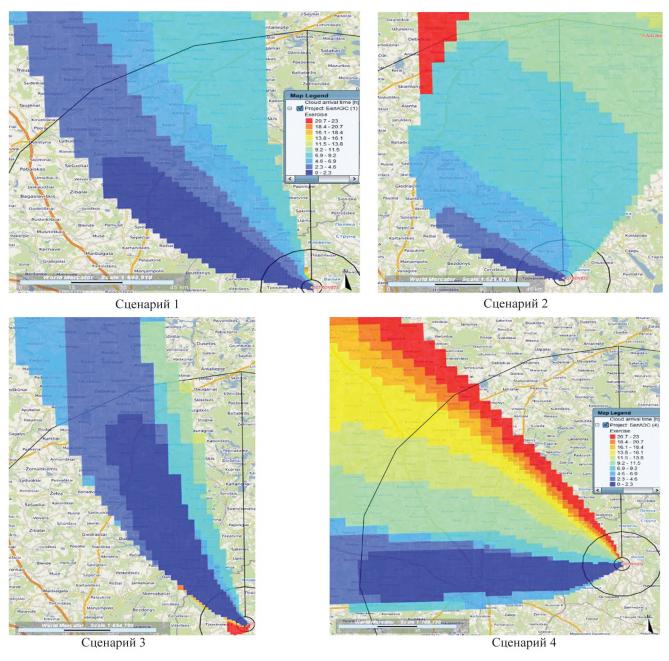


Рис. 1. Сценарии продолжительности переноса радиоактивного загрязнения на расстояние до 100 км от БелАЭС, ч

Fig. 1. Radioactive contamination transfer to a distance of up to 100 km from Belarusian NPP, hours

Загрязнение территорий через 1 сутки после ЗА на Белорусской АЭС представлено в табл. 3. Для сценариев 1, 3 и 5 рассматриваются прогнозируемые значения сухих выпадений, для сценариев 2 и 4 – суммарно сухих и влажных выпадений.

Максимальные плотности выпадения  $^{131}$ I на расстоянии 3 км от БелАЭС за 24 ч после 3А на БелАЭС для сценариев 1–5 составляют 298 кБк/м $^2$ , 462 кБк/км $^2$ , 393 кБк/м $^2$ , 271 кБк/м $^2$  и 120 кБк/м $^2$  соответственно.

Максимальные плотности выпадения <sup>137</sup>Cs на расстоянии 3 км от БелАЭС за 24 ч после 3A на БелАЭС для сценариев 1–4 будут менее 37 кБк/м² (1 Ки/км²). Следовательно, согласно расчетным данным, загрязнение территории <sup>137</sup>Cs при 3A на БелАЭС на расстоянии 3–5 км от станции будет незначительным

С целью оценки необходимости проведения йодной профилактики у населения оценены дозы облучения щитовидной железы. Оценка проведена для двух возрастных групп: взрослые (от 12 до 45 лет) и дети (до 12 лет). Прогнозируемые значения доз облучения щитовидной железы для всех 5 сценариев ЗА за первые 7 дней после аварии представлены в табл. 4.

Таблица 3

#### Плотность выпадений <sup>131</sup>I и <sup>137</sup>Cs на поверхность почвы за 24 ч после 3A на Белорусской АЭС, Бк/м<sup>2</sup>

 $Table \ \ 3$  Deposition density of  $^{131}$ I and  $^{137}$ Cs on the soil during the first 24 h after beyond design basis accident at the Belarusian NPP, Bq/m<sup>2</sup>

Расстояние от	Сцена	рий 1	Сцена	рий 2	Сцена	рий 3	Сцена	рий 4	Сцена	рий 5
БелАЭС, км	<sup>131</sup> I	<sup>137</sup> Cs	<sup>131</sup> I	<sup>137</sup> Cs	$^{131}{ m I}$	<sup>137</sup> Cs	$^{131}I$	<sup>137</sup> Cs	<sup>131</sup> I	<sup>137</sup> Cs
3	2,98·10 <sup>5</sup>	$1,11\cdot10^{4}$	4,62·10 <sup>5</sup>	$2,55\cdot10^4$	3,93·10 <sup>5</sup>	1,99·10 <sup>4</sup>	$2,71\cdot10^{5}$	$3,76\cdot10^4$	1,23·10 <sup>5</sup>	$3,73\cdot10^3$
5	1,50·10 <sup>5</sup>	$6,05\cdot10^3$	1,81·10 <sup>5</sup>	$9,20\cdot10^{3}$	$2,30\cdot10^{5}$	1,45·10 <sup>4</sup>	1,56·10 <sup>5</sup>	$2,19\cdot10^4$	$6,16\cdot10^4$	$1,92\cdot10^3$
10	$1,47\cdot10^{4}$	$1,21\cdot10^3$	$6,80\cdot10^4$	$6,40\cdot10^3$	$6,51\cdot10^4$	$5,11\cdot10^3$	$3,58\cdot10^4$	$6,20\cdot10^3$	$2,02\cdot10^4$	$6,64\cdot10^2$
15	$8,48\cdot10^{3}$	$7,18\cdot10^2$	$1,16 \cdot 10^4$	$2,41\cdot10^{3}$	$8,02\cdot10^3$	$1,99 \cdot 10^3$	$2,90\cdot10^4$	$5,66\cdot10^3$	$8,69\cdot10^{3}$	$3,07\cdot10^2$
20	$5.19 \cdot 10^3$	$4,31\cdot10^2$	$9,36\cdot10^{3}$	$1.14 \cdot 10^3$	$4.81 \cdot 10^3$	$1,40\cdot10^{3}$	$1,78\cdot10^{4}$	$3,83\cdot10^{3}$	$5,40\cdot10^3$	$2,06\cdot10^{2}$
25	$3,12\cdot10^3$	$2,80\cdot10^2$	$7,11\cdot10^3$	$8,38\cdot10^{2}$	$2,91\cdot10^3$	$9,74\cdot10^{2}$	$1,16\cdot10^{4}$	$2,72\cdot10^3$	$3,33\cdot10^3$	$1,33\cdot10^2$
30	$2,29\cdot10^{3}$	$2,04\cdot10^{2}$	$5,37\cdot10^3$	$7,58\cdot10^2$	$1,78\cdot10^{3}$	$7,56\cdot10^2$	$8,49\cdot10^{3}$	$2,08\cdot10^{3}$	$1,98\cdot10^{3}$	$8,37\cdot10^{1}$
35	$1,66\cdot10^3$	$1,65\cdot10^2$	$3,75\cdot10^3$	$6,61\cdot10^2$	$1,23\cdot10^3$	$3,59\cdot10^2$	$5,54\cdot10^3$	$1,50\cdot10^3$	$1,73\cdot10^3$	$7,62\cdot10^{1}$
40	$1,30\cdot10^3$	$1,33\cdot10^2$	$3,02\cdot10^3$	$6,05\cdot10^2$	$8,48\cdot10^{2}$	$4,32\cdot10^2$	$4,02\cdot10^3$	$1,18\cdot10^3$	$1,54\cdot10^3$	$6,99 \cdot 10^{1}$
45	$1,19 \cdot 10^3$	$1,35\cdot10^2$	$2,47\cdot10^3$	$5,49\cdot10^2$	$6,89\cdot10^2$	$3,70\cdot10^2$	$3,00\cdot10^3$	$9,28\cdot10^{2}$	$1,48\cdot10^{3}$	$6,84\cdot10^{1}$
50	$1,09\cdot10^3$	$1,29\cdot10^2$	$1,88\cdot10^3$	$4,66\cdot10^{2}$	$8,41\cdot10^2$	$3,46\cdot10^2$	$2,66\cdot10^3$	$9,17\cdot10^{2}$	$1,31\cdot10^3$	$6,12\cdot10^{1}$
55	$9,60\cdot10^2$	$1,20\cdot10^2$	$1,69\cdot10^3$	$4,19\cdot10^{2}$	$7,19\cdot10^2$	$3,21\cdot10^2$	$2,21\cdot10^3$	$7,97\cdot10^2$	$1,31\cdot10^3$	$6,18\cdot10^{1}$
60	$8,75\cdot10^2$	$1,17\cdot10^2$	$1,40\cdot10^3$	$3,55\cdot10^2$	$4,74\cdot10^{2}$	$2,77\cdot10^2$	$1,95\cdot10^3$	$7,02\cdot10^2$	$7,43\cdot10^2$	$3,60\cdot10^{1}$
65	$6,59\cdot10^2$	$1,02\cdot10^2$	$9,27\cdot10^2$	$2,24\cdot10^{2}$	$3,55\cdot10^2$	$2,10\cdot10^2$	$1,73\cdot10^3$	$6,32\cdot10^2$	$1,14\cdot10^3$	$5,65\cdot10^{1}$
70	$6,47\cdot10^2$	$1,08\cdot10^2$	$6,61\cdot10^2$	$1,84\cdot10^2$	$3,72\cdot10^2$	$1,41\cdot10^2$	$1,61\cdot10^3$	$4,65\cdot10^2$	$8,41\cdot10^2$	$4,24\cdot10^{1}$
75	$5,30\cdot10^2$	$9,44\cdot10^{1}$	$4,98\cdot10^{2}$	$1,56\cdot10^2$	$3,94\cdot10^2$	$1,81\cdot10^2$	$1,56\cdot10^3$	$4,02\cdot10^{2}$	$1,03\cdot10^3$	$5,27\cdot10^{1}$
80	$4,11\cdot10^2$	$8,21\cdot10^{1}$	$4,25\cdot10^2$	$1,34\cdot10^2$	$3,28\cdot10^2$	$1,83\cdot10^2$	$1,60\cdot10^3$	$3,57\cdot10^2$	$8,95\cdot10^2$	$4,62\cdot10^{1}$
85	$4,10\cdot10^{2}$	$8,08\cdot10^{1}$	$3,41\cdot10^2$	$1,22\cdot10^2$	$3,97\cdot10^2$	$1,81\cdot10^2$	$1,62\cdot10^3$	$3,14\cdot10^{2}$	$9,32\cdot10^{2}$	$4,84 \cdot 10^{1}$
90	$3,16\cdot10^2$	$7,10\cdot10^{1}$	$2,69\cdot10^{2}$	$1,12\cdot10^2$	$3,07\cdot10^2$	$1,81\cdot10^2$	$1,55\cdot 10^3$	$2,75\cdot10^{2}$	$9,13\cdot10^{2}$	$4,77\cdot10^{1}$
95	$3,09\cdot10^2$	$7,40\cdot10^{1}$	$1,97\cdot10^2$	$1,17\cdot10^2$	$3,28\cdot10^2$	$1,78\cdot10^2$	$1,42\cdot10^3$	$2,51\cdot10^2$	$8,08\cdot10^{2}$	$4,26\cdot10^{1}$
100	$2,64\cdot10^{2}$	$7,11\cdot10^{1}$	$1,65\cdot10^2$	$1,21\cdot10^2$	$2,44\cdot10^{2}$	$1,76\cdot10^2$	$1,33\cdot10^3$	$2,53\cdot10^2$	$7,26\cdot10^2$	$3,86\cdot10^{1}$

Таблица 4

#### Дозы облучения щитовидной железы за первые 7 дней после ЗА на Белорусской АЭС, мЗв

Table 4

Thyroid doses in the first 7 days after beyond design basis accident at the Belarusian NPP, mSv

Расстояние от	Сценар	эий 1	Сценај	оий 2	Сценај	оий 3	Сценар	рий 4	Сценар	рий 5
БелАЭС, км	Взрослые	Дети								
3	$1,48\cdot10^{1}$	$3,25\cdot10^{1}$	$4,20\cdot10^{1}$	$9,24\cdot10^{1}$	$4,26\cdot10^{1}$	9,38·101	6,38	$1,40\cdot10^{1}$	5,16	$1,14\cdot10^{1}$
5	7,34	1,62·101	$1,64\cdot10^{1}$	3,61·101	$2,65\cdot10^{1}$	5,84·10 <sup>1</sup>	3,43	7,54	2,64	5,81
10	1,10	2,43	4,81	$1,06\cdot10^{1}$	6,22	$1,37\cdot10^{1}$	5,58·10 <sup>-1</sup>	1,23	8,83·10-1	1,94
15	6,83·10 <sup>-1</sup>	1,50	1,76	3,87	1,96	4,31	3,78·10 <sup>-1</sup>	8,31·10 <sup>-1</sup>	3,88·10 <sup>-1</sup>	8,54·10 <sup>-1</sup>
20	4,13·10 <sup>-1</sup>	9,08·10-1	1,64	3,62	1,30	2,85	2,06·10-1	4,53·10 <sup>-1</sup>	2,53·10 <sup>-1</sup>	5,56·10-1
25	2,52·10-1	5,54·10-1	1,18	2,60	8,81·10-1	1,94	1,29·10 <sup>-1</sup>	2,85·10-1	1,29·10 <sup>-1</sup>	2,83·10-1
30	1,97·10 <sup>-1</sup>	4,33·10 <sup>-1</sup>	7,04·10 <sup>-1</sup>	1,55	7,37·10 <sup>-1</sup>	1,62	9,81·10 <sup>-2</sup>	2,16-10-1	9,88·10-2	2,17·10 <sup>-1</sup>
35	1,57·10 <sup>-1</sup>	3,46·10 <sup>-1</sup>	2,69·10-1	5,91·10-1	3,87·10 <sup>-1</sup>	8,52·10-1	6,76·10-2	1,49·10-1	8,87:10-2	1,95·10-1
40	1,26·10 <sup>-1</sup>	2,78·10-1	1,71·10-1	3,77·10-1	4,69·10 <sup>-1</sup>	1,03	5,57·10-2	1,23·10-1	8,14·10-2	1,79·10-1
45	1,35·10 <sup>-1</sup>	2,96·10-1	2,20·10-1	4,85·10-1	4,35·10-1	9,58·10-1	5,60·10-2	1,23·10-1	8,09·10-2	1,78·10-1
50	1,20·10 <sup>-1</sup>	2,65·10-1	2,11·10-1	4,64·10-1	4,12·10-1	9,07·10-1	4,23·10-2	9,30·10-2	7,36·10-2	1,62·10-1
55	1,05·10 <sup>-1</sup>	2,31·10-1	1,61·10-1	3,55·10-1	1,81·10-1	3,98·10 <sup>-1</sup>	3,72·10-2	8,18·10-2	7,44·10 <sup>-2</sup>	1,64·10-1
60	1,10·10 <sup>-1</sup>	2,42·10-1	1,62·10-1	3,56·10-1	3,15·10 <sup>-1</sup>	6,93·10-1	4,39·10-2	9,67·10-2	4,39·10-2	9,65·10-2
65	1,02·10 <sup>-1</sup>	2,25·10 <sup>-1</sup>	1,18·10-1	2,60·10-1	2,54·10 <sup>-1</sup>	5,60·10-1	3,57·10-2	7,85·10-2	6,94·10 <sup>-2</sup>	1,53·10-1
70	9,30·10-2	2,05·10-1	6,05·10-2	1,33·10-1	1,67·10-1	3,68·10-1	3,10·10-2	6,82·10-2	5,23·10-2	1,15·10-1
75	7,87·10-2	1,73·10-1	6,28·10-2	1,38·10-1	2,06·10 <sup>-1</sup>	4,52·10-1	2,83·10-2	6,22:10-2	6,59·10-2	1,45·10-1
80	7,84·10 <sup>-2</sup>	1,72·10-1	5,49·10 <sup>-2</sup>	1,21·10-1	2,06·10 <sup>-1</sup>	4,54·10-1	3,54·10 <sup>-2</sup>	7,78·10-2	5,82·10-2	1,28·10-1
85	7,23·10 <sup>-2</sup>	1,59·10 <sup>-1</sup>	6,34·10-2	1,40·10 <sup>-1</sup>	2,07:10-1	4,55·10-1	3,90·10-2	8,57:10-2	6,18·10-2	1,36·10-1
90	6,26·10-2	1,38·10-1	7,16·10-2	1,58·10-1	2,05·10-1	4,50·10-1	3,71·10-2	8,16·10-2	6,15·10-2	1,35·10-1
95	6,01·10 <sup>-2</sup>	1,32·10-1	6,94·10-2	1,53·10-1	1,98·10-1	4,37:10-1	3,27·10-2	7,19·10-2	5,56·10-2	1,22·10-1
100	5,98·10-2	1,32·10 <sup>-1</sup>	8,21·10-2	1,81·10-1	1,94·10 <sup>-1</sup>	4,27:10-1	3,09·10-2	6,80·10 <sup>-2</sup>	5,13·10-2	1,13·10-1

Максимальные прогнозируемые значения доз облучения щитовидной железы в радиусе 3 км составят до 93,8 мЗв у детей и до 42,6 мЗв у взрослых; в радиусе 15 км – до 4,31 мЗв у детей и до 1,96 у взрослых (сценарий 3). Максимальные прогнозируемые значения доз облучения щитовидной железы будут наблюдаться у детей, а на расстоянии более 5 км от БелАЭС могут превысить критерий аварийного реагирования для проведения йодной профилактики (50 мЗв за первые 7 дней) [4–6].

С целью определения необходимости проведения укрытия, эвакуации, дезактивации, ограничения потребления пищевых продуктов, молока и воды, контроля радиоактивного загрязнения оценена общая эффективная доза облучения за первые 7 дней.

Прогнозируемые значения общей эффективной дозы для взрослых при всех рассматриваемых метеосценариях ЗА при условиях нормальной жизнедеятельности (человек проводит часть времени в помещении, то есть учтен эффект экранирования) и при постоянном нахождении человека на открытом воздухе представлены на рис. 2.

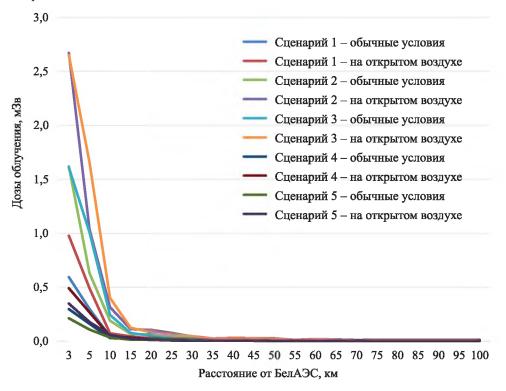


Рис. 2. Прогнозируемые общие эффективные дозы облучения населения за первые 7 дней после ЗА на Белорусской АЭС

Fig. 2. Estimated total effective doses to the public in the first 7 days after accident at the Belarusian NPP

Результаты анализа свидетельствуют, что максимальное значение общей эффективной дозы за первые 7 дней после 3A будет наблюдаться при сценарии 2, предположительно при постоянном пребывания на открытом воздухе и составят в 3ПМ (в радиусе 3 км от площадки) 2,67 м3в, а в 3ПСМ (в радиусе 15 км от площадки) – 0,11 м3в, что не превысит установленный критерий аварийного реагирования – 100 м3в и не потребует мер по укрытию и/или эвакуации населения из данных зон.

В радиусе 100 км от БелАЭС прогнозируемые значения общей эффективной дозы облучения населения в зависимости от метеоситуации и времени пребывания на открытом воздухе будут в диапазоне от 1.44 до 11.9 мкЗв.

Для летних сценариев 3A (1–3) рассчитаны дозы внутреннего облучения взрослого населения за счет потребления продуктов питания (листовые овощи, молоко, мясо, картофель), загрязненных основными дозообразующими радионуклидами –  $^{131}$ I и  $^{137}$ Cs на ранней стадии аварии (за первые сутки и 7 суток) в зонах аварийного планирования (в радиусе 3 км, 15 км и 100 км от БелАЭС) (табл. 5).

Суммарная доза облучения населения от потребления продуктов питания, загрязненных суммарно <sup>131</sup>I и <sup>137</sup>Cs, за 7 дней после ЗА в ЗПМ составит 0,19 мЗв, в ЗПСМ – 0,008 мЗв, а в РРП – 0,0006 мЗв. Данные уровни доз облучения не превысят установленного предела дозы для населения – 1 мЗв/год [6], исходя из которого рассчитаны нормативы содержания радионуклидов в продуктах питания (РДУ-99) и не превысят общих критериев реагирования для пищевых продуктов и других предметов потребления с целью снижения риска возникновения стохастических эффектов – 10 мЗв в течение первого года [5].

Таблица 5

Дозы внутреннего облучения населения за счет перорального поступления пищевых продуктов, загрязненных  $^{131}$ I и  $^{137}$ Cs, за 7 дней после 3A на БелАЭС, мЗв

Table 5

Doses of the internal exposure of the public due to consumption of foodstuffs contaminated with <sup>131</sup>I and <sup>137</sup>Cs, in the 7 days after beyond design basis accident at Belarusian NPP, mSv

Радионуклид	Листовые овощи	Свинина	Коровье молоко	Суммарно от всех продуктов				
3 км от БелАЭС								
<sup>131</sup> I	5,92·10 <sup>-2</sup>	1,71·10 <sup>-7</sup>	5,91·10 <sup>-2</sup>	1,18·10 <sup>-1</sup>				
<sup>137</sup> Cs	3,68·10 <sup>-2</sup>	1,83·10 <sup>-4</sup>	3,36·10 <sup>-2</sup>	7,06·10 <sup>-2</sup>				
Сумма	9,60·10 <sup>-2</sup>	1,83·10 <sup>-4</sup>	9,27·10 <sup>-2</sup>	1,89·10 <sup>-1</sup>				
	15 км от БелАЭС							
<sup>131</sup> I	2,03·10 <sup>-3</sup>	8,83·10 <sup>-9</sup>	1,40·10 <sup>-3</sup>	3,42·10 <sup>-3</sup>				
<sup>137</sup> Cs	2,45·10 <sup>-3</sup>	1,22 10-5	2,24·10 <sup>-3</sup>	4,70·10 <sup>-3</sup>				
Сумма	4,48·10 <sup>-3</sup>	1,22·10 <sup>-5</sup>	3,64·10 <sup>-3</sup>	8,13·10 <sup>-3</sup>				
	100 км от БелАЭС							
<sup>131</sup> I	5,00·10 <sup>-5</sup>	8,82·10 <sup>-10</sup>	4,47·10 <sup>-5</sup>	9,47·10 <sup>-5</sup>				
<sup>137</sup> Cs	2,70·10 <sup>-4</sup>	1,33·10 <sup>-6</sup>	2,46·10 <sup>-4</sup>	5,17·10 <sup>-4</sup>				
Сумма	3,20·10 <sup>-4</sup>	1,33·10 <sup>-6</sup>	2,91·10 <sup>-4</sup>	6,12·10 <sup>-4</sup>				

Максимальные значения общей эффективной дозы облучения с учетом потребления за первые 7 дней составят: в  $3\Pi M - 2,86$  мЗв, в  $3\Pi CM - 0,118$  мЗв, а в  $PP\Pi -$  до 15 мкЗв.

В случае ЗА на Белорусской АЭС общая эффективная доза облучения населения не превысит критерия реагирования (100 мЗв за первые 7 дней) ни в одном из рассматриваемых сценариев.

Для определения необходимости проведения долгосрочного медицинского наблюдения за облученным населением, а также мероприятий с целью выявления и эффективного лечения радиационно-индуцируемых заболеваний, оценены общие эффективные дозы облучения населения за первые 30 дней после 3A на Белорусской АЭС как при нормальных условиях жизнедеятельности, так и при повышенном времени нахождения на открытом воздухе.

Результаты оценки свидетельствуют, что за пределами площадки АЭС в ближней зоне (от 3 км) при обычных условиях жизнедеятельности минимальное значение общей эффективной дозы составило 0,23 мЗв (сценарий 5), максимальное -1,73 мЗв (сценарий 2). При нахождении человека на открытом воздухе 80 % времени результаты составили от  $3,79\cdot10^{-1}$  мЗв (сценарий 5) до 2,84 мЗв (сценарий 2).

Значения общей эффективной дозы в дальней зоне (50–100 км) при обычных условиях жизнедеятельности варьировались от  $1,75\cdot10^{-3}$  мЗв (сценарий 5) до  $1,66\cdot10^{-2}$  мЗв (сценарий 3). При повышенном времени нахождения человека на открытом воздухе – от  $2,88\cdot10^{-3}$  мЗв (сценарий 5) до  $2,72\cdot10^{-2}$  мЗв (сценарий 3).

Максимальные прогнозируемые значения общей эффективной дозы облучения населения за первый месяц после 3A на 5E на 5E за пределами площадки составят: в  $3\Pi M - 2,84$  м3B, в  $3\Pi CM - 0,13$  м3B, что не потребует защитных мероприятий в виде последующего медицинского наблюдения и консультирования [3].

Дозы облучения населения от потребления загрязненных <sup>131</sup>I и <sup>137</sup>Cs продуктов питания за 1 год после 3A на Белорусской АЭС не превысят критерия аварийного реагирования для временного переселения, дезактивации, завоза чистых пищевых продуктов и информирования населения (100 м3в в год) [4–6].

#### Заключение

По результатам проведенной прогнозной оценки радиологических последствий радиационных аварий на АЭС установлено, что при реперной запроектной аварии на Белорусской АЭС с общим выбросом радионуклидов в атмосферу за 1 сутки равным  $4.5\cdot10^{15}$  Бк продолжительность переноса радиоактивного загрязнения на расстояние до 100 км от Белорусской АЭС при различных сценариях метеоусловий составит менее 2 ч.

Согласно расчетным данным, территория в радиусе 3 км вокруг БелАЭС при ЗА (сценарии 1–5) будет загрязнена изотопом  $^{131}$ I с плотностью загрязнения от 120 до 462 кБк/м $^2$ . Суммарная плотность выпадений  $^{131}$ I и  $^{137}$ Cs в радиусе 15 км, 30 км, 100 км составит менее 37 кБк/м $^2$  (1 Ки/км $^2$ ). Следовательно, таких дополнительных защитных мер, как дезактивационные работы на этой территории, проводить не потребуется, однако обязательно необходимо проведение радиационного аварийного мониторинга.

Прогнозируемые уровни доз облучения населения указывают на то, что могут потребоваться следующие меры по защите населения:

- проведение йодной профилактики у взрослых на расстоянии до 3 км от БелАЭС, а у детей более 5 км от БелАЭС;
- введение запрета на потребление местных продуктов питания и воды из открытых источников потребуется в радиусе 100 км от БелАЭС [7];
- таких дополнительных мероприятий, как дезактивационные работы на территории вокруг Белорусской АЭС, проводить не потребуется;
- обязательно проведение радиационного мониторинга, а также мониторинга продуктов питания и питьевой воды в радиусе 100 км от БелАЭС;
  - информирование населения.

Полученные результаты могут быть использованы органами госсаннадзора и СКЦ Министерства здравоохранения для выполнения возложенных на них задач по аварийному реагированию на радиационные аварии на АЭС, включая проведение аварийного радиационного мониторинга местных продуктов питания и питьевой воды, выполнение прогноза доз облучения населения и введение запрета на потребление местных продуктов питания и воды из открытых источников водоснабжения, разработку инструкций, аварийных планов и процедур по обеспечению аварийной готовности и реагирования.

Результаты данного исследования использованы при разработке Программы аварийного радиационного мониторинга и метода планирования и проведения аварийного радиационного мониторинга продуктов питания, питьевой воды и мест проживания населения при авариях на Белорусской, Ровенской и Смоленской АЭС.

#### Библиографические ссылки

- 1. Белорусская АЭС. Блок 1. Предварительный отчет по обоснованию безопасности. Глава 15. Анализ аварий. Книга 1–7. Нижний Новгород: РОСАТОМ, НИАЭП; 2015. 2404 с.
  - 2. INTERRAS 1.2. Вена: МАГАТЭ; 2000. 105 с.
- 3. Ievdin I, et al. JRodos User Guide [Internet, cited 2020 June 3]. Available from: https://resy5.iket.kit.edu/JRODOS/documents/ JRodos\_UserGuide.pdf.
- 4. Критерии оценки радиационного воздействия: гигиенический норматив: утв. постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь 28 дек. 2012 г. № 213. *Радиационная гигиена*. Минск : РЦГЭиОЗ; 2013. с. 35–167.
  - 5. Preparedness and Response for a Nuclear and Radiological Emergency. General Safety Requirements. Part 7. Vienna: IAEA; 2015. 102 p.
- Criteria for Use in Preparedness and Response for a Nuclear or Radiological Emergency. General Safety Guide № GSG-2. Vienna: IAEA; 2015. 102 p.

#### References

- 1. Belorusskaya AES. Blok 1. Predvaritelnyy otchet po obespecheniu bezopasnosti. Chast 15. Analis avariy. Kniga 1–7 [Belarusian nuclear power plant. Block 1: Preliminary Safety Analysis Report. Chapter 15. Analysis of accidents. Book 1–7]. Nizhny Novgorod: ROSATOM, NÊAEP; 2015. 2404 p. Russian.
  - 2. INTERRAS 1.2. Vienna: IAEA; 2000. 105 p.
- 3. Ievdin I, et al. JRodos User Guide [Internet, cited 2020 June 3]. Available from: https://resy5.iket.kit.edu/JRODOS/documents/ JRodos UserGuide.pdf.
- 4. Radiation exposure assessment criteria: hygiene. standard: approved Resolution of the Ministry of Health of the Republic of Belarus on December 28, 2012 № 213. Radiation hygiene. Minsk: RCHEPH; 2013. p. 35–167. Russian.
  - 5. Preparedness and Response for a Nuclear and Radiological Emergency. General Safety Requirements. Part 7. Vienna: IAEA; 2015. 102 p.
- 6. Criteria for Use in Preparedness and Response for a Nuclear or Radiological Emergency. General Safety Guide № GSG-2. Vienna: IAEA; 2015. 102 p.

Статья поступила в редколлегию 13.07.2021. Received by editorial board 13.07.2021.

## Медицинская экология

## Medical ecology

УДК 51-76

## ЭВОЛЮЦИЯ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ: ОТ ЗАРОЖДЕНИЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ ДО СОВРЕМЕННЫХ ПОДХОДОВ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТОВ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

А. Н. БАТЯН<sup>()</sup>, П. Д. ДЕМЕШКО<sup>2)</sup>, Е. В. ГОНЧАРОВА<sup>1),3)</sup>, И. В. ПУХТЕЕВА<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь
<sup>2)</sup>Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, аг. Лесной, 223040, Минский район, Беларусь
<sup>3)</sup>Брестский областной онкологический диспансер, ул. Медицинская, 6, 224027, г. Брест, Беларусь

#### Образец цитирования:

Батян АН, Деменіко ПД, Гончарова ЕВ, Пухтеева ИВ. Эволюция радиобиологических моделей: от зарождения представлений до современных подходов оценки эффектов лучевой терапии. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:49–56.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-49-56

#### For citation:

Batyan AN, Demeshko PD, Hancharova EV, Pukhteeva IV. Evolution of radiobiological models: from concept generation to current knowledge about the effects of radiotherapy. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:49–56. Russian.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-49-56

#### Авторы:

**Анатюлий Николаевич Батиян** – доктор медицинских наук, профессор; заведующий кафедрой экологической медицины и радиобиологии.

**Павел Дмитриевич Демешко** – доктор медишинских наук, доцент; главный научный сотрудник лаборатории лучевой терапии.

Екатерина Викторовна Гончарова – инженер (физик) группы обслуживания и ремонта аппаратов лучевой терация

**Ирина Викторовна Пухтеева** – старпий преподаватель кафедры экологической медицины и радиобиологии.

#### Authors

Anatoly N. Batyan, doctor of science (medicine), full professor, head of the department of environmental medicine and radiobiology. bat@iseu.by

Pavel D. Demeshko, doctor of sciences (medicine), docent; chief researcher of the laboratory of radiation therapy. pdemeshko@me.com

*Katsiaryna V. Hancharova*, engineer (physicist) of the group of maintenance and repair of radiation therapy devices.

katsiaryna.hancharova@gmail.com

*Irina V. Puhteeva*, senior lecturer at the department of environmental medicine and radiobiology. *puhteeva@mail.ru* 

Благодаря развитию радиобиологических моделей стало возможным математическое описание биологических явлений, происходящих в организме под действием ионизирующего излучения. История эволюции радиобиологических моделей началась сразу же после открытия рентгеновских лучей и стремительно продолжается в настоящее время, преодолевая большое количество ограничений. Их прикладное применение является неотъемлемой частью клинической практики при лечении онкологических заболеваний.

Ключевые слова: радиобиологические модели; лучевая терапия; NSD; KRE; TDF; LQ-model.

## EVOLUTION OF RADIOBIOLOGICAL MODELS: FROM CONCEPT GENERATION TO CURRENT KNOWLEDGE ABOUT THE EFFECTS OF RADIOTHERAPY

A. N. BATYAN<sup>a</sup>, P. D. DEMESHKO<sup>b</sup>, E. V. HANCHAROVA<sup>a,c</sup>, I. V. PUKHTEEVA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University, 23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

<sup>b</sup>N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, agro-town Liasny 223040, Minsk district, Belarus

<sup>c</sup>Brest Regional Oncological Dispensary, 6 Medyczinskaja Street, Brest 224027, Belarus Corresponding author: A. N. Batyan (bat@iseu.by)

The development of radiobiological models made it possible to mathematically describe biological phenomena in the body under the influence of radiation. The history of the development of radiobiological models began immediately after the discovery of X-rays and continues now, overcoming more and more restrictions. The practical application of radiobiological models is an integral part of clinical practice in cancer treatment.

*Keywords:* radiobiological models; radiotherapy; NSD; KRE; TDF; LQ-model.

#### Введение

Радиобиология является сравнительно молодой наукой. Возникла она в XIX в. и, пройдя определенный путь развития, выстроилась в стройную систему представлений действия ионизирующих излучений на живые организмы. Для предсказания эффекта при облучении ионизирующим излучением нормальных тканей организма и опухолевых клеток применяют радиобиологические модели, которые служат для математического описания биологических явлений. Они позволяют предсказывать событие, которое вызывает ионизирующее излучение в определенной клетке. Но в радиобиологии ни одна теория не может приниматься без клинической практики, поскольку только она является основным критерием истинности. Не существует такой универсальной радиобиологической модели, которая идеально описывала бы все процессы, происходящие в организме под действием ионизирующего излучения. Все они имеют границы применимости, за рамками которых их использование может привести к непредсказуемым результатам. В истории лучевой терапии (ЛТ) существует множество примеров неправильного использования радиобиологических моделей, что является одним из вариантов радиационной аварии [1].

Практическое применение радиобиологических моделей позволяет рассчитывать дозы излучения и число фракций, сравнивать биологический эффект облучения при разных режимах фракционирования дозы, представлять физические величины (поглощенная доза, интенсивность излучения) в виде клинических показателей. ЛТ характеризуется физическими и математическими величинами, которые выражаются конкретными численными значениями (разовая очаговая доза (РОД), суммарная очаговая доза (СОД), число сеансов ЛТ, временной интервал между сеансами ЛТ и др.). Но при создании и оптимизации планов лучевого лечения врачи и физики пользуются клиническими показателями (биологически эффективная доза (biologically effective dose, BED), эффективность режимов фракционирования (linear-quadratic equivalent dose for 2 Gy fractions, LQED2), вероятность контроля над опухолью (tumor control probability, TCP), вероятность осложнений в нормальных тканях (normal tissue complication probability, NTCP) и др.) [2; 3].

Для достижения основной цели лучевой терапии (эрадикации опухоли, облегчения состояния пациента) к объему облучения необходимо подвести дозу излучения, достаточную для уничтожения опухоли [4–6]. Это происходит ценой приемлемой токсичности нормальных тканей, связанной с лучевыми осложнениями. Таким образом, лечение проводится по минимальной дозе, достаточной для того, чтобы уничтожить все опухолевые клетки, сохранив при этом жизнеспособность и физиологическую функцию

нормальных тканей. Однако чрезмерные усилия, направленные на полное исключение риска, могут привести к неудаче в облучении и гибели от рака [7].

#### Материалы и методы исследования

Эволюция радиобиологических моделей. Сразу же после открытия Рентгеном X-лучей в 1985 г. начались интенсивные исследования действия ионизирующего излучения на живые организмы. Вскоре было сделано предположение о том, что рентгеновские лучи могут подавлять развитие опухолевых клеток. И первый сеанс лучевого лечения безнадежно больной раком женщины был проведен уже 29 декабря 1896 г. Это положило начало интенсивным исследованиям в области рентгенотерапии раковых заболеваний [5; 6; 8].

Первоначально поверхностные раковые образования облучали одной или несколькими фракциями, однако через несколько лет фракционированное лечение было признано более эффективным с точки зрения противоопухолевого эффекта и токсичности для нормальных тканей. Первые лучевые терапевты проводили лечение в разных режимах и разных дозах, которые приводили к разным лечебным и побочным эффектам. Итак, в качестве золотой середины был установлен режим фракционирования РОД 1,8–2 Гр ежедневными фракциями до СОД 50–66 Гр за 5 и более недель.

Отправной точкой в исследовании зависимости радиобиологического эффекта от дозы излучения, накопленной за время, являются работы Strandquist и Cohlen (1940-е гг.), которые контролировали новообразования кожи с помощью ЛТ и регистрировали частоту образования некроза кожи. Strandquist строил графики зависимости полной дозы от общего времени облучения [9]. В одних и тех же координатах фиксировались данные об излечении от рака, возникновении кожной эритемы и некроза кожи, но эти эффекты различны по своей природе. Излечение от рака – воздействие на ядерную ДНК. Кожная эритема – это лучевое повреждение эндотелия и высвобождение каскада цитокинов в облучаемом объеме, а некроз (толерантность) кожи в свою очередь обусловлен широким комплексом изменений в системе клеточного обновления эпидермиса, интерфазной гибелью клеток, многих образований дермы [10]. Несмотря на указанный недостаток, это была первая клиническая демонстрация процессов ответа опухолей и нормальных тканей на лучевое воздействие: полная доза увеличивалась с увеличением числа фракций.

Таким образом, основными достоинствами модели Strandquist можно считать отражение простой зависимости радиобиологического эффекта от дозы, накопленной за соответствующее время. Кроме того, использование такого методического подхода играет важную роль в процессе оптимизации ЛТ и является отправной точкой в этих исследованиях. Очевидные недостатки заключаются в том, что вид линий на графиках сильно меняется, если перейти от логарифмического масштаба к линейному, а радиобиологические эффекты излечения рака, эритемы кожи и некроза отличаются друг от друга по патогенезу.

В 1969 г. Ellis обобщил данные, полученные Strandquist и Cohen. Он выдвинул гипотезу, что дозу излучения, необходимую для получения фиксированного уровня эффекта, можно представить в виде степенной формулы. Согласно этой формуле, биологический эффект обусловлен величиной суммарной очаговой дозы, продолжительностью курса лечения и числом фракций [9; 11]:

$$\mathbf{D} = \mathbf{NSD} \cdot \mathbf{N}^{0,24} \cdot \mathbf{T}^{0,11}.$$

где D – суммарная доза за весь курс лечения, сГр; NSD – номинальная стандартная доза (связующее звено между дозой, общим временем облучения и количеством фракций); N – число фракций; T – длительность курса JT; 0,11 и 0,24 – факторы восстановления, рассчитанные экспериментально (по углу наклона кривых Strandquist), которые характеризуют скорость репарации клеток.

Предел толерантности NSD =  $1800 \pm 200$  достигается при стандартном курсе ЛТ, при этом вероятность риска лучевых повреждений здоровых тканей не превышает 5 % при площади облучения  $100 \text{ cm}^2$ . Считается, что при этом уровне повреждения фракция выживших клеток при разных режимах облучения одинакова.

Дальше последовали попытки модифицировать формулу NSD, чтобы преодолеть некоторые ее ограничения. Так, в 1972 г. Жокливером была предложена следующая модификация:

$$D = NSD \cdot N^{x} \cdot T^{0,11}, \tag{1}$$

где x – фактор восстановления, характеризующий соотношение дозы и времени (варьирует в зависимости от числа фракций от 0,32 до 0,22).

Из формулы (1) рассчитывали NSD, и если значение в результате получалось меньше табличных, то облучение можно было проводить без опасений возникновения осложнений со стороны нормальных тканей. Этот вариант модификации позволил еще больше углубиться в биологию, но недостатков было очень много, что толкало исследователей к дальнейшим открытиям.

На основе NSD были разработаны системы KRE (кумулятивный радиационный эффект) и TDF (время – доза – фракционирование). Отражение накопления радиационного эффекта независимо от уровня толерантности предложил Krik в 1973 г. в системе KRE [11].

$$KRE = \Phi \cdot \mathbf{q} \cdot \mathbf{d} \cdot (T/N)^{-0.11} \cdot N^{0.65},$$

где  $\Phi$  – поправка на облучаемый объем; q – относительная биологическая эффективность излучения.

Формулу NSD и ее модификации стали использовать как метод корректировки полной дозы при изменении фракционирования. Однако, по данным Orton, 50 % врачей допускали при этом ошибки, поскольку не учитывали множество ограничений [1; 9]. К ним относятся следующие:

- 1) число фракций от 4 до 30;
- 2) курс лечения должен быть непрерывным;
- 3) не учитывается облучаемый объем;
- 4) не предназначена для неклассических режимов фракционирования, поскольку рассчитана для плоскоклеточного рака кожи;
  - 5) толерантность всех органов и тканей принималась равной толерантности соединительной ткани.
  - 6) мощность дозы >20 сГр/мин;
  - 7) величины NSD и KRE нельзя складывать при проведении повторных курсов.

Все эти ограничения не позволяли в полной мере использовать эти системы в клинике.

Модификация NSD в TDF [10, 12] была разработана Ellis и Orton в 1973 г., в эпоху двумерного планирования, когда лучевое лечение проводилось двумя противолежащими полями. TDF-модель представляла собой количественную оценку эффекта облучения по критерию предельной толерантности нормальной соединительной ткани и кожи и предназначалась для работы при режимах фракционирования альтернативных классическому, расщепленном курсе ЛТ, а также при брахитерапии. Суть модели была в том, что если полная толерантность тканей не исчерпана, то можно пользоваться понятием частичной толерантности [9].

Формула имела следующий вид:

$$TDF = N \cdot d^{1,538} \cdot (T/N)^{-0,169} \cdot 10^{-3}$$

где TDF – уровень толерантности нормальной соединительной ткани; d – физическая разовая доза излучения; T/N – время в днях, приходящееся в среднем на 1 фракцию; степень 1,538 позволяет конвертировать физическую разовую дозу d в биологическую и является поправкой на внутриклеточное восстановление молекул между фракциями; степень –0,169 означает поправку на восстановление клеточной популяции в течение всего курса облучения.

Смысл поправок заключался в том, чтобы можно было сравнивать различные режимы фракционирования при вероятности возникновения осложнений.

Стандартным количеством фракций в то время считалось N=30 с дозой излучения d=200 сГр за сеанс, длительность курса ЛТ таким образом составляла T=39 дней. Значит на одну фракцию приходилось T/N=1,3 дня. Подставляя эти данные в формулу (4) можно найти уровень толерантности нормальной соединительной ткани:

TDF = 
$$30 \cdot 200^{1.538} \cdot 1.3^{-0.169} \cdot 10^{-3} = 99.277 \approx 100$$
.

Все возможные варианты расчетов и корректировок для использования в клинической практике были сведены в удобные таблицы.

Таким образом, необходимо выделить следующие положительные моменты в использовании модели. Можно сравнивать между собой различные режимы фракционирования, что позволяет определять изоэффективные дозы для различных схем фракционирования. В данной модели учитываются перерывы в облучении (если они случились после 4 фракции) и можно делать корректировку на величину облучаемого объема по критерию риска возможных осложнений.

Однако и эта модель имеет определенные границы применимости:

- 1. Длительность курса 3 < T < 100 дней.
- 2. Число фракций N>5.
- 3. Интервал между фракциями > 16 ч.
- 4. Поле облучения 8 × 10 см.
- Мощность дозы > 0,2 Гр/мин.

NSD-, KRE-, и TDF-модели, полезные для профилактики лучевых осложнений, но не эффективны для уничтожения злокачественных образований, так же их нельзя применять для расчета биологического воздействия на паренхиматозные ткани (легкие, нервная ткань, кишечник, печень, почки и. др.) [11].

В 1981 г. Chadwick и Leenhouts с помощью линейно-квадратичного уравнения представили модель описания зависимости биологического эффекта как от дозы, так и от режима фракционирования. Так появилась линейно-квадратичная радиобиологическая модель LQ. В основе уравнения лежал механизм прямого действия ионизирующего излучения на молекулу ДНК. Повреждение клеток, обусловленное двунитевыми поражениями ДНК одной ионизирующей частицей (одноударные поражения), характеризуется распределением Пуассона и линейно зависит от дозы излучения. Летальные повреждения клеток от двух

ионизирующих частиц также линейно зависят от дозы излучения и описываются вероятностью поражения каждой из них, а значит, что для обеих частиц одновременно количество поражений нарастает с квадратом дозы. Таким образом, выжившая фракция клеток может быть описана формулой, которая имеет линейную и квадратичную составляющую.

В соответствии с LQ-моделью базовое уравнение, определяющее фракцию клеток S, выживших после облучения, имеет вид:

$$S(d) = \exp\left(-\sum_{i=1}^{N} (\alpha d_i + \beta d_i^2)\right),$$

где  $d_i$  – доза в i-ом сеансе, а  $\alpha$  и  $\beta$  – параметры модели;  $\alpha$  характеризует начальный наклон кривой выживаемости и соответствует одномишенной и одноударной гибели клеток (вероятность того, что поражение случится на единицу дозы излучения), а  $\beta$  определяет сублетальное повреждение клеток (вероятность поражения двумя ионизирующими частицами одновременно).

В 1987 г. Thames и Hendry [13] для практического использования предложили рассматривать эффект Е от облучения для выжившей фракции клеток S:

$$E = -\ln(S) = \sum_{i=1}^{N} (\alpha d_i + \beta d_i^2).$$

Если d – разовая доза (доза за сеанс), N – число сеансов облучения, тогда суммарная поглощенная доза ионизирующего излучения равна D = Nd и уравнение (3) принимает вид:

$$E = N \cdot (\alpha d + \beta d^2) = \alpha D + \beta dD = D \cdot (\alpha + \beta d).$$

Barendsen ввел понятие относительной эффективности дозы за фракцию (relative effectiveness per unit dose, RE) и экстраполяционной дозы ответа (extrapolated response dose, ERD), которую позднее Fowler переименовал в биологически эффективную дозу (biologically effective dose, BED). Относительная эффективность дозы за фракцию зависит от отношения  $\alpha/\beta$  и вычисляется по формуле

$$RE = 1 + \frac{d}{\alpha/\beta}.$$

Величины BED и RE связаны с суммарной дозой соотношением

$$BED = D \cdot RE$$
.

BED – это полная доза излучения, действие которой в режиме облучения бесконечно малыми фракциями, эквивалентна фактическому режиму фракционирования с величиной фракции d и полной дозой D. Величина BED указывает, насколько большое повреждение создает конкретный режим фракционирования.

При использовании стандартного режима фракционирования с полной дозой  $D_{ref}$  и дозой за фракцию  $d_{ref}$ , в случае изоэффектов Е является константой, аналогично как величины параметров  $\alpha$  и  $\beta$  для данного типа ткани и данного конечного результата. В этом случае [14–17]:

$$D\left(1+\frac{d}{\alpha/\beta}\right) = D_{ref}\left(1+\frac{d_{ref}}{\alpha/\beta}\right),$$

где D – новое значение полной дозы. Результирующее изоэффективное соотношение имеет вид:

$$\frac{D}{d_{\rm ref}} = \frac{d_{\rm ref} + \alpha/\beta}{d + \alpha/\beta}.$$

Если в качестве  $d_{ref}$  взять стандартную дозу за фракцию, равную 2 Гр, то можно сравнить эффективности режимов фракционирования, имеющих различные величины дозы за фракцию. Нестандартный режим будет конвертироваться в эквивалентный по 2 Гр за фракцию, дающий такой же биологический эффект. Результирующая формула имеет вид:

$$EQD_2 = D \cdot \frac{d + \alpha/\beta}{2 + \alpha/\beta}$$

где  $EQD_2$  — суммарная толерантная доза для стандартной схемы фракционирования дозы, которая биологически эквивалентна полной дозе D, передаваемой в режиме с фракционной дозой, равной  $d_{ref}$ . Значения  $EQD_2$  могут численно суммироваться для отдельных частей режима облучения, осуществляющихся с разными разовыми очаговыми дозами.

С уменьшением временных интервалов между фракциями репарация радиационных повреждений может оказаться неполной, что усиливает тяжесть повреждений.

Эквивалентная доза при лечении m раз в день вычисляется по формуле [15]:

$$\begin{split} \text{EQD}_{2,H_m} &= D \cdot \frac{d \cdot (1 + H_m) + \alpha/\beta}{2 + \alpha/\beta}, \\ H_m &= \left(\frac{2}{m}\right) \cdot \left(\frac{\varphi}{1 - \varphi}\right) \cdot \left(m - \frac{1 - \varphi^2}{1 - \varphi}\right), \\ \varphi &= \exp(-\mu \cdot \Delta T), \\ \mu &= \frac{\ln 2}{T_{1/2}}, \end{split}$$

где  $H_m$  – фактор неполной репарации (зависит от количества фракций в день и продолжительности интервалов между фракциями);  $\Delta T$  – интервал между фракциями;  $T_{1/2}$  – период полувосстановления тканей.

При небольшом изменении общего времени лечения оценку изменения доставленной дозы излучения к опухоли можно произвести, воспользовавшись формулой [2; 14]:

$$EQD_{2,T} = EQD_{2,t} - (T - t) \cdot D_{prolif}, \tag{4}$$

где  $EQD_{2,T}$ — доза, доставленная с учетом перерыва;  $EQD_{2,t}$ — запланированная доза; T— дни лечения с выходными и перерывами, t— дни лечения с выходными без перерывов,  $D_{prolif}$ — коэффициент пролиферации для данного вида опухоли.

Максимальная разница между Т и t, при которой выполняется уравнение (4), не имеет строгого значения. Применение этого уравнения допустимо, если перерыв в лечении составляет 1–2 недели, но если он превышает 3 недели, то такая оценка снижения эффективности дозы излучения может оказаться некорректной [14]. Перерывы в лучевом лечении могут существенно влиять на ход и ожидаемые результаты облучения, поэтому по возможности их нужно избегать [18–22].

LQ-модель удовлетворительно описывает клеточный ответ на облучение при дозах от 1 Гр и до 6 Гр. Что касается облучения в дозах излучения более 10 Гр, то при таком подходе радиобиология клеток существенно меняется [23]. Зависимость выживания клеток от фракции становится более линейной, происходит увеличение непосредственного влияния на ДНК клетки, большее значение приобретают эффекты радиоиндуцированной гипоксии и иммунного ответа. За счет разрушения сосудов опухоли повреждается опухолевое микроокружение. Это вызывает апоптоз клеток эндотелия, происходит подавление функций облученных клеток, что в конечном итоге приводит к их деградации, снижению способности клеток к пролиферации и миграции.

Таким образом с появлением стереотаксической ЛТ к стандартным 5R лучевой терапии добавилось еще 2: ремоделирование опухолевого микроокружения и реджекция – отторжение иммунной системой (высокие дозы излучения стимулируют выработку CD8+T-лимфоцитов, которые участвуют в иммунном ответе). Для учета влияния этих параметров в формулу (3) включается кубический компонент, в результате чего она приобретает вид:

$$E = -\ln(S) = \sum_{i=1}^{N} (\alpha d_i + \beta d_i^2 - \gamma d_i^3).$$

На сегодняшний день LQ-модель является наиболее часто используемой в клинической практике моделью [24]. Следует помнить о том, что и она имеет ограничения, являясь упрощенной моделью поражения клеток и пользоваться ей нужно с осторожностью в связке с оценкой возможного риска осложнений от дозы и облучаемого объема, основанных на выводах QUANTEC, в условиях современной медицинской визуализации, оптимизации дозиметрического планирования облучения, новых подходов к проведению сеансов ЛТ. Сейчас можно встретить модификации LQ-модели [25–27], позволяющие рассчитывать толерантные дозы, а также вероятности возникновения таких лучевых осложнений в тканях, как функции от объема облучения, разовой и суммарной дозы.

#### Заключение

Развитие лучевой терапии, связанное с совершенствованием аппаратуры, применением новых видов излучений и способов облучения, а также определяемое достижениями радиобиологии позволило вылечить огромное количество онкологических заболеваний на планете.

Описание многокомпонентной и разнонаправленной реакции организма на действие ионизирующего излучения в форме простых математических выражений, направленное на лечение злокачественных новообразований в приемлемых границах осложнений, является сложной задачей. Каждая модификация радиобиологических моделей позволяет сильнее углубиться в биологию, расширяя границы применимости и преодолевая большое количество недостатков. Лечение опухолевых заболеваний в настоящее время различно для взрослых и детей, но нет отличия в лечении мужчин и женщин, большое значение уделяется генетике, но в стороне остаются вопросы эпигенетики. Будущее за персонализированной медициной.

Таким образом, возникновение новых параметров, которые должны быть учтены при моделировании исходов лучевого лечения, приводит к увеличению объемов расчетов и дополнительным затратам времени на них. В настоящее время возникает необходимость создания программ со сложной логикой и алгоритмами для оптимизации оценки дозы излучения в опухоли и окружающих нормальных тканях.

#### Библиографические ссылки

- 1. Orton C. Errors in applying the NSD concept. Radiology. 1975;115(1):233–235.
- 2. Ефимкина ЮВ, Гладилина ИА, Нечушкин МИ, Козлов ОВ. Гипофракционированные режимы лучевой терапии после органосохраняющих операций по поводу рака молочной железы I–Па стадий. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2011;(3):45–53. https://doi.org/10.17650/1994-4098-2011-0-3-45-53
- 3. Лукьяновский РВ, Домашникова ТА, Гончарова ЕВ. Сравнительный анализ лучевых нагрузок на сердце при разных методах 3D планирования. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2020;18(4):424–428.
- 4. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований. Клинический протокол. Минск: Профессиональные издания; 2019. 616 с.
  - 5. Бученков ИЭ, Батян АН, Зиматкина ТИ и др. Радиобиология: вчера, сегодня, завтра. Минск: ИВЦ Минфина; 2018. 203 с.
- 6. Маскевич СА, Батян АН, Зиматкина ТИ и др. *Радиобиология: медико-экологические проблемы. Монография.* Минск: ИВЦ Минфина; 2019. 256 с.
- 7. Koga SA. A brief introduction of ICRP publication 44: Protection of the patient in radiation therapy. *Japanese Journal of Health Physics*. 1985;20(4):417–422.
- 8. Gianfaldoni S, Gianfaldoni R, Wollina U, Lotti J, Tchernev G, Lotti T. An overview on radiotherapy: from its history to its current applications in dermatology. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2017;5:521–525.
  - 9. Столбовой АВ, Залялов ИФ. Радиобиологические модели и клиническая радиационная онкология. Онкология. 2016;6:88–96.
- 10. Жокливер КИ, Зевриева ИФ, Досаханов АХ. Количественная оценка биологических эффектов радиации в нормальных тканях при лучевой терапии злокачественных новообразований. Алма-Ата: [б. н.]; 1983.
- 11. Киселева ЕС, Голдобенко ГВ, Канаев СВ и др. Лучевая терапия злокачественных опухолей. Руководство для врачей. Москва: Медицина; 1996. 464 с.
- 12. Фадеева МА, Костромина КН, Даценко ВС. Факторы время доза фракционирование и их использование в лучевой терапии злокачественных опухолей. Москва: M3 СССР; 1990.
  - 13. Thames D, Hendry H. Fractionation in radiotherapy. London, New York: [publisher unknown]; 1987. p. 232–233, 246–251.
- 14. Климанов ВА. Радиобиологическое и дозиметрическое планирование лучевой и радионуклидной терапии. Часть 1. Радиобиологические основы лучевой терапии. Радиобиологическое и дозиметрическое планирование дистанционной лучевой терапии пучками тормозного и гамма-излучения. Москва: НИЯУ МИФИ; 2011. 500 с.
- 15. Michael C. Joiner, Albert J. van der Kogel. Basic Clinical Radiobiology. In: Description. Fifth edition. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis Group; 2018. p. 350.
- 16. Roger G. Dale, Judith A. Sinclair. Radiobiological calculations in routine radiotherapy. In: Radiobiological modeling in radiation oncology. London: The British Institute of Radiology; 2007. p. 158–168.
- 17. Walsh S. Radiobiological modelling in Radiation Oncology. In: Medical Physics Research Cluster, School of Physics, College of Science, National University. Ireland: Galway; 2011. p. 169.
- 18. Гончарова ЕВ, Зорин ВП. Линейно-квадратичный подход для оценки дозы при изменении общего времени облучения. Часть 3. В: *Сахаровские чтения 2019 года: экологические проблемы XXI века, 19-я международная научная конференция, Минск, 23—24 мая 2019 г.* Минск: ИВЦ Минфина; 2019. с. 179—182.
- 19. Hancharova KV, Haida AV, Zorin VP. The dose estimation when the scheme of fractionation of the radiotherapy course changes. In: Actual environmental problems. Proceedings of the IX International Scientific Conference of young scientists, graduates, master and PhD students, 2019 November 21–22. Minsk: IVTs Minfina; 2019. p. 68–69.
- 20. Гончарова ЕВ, Зорин ВП. Влияние незапланированных перерывов между сеансами лучевой терапии на точность реализации схемы лечения. Часть 2. В: Сахаровские чтения 2020 года: экологические проблемы XXI века, 20-я международная научная конференция, Минск, 21—22 мая 2020 г. Минск: ИВЦ Минфина; 2020. с. 43—46.
- 21. Гончарова ЕВ, Петкевич МН. Изменения в схеме курса дистанционной лучевой терапии под влиянием перерывов в лучевом лечении. In: Sustainable Development: Environmental Protection. Energy Saving. Sustainable Environmental Management. 6th International Congress, 2020 September 23–25, Lviv: Polytechnic National University; 2020. p. 76
- 22. Гончарова ЕВ, Петкевич МН. *Исследование влияния перерывов в курсе лучевой терапии на отдаленные результаты лечения*. In: Sustainable Development: Environmental Protection. Energy Saving. Sustainable Environmental Management. 6th International Congress, 2021 February 9–10. Lviv: Polytechnic National University; 2021. p.42.
  - 23. Ярмоненко СП, Вайнсон АА. Радиобиология человека и животных. Москва: Высшая школа; 2004. 549 с.
- 24. Молчанова ЕВ. Применение LQ-модели и ее модификаций для планирования лучевой терапии опухолевых заболеваний. Альманах клинической медицины. 2008;1:354–357.
- 25. Клеппер ЛЯ, Молчанова ЕВ, Сотников ВМ. Расчет вероятности возникновения лучевого осложнения в ткани с помощью модифицированной LQED2 модели как функции от условий облучения. *Медицинская физика*. 2006;1(29):14–23.
- 26. Клеппер ЛЯ, Молчанова ЕВ. Математическое моделирование вероятности возникновения лучевых осложнений при терапевтическом облучении печени. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2007;52(2):37–42.
- 27. Клеппер ЛЯ, Молчанова ЕВ, Сотников ВМ. Математическое моделирование вероятности возникновения лучевых осложнений в легких при их однородном и неоднородном облучении. *Медицинская физика*. 2007;3(35):25–37.

#### References

- 1. Orton C. Errors in applying the NSD concept. Radiology. 1975;115(1):233-235.
- 2. Efimkina YuV, Gladilina IA, Nechushkin MI, Kozlov OV. Hypofractionated radiotherapy regimens after organ-sparing surgery for stages I–IIa breast cancer. *Tumors of female reproductive system.* 2011;(3):45–53. DOI: https://doi.org/10.17650/1994-4098-2011-0-3-45-53. Russian.
- 3. Luk'yanovskii RV, Domashnikova TA, Goncharova EV. Comparative analysis of radiation loads on the heart with different methods of 3D planning. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2020;18(4):424–428. Russian.
- 4. Algoritmy diagnostiki i lecheniya zlokachestvennykh novoobrazovaniy: klinicheskiy protokol [Algorithms for diagnosis and treatment of malignant neoplasms. Clinical protocol]. Minsk: Professional publications; 2019. 616 p. Russian.
- 5. Buchenkov IE, Batyan AN, Zimatkina TI, et al. *Radiobiologiya: vchera, segodnya, zavtra* [Radiobiology: yesterday, today, tomorrow]. Minsk: IVTs Minfina; 2018. 203 p. Russian.
- 6. Maskevich SA, Batyan AN, Zimatkina TI, et al. *Radiobiologiya: mediko-ekologicheskiye problemy. Monografiya* [Radiobiology: medico-ecological problems. Monograph]. Minsk: IVTs Minfina; 2019. 256 p. Russian.
- 7. Koga SA. A brief introduction of ICRP publication 44: Protection of the patient in radiation therapy. *Japanese Journal of Health Physics*, 1985;20(4):417–422.
- 8. Gianfaldoni S, Gianfaldoni R, Wollina U, Lotti J, Tchernev G, Lotti T. An overview on radiotherapy: from its history to its current applications in dermatology. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2017;5:521–525.
  - 9. Stolbovoi AV, Zalyalov IF. Radiobiological models and clinical radiation oncology. Oncology. 2016;6:88–96. Russian.
- 10. Zhokliver KI, Zevrieva IF, Dosakhanov AKh. Kolichestvennaya otsenka biologicheskikh effektov radiatsii v normal'nykh tkanyakh pri luchevoy terapii zlokachestvennykh novoobrazovaniy [Quantification of biological effects of radiation in normal tissues in radiation therapy of malignant neoplasms]. Alma-Ata: [publisher unknown]; 1983. Russian.
- 11. Kiseleva ES, Goldobenko GV, Kanaev SV, et al. *Luchevaya terapiya zlokachestvennykh opukholey. Rukovodstvo dlya vrachey* [Radiation therapy of malignant tumors. Physician's Guide]. Moscow: Meditsina; 1996. 464 p. Russian.
- 12. Fadeeva MA, Kostromina KN, Datsenko BC. Faktory vremya doza fraktsionirovaniye i ikh ispol'zovaniye v luchevoy terapii zlokachestvennykh opukholey [Time dose factors fractionation and their use in radiation therapy of malignant tumors]. Moscow: MZ SSSR; 1990. Russian.
  - 13. Thames D, Hendry H. Fractionation in radiotherapy. London, New York: [publisher unknown]; 1987. p. 232–233, 246–251.
- 14. Klimanov VA. Radiobiologicheskoye i dozimetricheskoye planirovaniye luchevoy i radionuklidnoy terapii. Chast' 1. Radiobiologicheskiye osnovy luchevoy terapii. Radiobiologicheskoye i dozimetricheskoye planirovaniye distantsionnoy luchevoy terapii puchkami tormoznogo i gamma-izlucheniya [Radiobiological and dosimetric planning of radiation and radionuclide therapy. Part 1. Radiobiological basics of radiation therapy. Radiobiological and dosimetric planning of remote radiation therapy with brake and gamma radiation beams]. Moscow: NIYaU MIFI; 2011. 500 p. Russian.
- 15. Michael C. Joiner, Albert J. van der Kogel. Basic Clinical Radiobiology. In: Description. Fifth edition. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis Group; 2018. p. 350.
- 16. Roger G. Dale, Judith A. Sinclair. Radiobiological calculations in routine radiotherapy. In: Radiobiological modeling in radiation oncology. London: The British Institute of Radiology; 2007. p. 158–168.
- 17. Walsh S. Radiobiological modelling in Radiation Oncology. In: Medical Physics Research Cluster, School of Physics, College of Science, National University. Ireland: Galway; 2011. p. 169.
- 18. Hancharova KV, Zorin VP. Application of the usage of LQ model for estimation of radiation dose when overall treatment time varies. Part 3. In: Sakharov readings of 2019: ecological problems of the XXI century. 19th international scientific conference, 2019 May 23–24. Minsk: IVTs Minfina; 2019. p. 179–182. Russian.
- 19. Hancharova KV, Haida AV, Zorin VP. The dose estimation when the scheme of fractionation of the radiotherapy course changes. In: Actual environmental problems. Proceedings of the IX International Scientific Conference of young scientists, graduates, master and PhD students, 2019 November 21–22. Minsk: IVTs Minfina; 2019. p. 68–69.
- 20. Hancharova KV, Zorin VP. Impact of unplanned interruptions between radiotherapy sessions on the accuracy of implementation of the fractionation pattern. Part 2. In: Sakharov Readings 2020: Ecological Problems of the XXI Century, Minsk, 2020 May 21–22. Minsk: IVTs Minfina; 2020. p. 43–46. Russian.
- 21. Hancharova KV, Petkevich MN. Changes in the course of remote radiotherapy under the influence of breaks in radiation treatment. In: Sustainable Development: Environmental Protection. Energy Saving. Sustainable Environmental Management. 6th International Congress, 2020 September, 23–25. Lviv: Polytechnic National University; 2020. p. 76. Russian.
- 22. Hancharova KV, Petkevich MN. Study of the effect of radiotherapy breaks on long-term treatment outcomes. In: Sustainable Development: Environmental Protection. Energy Saving. Sustainable Environmental Management. 6th International Congress, 2021 February, 9–10. Lviv: Polytechnic National University; 2021. p. 42. Russian.
- 23. Yarmonenko SP, Vainson AA. *Radiobiologiya cheloveka i zhivotnykh* [Radiobiology of humans and animals]. Moscow: Vysshaya shkola; 2004. 549 p. Russian.
- 24. Molchanova EV. Use of the LQ model and its modifications in the planning of radiation therapy for tumor diseases. *A clinical medicine almanac*. 2008;1:354–357. Russian.
- 25. Klepper LYa, Molchanova EV, Sotnikov VM. Calculation of the probability of a radiation complication in tissue using a modified LQED2 model as a function of radiation condition. *Medical physics*. 2006;1(29):14–23. Russian.
- 26. Klepper LYa, Molchanova EV. Mathematical modeling of the probability of radiation complications in therapeutic liver irradiation. *Medical radiology and radiation safety*. 2007;52(2):37–42. Russian.
- 27. Klepper LYa, Molchanova EV, Sotnikov VM. Mathematical modeling of probability of occurrence of radiation complications in lungs with their homogeneous and heterogeneous irradiation. *Medical physics*. 2007;3(35):25–37. Russian.

Статья поступила в редколлегию 22.04.2021. Received by editorial board 22.04.2021. УДК 541.15:543.426

#### АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТОВ И ЛИСТЬЕВ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА

Е. И. ТАРУН<sup>1)</sup>, А. Н. КУХТА<sup>1)</sup>, А. А. НЕБОКАТКИНА<sup>1)</sup>, В. П. КУРЧЕНКО<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь
<sup>2)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Проведено сравнительное изучение антиоксидантной активности (АОА) 10 образцов экстрактов цветов тысячелистника и 10 образцов экстрактов листьев тысячелистника, собранных в России и Казахстане. Получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресценна от логарифма концентрации экстрактов, из которых графически определены показатели  $IC_{50}$  и  $A_{max}$  Экстракты цветов тысячелистника восстанавливали флуоресценцию флуоресценна до 76-88 % при концентрации образцов 0,1-1 %. Показатели  $IC_{50}$  находились в пределах  $0,47-15,1\cdot10^{-3}$  %. Экстракты листьев тысячелистника восстанавливали флуоресценцию флуоресценна до 71-85 % при концентрации образцов 0,1-1 %. Показатели IC<sub>50</sub> находились в пределах  $0,53-2,63\cdot10^{-2}$  %. Сравнение показателей IC<sub>50</sub> цветов и листьв тысячелистника свидетельствует о более высокой AOA экстрактов цветов. Минимальный показатель  $IC_{50}$  (0,47·10<sup>-3</sup> %) получен для образца цветов тысячелистника азиатского (Кемерово) ( $A_{max}$  = 83 %), что свидетельствует о его максимальной антиоксидантной активности. Максимальную АОА показали образцы экстрактов листьев тысячелистника мелкоцветного и благородного, для которых получен минимальный показатель  $IC_{50}$   $(0.53 \cdot 10^{-2} \%)$ . Близкие к ним показатели  $IC_{50}$  $(0.59 \cdot 10^{-2})$  определены для образцов листьев тысячелистника каратавского и щетинистого. Для всех этих четырех образцов получены высокие показатели А<sub>тах</sub> (76-82 %). Минимальную АОА имеют образцы цветов тысячелистника обыкновенного и листьев тысячелистника азиатского (Кемерово). Различие при сравнении активности цветов и листьев может указывать на разный состав веществ, определяющих антиоксидантные свойства. Место произрастания тысячелистника влияет на качественный и количественный состав антиоксидантных веществ, что выявлено при сравнении трех образцов тысячелистника одного вида – азиатского, произрастающего в разных регионах (Казахстан, Хакасия и Кемерово).

Ключевые слова: антиоксидантная активность; экстракты цветов и листьев тысячелистника; флуоресцеин.

#### Образец цитирования:

Тарун ЕИ, Кухта АН, Небокаткина АА, Курченко ВП. Антиоксидантная активность экстрактов цветов и листьев тысячелистника. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:57–65.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-57-65

#### For citation:

Tarum EI, Kuxta AN, Nebokatkina AA, Kurchenko VP. Antioxidant activity of extracts of milfoil flowers and leaves. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:57–65. Russian

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-57-65

#### Авторы:

**Екатерина Ивановна Тарун** – кандидат химических наук; доцент кафедры экологической химии и биохимии.

Алеся Николаевна Кухта – студентка факультета медицинской экологии.

**Анастасия Александровна Небокаткина** – студентка факультета медицинской экологии.

**Владимир Петрович Курченко** – кандидат биологических наук, доцент; заведующий лабораторией прикладных проблем биологии.

#### Authors:

Ekaterina I. Tarun, PhD (chemistry); associate professor at the department of environmental chemistry and biochemistry. ktarun@tut.by

Alesya N. Kuxta, student at the faculty of environmental medicine.

alesya.kuhta@gmail.com

Anastasiya A. Nebokatkina, student at the faculty of environmental medicine.

nebokatkinan@gmail.com

Vladimir P. Kurchenko, PhD (biology), docent; head of the laboratory of applied biology. kurchenko@tut.by

#### ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS OF MILFOIL FLOWERS AND LEAVES

E. I. TARUN<sup>a</sup>, A. N. KUXTA<sup>a</sup>, A. A. NEBOKATKINA<sup>a</sup>, V. P. KURCHENKO<sup>b</sup>

<sup>a</sup>International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University, 23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus <sup>b</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus Corresponding author: E. I. Tarun (ktarun@tut.by)

A comparative study of the antioxidant activity (AOA) of 10 samples of milfoil flower extracts and 10 samples of milfoil leaf extracts collected in Russia and Kazakhstan was carried out. Fluorescein fluorescence intensity dependencies are obtained on the logarithm of the concentration of infant formula, from which IC<sub>50</sub> and  $A_{max}$  values are graphically determined. Milfoil flowers extracts restored fluorescence of fluorescein to 76–88 % at a sample concentration of 0,1–1 %. IC<sub>50</sub> values were in the range of 0,47–15,1·10<sup>-3</sup> %. Milfoil leaves extracts restored fluorescence of fluorescein to 71–85 % at a sample concentration of 0,1–1 %. IC<sub>50</sub> values were in the range of 0,53–2,63 · 10<sup>-2</sup> %. Comparison of IC<sub>50</sub> values of flowers and leaves of milfoil indicates a higher AOA of flower extracts. The minimum IC<sub>50</sub> (0,47 · 10<sup>-3</sup> %) was obtained for a sample of Asian milfoil flowers (Kemerovo) ( $A_{max}$  = 83 %), which indicates its maximum antioxidant activity. The maximum AOA was shown by samples of extracts of leaves of small-colored milfoil and noble milfoil, for which the minimum IC<sub>50</sub> (0,53 · 10<sup>-2</sup> %) value was obtained. IC<sub>50</sub> indices (0,59 · 10<sup>-2</sup> %) close to them were obtained for samples of leaves of caratavian and bristly milfoil. For all these four samples, high  $A_{max}$  values (76–82 %) were obtained. The minimum AOA was shown by samples of flowers of ordinary milfoil and leaves of Asian milfoil (Kemerovo). The difference when comparing the activity of flowers and leaves may indicate a different composition of substances that determine antioxidant properties. The place where the milfoil grows affects the qualitative and quantitative composition of antioxidant substances, which was shown by a comparison of 3 samples of the same species of milfoil – Asian, growing in different regions (Kazakhstan, Khakassia and Kemerovo).

Keywords: antioxidant activity, extracts of milfoil flowers and leaves, fluorescein.

#### Введение

Род тысячелистники (Achillea) включает более 100 видов, которые в основном распространены в северном полушарии [1]. Они широко используется в традиционной европейской медицине для лечения лихорадок, гипертонии, желудочно-кишечных расстройств, остановки кровотечения и заживления ран [2]. Проведенные ранее исследования показывают, что различные виды тысячелистников обладают антиоксидантной и антипролиферативной активностью [3-8]. Фитохимические исследования показали, что многие виды рода Achillea содержат фенилпропаноиды, флавоноиды, флавонолы, флавоны и такие их производные, как хлорогеновая [3–5; 8], протокатеховая [4], галловая [3], кофейная [3; 4; 6; 8], ферулиновая [4; 6] кислоты, рутин [3–6; 8], кверцетин [4; 6; 8], лютеолин и лютеолин глюкозид [3; 5; 6–8], апигенин и апигенин глюкозид [3-6]. Хроматографический анализ тысячелистника Биберштейна и благородного свидетельствует о высоком содержании кверцетин глюкозида [6; 7]. Сравнительный хроматографический анализ цветов и листьев Achillea grandifolia показал различное содержание в них фенилпропаноидов и флаваноидов [8]. Так, цветы содержат большее количество рутина, лютеолина и лютеолин глюкозида и не содержат кверцетина, кофейной и хлорогеновой кислот, которые обнаружены в листьях данного вида тысячелистника. Ведутся работы по расширению объектов фитохимического анализа тысячелистников для изучения состава различных вторичных метаболитов - сесквитерпеновых лактонов, флавоноидов, эфирных масел [9]. Широко изучены виды Achillea, включая A. asplenifolia и A. collina, на содержание флавоноидов [10]. Все перечисленные вещества определяют антиоксидантные свойства тысячелистника. Необходимо отметить, что в зависимости от региона произрастания, климатических условий состав вторичных метаболитов будет иметь внутривидовые различия.

Цель исследования — сравнительный анализ антиоксидантной активности 10 образцов экстрактов цветов тысячелистника и 10 образцов экстрактов листьев нескольких видов тысячелистника, собранных в разных регионах России и Казахстана.

#### Материалы и методы исследования

В качестве веществ, способных проявить антиоксидантную активность взяты образцы экстрактов цветов и листьев тысячелистника. В табл. 1 представлены виды исследованных цветов и листьев тысячелистников и места их сбора.

Таблица 1

#### Виды исследованных цветов и листьев тысячелистников и места их сбора

Table 1

Types of flowers and leaves of milfoil investigated and places of their collection

№	Вид	Место сбора
1	Тысячелистник азиатский (Achillea asiatica Serg.)	Кемеровская обл., Беловский р-н, окр. с. Каракан (54,353912° с. ш., 86,77906° в. д.)
2	Тысячелистник азиатский (Achillea asiatica Serg.)	Хакасия, Орджоникидзевский р-н, окр. оз. Сульфатное
3	Тысячелистник азиатский (Achillea asiatica Serg.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская область, хребет Cayp (47,43306° с.ш., 85,27296° в.д., А=669 м.)
4	Тысячелистник Биберштейна (Achillea bieber- steinii Afan.)	Казахстан, Южно-Казахстанская обл., хребет Каратау (42,86126° с. ш., 69,86825° в. д.)
5	Тысячелистник мелкоцветный (Achillea micran- tha Willd.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская обл., Кокпектинский р-н (43,83109° с. ш., 83,38052° в.д., А = 427 м)
6	Тысячелистник щетинистый (Achillea setacea Waldst. & Kit.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская обл., Тарбагатайский р-н, хребет Манырак (47,49057° с. ш., 81,07756° в. д.)
7	Тысячелистник каратавский (Achillea karatavica Kamelin)	Казахстан, Южно-Казахстанская обл., хребет Каратау (42,86062° с. ш., 069,90652° в. д.)
8	Тысячелистник обыкновенный (Achillea millefolium L.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская обл., Зайсанская впадина (48,88318° с. ш., 83,35517° в. д.)
9	Тысячелистник таволговый (Achillea filipendulina L.)	Казахстан, Южно-Казахстанская обл., хребет Каратау (42,86126° с. ш., 69,86825° в. д.).
10	Тысячелистник благородный (Achillea nobilis L.)	Казахстан, Восточно-Казахстанская обл., Зайсанский р-н, хребет Манырак (47,47036° с. ш., 084,74066° в. д.)

Приготовление спиртового экстракта из цветов тысячелистника. Навески цветов тысячелистника измельчали в электрической кофемолке. Из измельченного стандартизированного по размерам частиц сырья (0,1 г) экстрагировали 70 % метиловым спиртом в течение одного часа на водяной бане, затем экстрагировали 48 ч при комнатной температуре. Соотношение сырье (г): экстрагент (мл) составило – 1:10. После экстракции сырье пропускали через бумажный фильтр.

Приготовление водного экстракта из листьев тысячелистника. Навески листьев тысячелистника измельчали в электрической кофемолке. Из измельченного стандартизированного по размерам частиц сырья (0,1 г) экстрагировали водой в течение одного часа на водяной бане, затем экстрагировали 48 ч при комнатной температуре. Соотношение сырье (г): экстрагент (мл) составило – 1:10. После экстракции сырье пропускали через бумажный фильтр.

Приготовление растворов экстракта цветов и листьев тысячелистника. Концентрацию исходного раствора экстракта принимали за 100 %. Делали ряд разведений исходного раствора экстракта, концентрации которых составляли  $50-10^{-3}$  %. Концентрации растворов экстракта в пробе уменьшались в 10 раз и составляли  $5-10^{-4}$  %.

Метод определения антиоксидантной активности экстракта цветов и листьев тысячелистинка. Метод определения антиоксидантной активности (AOA) по отношению к активированным формам кислорода (AФK) основан на измерении интенсивности флуоресценции окисляемого соединения и ее уменьшении под воздействием АФК. В настоящей работе для детектирования свободных радикалов использован флуоресцеин, обладающий высоким коэффициентом экстинкции и близким к 1 квантовым выходом флуоресценции. Генерирование свободных радикалов осуществляли при использовании системы Фентона, в которой образуются гидроксильные радикалы при взаимодействии комплекса железа ( $Fe^{2^+}$ ) с этилендиаминтетрауксусной кислотой (EDTA) и пероксида водорода [11; 12]. При взаимодействии флуоресцениа со свободными радикалами происходит тушение его флуоресценции, восстановить которую можно при добавлении в систему веществ, проявляющих антиоксидантные свойства.

Общий объем пробы, помещаемый в кювету, составлял 2 мл. В кювету вносили 0.02 мл флуоресцеина (10-6 М) и 1.98 мл 0.1 М Na-фосфатного буфера. Прописывали спектр. Полученное значения пика флуоресценции принимали за 100 %.

В кювету вносили 0,02 мл флуоресцеина  $(10^{-6}\,\mathrm{M}),\ 0,2$  мл  $\mathrm{Fe^{2^+}}$  с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА)  $(10^{-3}\,\mathrm{M}),\ 1,58$  мл 0,1 М Nа-фосфатного буфера и 0,2 мл пероксида водорода  $(10^{-2}\,\mathrm{M})$ . При взаимодействии  $\mathrm{Fe^{2^+}}$  с  $\mathrm{H_2O_2}$  (реакция Фентона) образующиеся радикалы подавляли свечение флуоресцениа. Полученное значения пика флуоресценции принимали за минимальное.

В кювету вносили 0,02 мл флуоресцеина  $(10^{-6} \text{ M})$ , 0,2 мл  $\text{Fe}^{2+}$  с ЭДТА  $(10^{-3} \text{ M})$ , 0,2 мл раствора экстракта цветов или листьев тысячелистника  $(10^{-3} - 50 \%)$  и 1,38 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера. Реакцию начинали добавлением 0,2 мл пероксида водорода  $(10^{-2} \text{ M})$ .

Конечные концентрации: флуоресцеин  $-10^{-8}$  M, Fe<sup>2+</sup>  $-10^{-4}$  M, ЭДТА  $-10^{-4}$  M,  $H_2O_2 - 10^{-3}$  M, раствор экстракта цветов и листьев тысячелистника  $-10^{-4} - 5$  %.

Измерения флуоресценции проводили на флуориметре RF-5301 PC («Shimadzu», Япония). Регистрировали интенсивность флуоресценции на длине волны 514 нм. Длина волны возбуждения – 490 нм.

Статистическая обработка экспериментальных данных. Построение графиков и математическую обработку результатов исследований осуществляли при помощи компьютерной программы «Microsoft Office Excel 2003» (Microsoft Corporation, США). Результаты независимых экспериментов представлены как среднее арифметическое значение  $\pm$  доверительный интервал. Достоверность различий между выборками данных определяли методом доверительных интервалов.

#### Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования ингибирования реакций свободных радикалов, генерируемых в системе Фентона, получены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресценна (А) от логарифма концентрации всех образцов экстрактов цветов и листьев тысячелистника.

Основные показатели антиоксидантной активности при сравнительном анализе:  $A_{\text{max}}$  – интенсивность флуоресценции, соответствующая максимальному ингибированию свободных радикалов, выраженная в %;  $C_{\text{max}}$  – концентрация экстракта, при которой достигается  $A_{\text{max}}$ ;  $IC_{50}$  – концентрация экстракта, при которой достигается 50 % ингибирования свободных радикалов. В табл. 2 представлены показатели антиоксидантной активности экстрактов цветов и листьев тысячелистника.

Экстракты цветов тысячелистника восстанавливали флуоресценцию флуоресценна до 76-88 %. Экстракты листьев тысячелистника имели несколько более низкий интервал показателя  $A_{max}$ , восстанавливая флуоресценцию флуоресценна до 71-85 %. Однако в случае тысячелистников таволгового и каратавского  $A_{max}$  листьев оказался выше, чем для цветов.

Сравнение показателей  $IC_{50}$  цветов и листьв тысячелистника свидетельствует о более высокой AOA экстрактов цветов. Для образцов тысячелистников Биберштейна, таволгового, благородного и азиатского (Казахстан) поазатели  $IC_{50}$ , полученные для цветов, в 2–2,8 раза ниже  $IC_{50}$  листьев. Более существенная разница получена для образцов тысячелистников щетинистого, мелкоцветного и азиатского (Хакасия) –  $IC_{50}$ , полученные для цветов, в 3–4,7 раза ниже  $IC_{50}$  листьев. Самая значительная разница получена для образца тысячелистника азиатский (Кемерово) –  $IC_{50}$  цветов в 56 раз ниже  $IC_{50}$  листьев. И только для тысячелистника обыкновенного  $IC_{50}$  цветов в 1,3 раза выше  $IC_{50}$  листьев.

Сравнение показателей  $A_{max}$  и  $IC_{50}$ , полученных для листьев и цветов тысячелистника каратавского, показывают близкую AOA цветов и листьев.  $A_{max}$  цветов и листьев тысячелистника каратавского – 76 и 79 %, а  $IC_{50}$  цветов в 1,3 раза ниже  $IC_{50}$  листьев.

Минимальный показатель  $IC_{50}$  (0,47·10<sup>-3</sup> %) получен для образца цветов тысячелистника азиатского (Кемерово), что свидетельствует о его максимальной антиоксидантной активности. Показатель  $IC_{50}$  цветов тысячелистника мелкоцветного (1,3·10<sup>-3</sup> %) в 2,8 раза выше. Показатели  $IC_{50}$  цветов тысячелистника щетинистого, азиатского (Хакасия) и благородного близки по значениям (2–2,4·10<sup>-3</sup> %) и в 4,3–5 раз выше аналогичного показателя тысячелистника азиатского (Кемерово). Еще более высокие значения показателя  $IC_{50}$  получены для образцов цветов тысячелистника азиатского (Казахстан), таволгового, каратавского и Биберштейна (3,63–5·10<sup>-3</sup> %), в 7,7–10,6 раз выше аналогичного показателя тысячелистника азиатского (Кемерово). Максимальный показатель  $IC_{50}$  (15,1·10<sup>-3</sup> %) определен для образца цветов тысячелистника обыкновенного. Он в 32 раза превышает  $IC_{50}$  тысячелистника азиатского (Кемерово), что может свидетельствовать о минимальной активности данного образца.

Образцы цветов тысячелистника мелкоцветного, щетинистого и Биберштейна восстанавливали флуоресценцию флуоресцениа до максимально высоких значений 87–88%. Экстракт цветов тысячелистника обыкновенного восстанавливал флуоресценцию флуоресценна до 85%, однако при этом его концентрация была на порядок выше остальных образцов. Самый низкий показатель  $A_{max}$  (76%) определен для образца цветов тысячелистника каратавского.

Представляет интерес сравнение трех экстрактов цветов тысячелистника одного вида – азиатского, произрастающего в разных регионах (Казахстан, Хакасия и Кемерово). Показатели  $A_{\max}$  тысячелистника

азиатского (Казахстан) и азиатского (Хакасия) одинаковы (81 %). Несколько выше (83 %) значение этого показателя у тысячелистника азиатского (Кемерово). Все образцы достигают максимальной активности при одинаковой концентрации (0,1 %). Более существенные различия наблюдаются в показателях  $IC_{50}$ . Показатель  $IC_{50}$  тысячелистника азиатского (Кемерово) (0,47·10<sup>-3</sup> %) – минимальный. Показатели  $IC_{50}$  тысячелистника азиатского (Хакасия) (2,14·10<sup>-3</sup> %) и (Казахстан) (3,63·10<sup>-3</sup> %) выше в 4,6 и 7,7 раза. Таким образом, антиоксидантная активность экстрактов из цветов тысячелистников убывает в ряду: азиатский (Кемерово) > азиатский (Хакасия) > азиатский (Казахстан).

Таблица 2 Показатели антиоксидантной активности экстрактов цветов и листьев тысячелистника

Table 2 Indicators of antioxidant activity of extracts of flowers and leaves of milfoil

$N_{\underline{0}}$	Название образца	$A_{max}$ , %	C <sub>max</sub> %	IC <sub>50</sub> ·10 <sup>-3</sup> , %	IC <sub>50 п</sub> / IC <sub>50 ц</sub>				
1		Тысяч	елистник азиатский (	Кемерово)					
	Цветы	83	0,1	0,47	56				
	Листья	73	1	26,3					
2	Тысячелистник мелкоцветный								
	Цветы	88	0,1	1,3	4,1				
	Листья	82	0,1	5,3					
3		T	ысячелистник щетини	стый					
	Цветы	88	0,1	2	3				
	Листья	76	0,1	5,9					
4		Тысяч	челистник азиатский (	(Хакасия)					
	Цветы	81	0,1	2,14	4,7				
	Листья	71	1	10					
5	Тысячелистник благородный								
	Цветы	81	0,1	2,4	2,2				
	Листья	78	0,1	5,3					
6	Тысячелистник азиатский (Казахстан)								
	Цветы	81	0,1	3,63	2,8				
	Листья	74	0,1	10					
7	Тысячелистник таволговый								
	Цветы	81	0,1	4,1	2				
	Листья	85	1	8,3					
8	Тысячелистник каратавский								
	цветы	76	0,1	4,5	1,3				
	Листья	79	0,1	5,9					
9		Tı	ысячелистник Биберш	тейна					
	Цветы	87	0,1	5	2				
	Листья	72	1	10					
10		Ты	сячелистник обыкнов	енный	-				
	Цветы	85	1	15,1	0,8				
	Листья	71	0,1	12	1				

На рис. 1 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресценна (A) от логарифма концентрации экстрактов цветов тысячелистника азиатского (Кемерово) (1) и азиатского (Хакасия) (2). Зависимости практически аналогичны, что может свидетельствовать об одинаковом составе веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства, отличающихся по количественному составу.

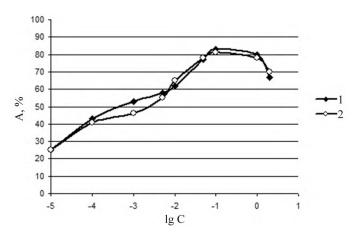


Рис. 1. Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресцениа (A) от логарифма концентрации (C) экстракта цветов тысячелистника азиатского (Кемерово) (1) и азиатского (Хакасия) (2)

Fig. 1. The dependence of the fluorescence intensity of fluorescein (A) of the logarithm of the concentration (C) milfoil flower extract Asian (Kemerovo) (1) and Asian (Khakassia) (2)

На рис. 2 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации экстрактов цветов тысячелистника мелкоцветного (1), щетинистого (2), Биберштейна (3) и азиатского (Казахстан) (4). Схожая структура полученных зависимостей, особенно для образцов 1 и 2, также может свидетельствовать об одинаковом качественном составе веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства. Кроме того, характер этих зависимостей отличается от рассмотренных на рис. 1, что свидетельствует о различном качественном составе антиоксидантных веществ данных четырех образцов и образцов тысячелистника азиатского (Кемерово) и азиатского (Хакасия).

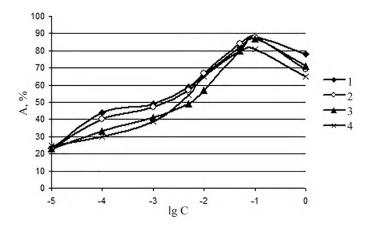


Рис. 2. Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресценна (A) от логарифма концентрации (C) экстракта цветов тысячелистника мелкоцветного (1), щетинистого (2), Биберштейна (3) и азиатского (Казахстан) (4)

Fig. 2. The dependence of the fluorescence intensity of fluorescein (A) of the logarithm of the concentration (C) milfoil flower extract small-colored (1), bristly (2), Bieberstein (3) and Asian (Kazakhstan) (4)

На рис. 3 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресценна (A) от логарифма концентрации экстрактов цветов тысячелистника благородного (1), таволгового (2) и каратавского (3). Зависимости, полученные для этих образцов, также имеют одинаковую тенденцию, предполагающую идентичный качественный состав антиоксидантных веществ.

Образцы экстрактов листьев тысячелистника мелкоцветного и благородного имели минимальные значения показателя  $IC_{50}$  (0,53·10<sup>-2</sup>%), что свидетельствует об их максимальной антиоксидантной активности. Близкие к ним показатели  $IC_{50}$  (0,59·10<sup>-2</sup>%) получены для образцов листьев тысячелистника каратавского и щетинистого. Для всех этих четырех образцов получены высокие показатели  $A_{max}$  (76–82%).

Экстракт листьев тысячелистника таволгового восстанавливал флуоресценцию флуоресценна на максимальную величину — до 85 %. Близкий к нему показатель  $A_{max}$  (82 %) имел тысячелистник мелкоцветный. Однако максимальная активность образца тысячелистника таволгового достигается при концентрации в 10 раз выше (1 %), чем для образцов тысячелистника мелкоцветного (0,1 %). Показатель  $IC_{50}$ 

тысячелистника таволгового  $(0.83 \cdot 10^{-2})$  в 1.6 раза выше аналогичного показателя тысячелистника мелкоцветного и благородного. Таким образом, AOA тысячелистника таволгового ниже образца тысячелистника мелкоцветного.

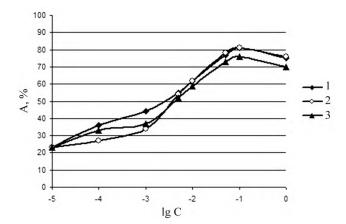


Рис. 3. Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресценна (A) от логарифма концентрации (C) экстракта цветов тысячелистника благородного (1), таволгового (2), и каратавского (3)

Fig. 3. The dependence of the fluorescence intensity of fluorescence (A) of the logarithm of the concentration (C) of the extract of flowers of milfoil noble (1), meadowsweet (2), and caratavian (3)

Показатель  $IC_{50}$  образцов листьев тысячелистника азиатского (Казахстан), Биберштейна, азиатского (Хакасия) и обыкновенного ( $1-1,2\cdot10^{-2}$  %) в 1,9-2,3 раза выше аналогичного показателя тысячелистника мелкоцветного и благородного, а их показатели  $A_{max}$  (71-74 %) в 1,2 раза ниже аналогичного показателя тысячелистника таволгового, что свидетельствует о более низких антиоксидантных свойствах.

Максимальный показатель  $IC_{50}$  (2,63·10<sup>-2</sup> %), полученный для образца листьев тысячелистника азиатского (Кемерово), в 5 раз выше аналогичных показателей тысячелистника мелкоцветного и благородного и в 2,2 раза выше  $IC_{50}$  тысячелистника обыкновенного. Его показатель  $A_{max}$  (73 %) находится на уровне аналогичных показателей тысячелистника азиатского (Казахстан), Биберштейна, азиатского (Хакасия) и обыкновенного. Кроме того, максимальная активность образца тысячелистника азиатского (Кемерово) достигается при концентрации в 10 раз выше (1 %), чем для образцов тысячелистника мелкоцветного, благородного, каратавского, щетинистого и обыкновенного (0,1 %). Все это свидетельствует о самой низкой антиоксидантной активности данного образца.

Представляет интерес сравнение трех экстрактов листьев тысячелистника одного вида – азиатского, произрастающего в разных регионах: Казахстан, Хакасия и Кемерово. Показатели  $A_{\rm max}$  тысячелистника азиатского (Казахстан) и азиатского (Кемерово) близки (74 и 73 % соответственно). Несколько ниже (71 %) значение этого показателя тысячелистника азиатского (Хакасия). Однако максимальная активность образца тысячелистника азиатского (Казахстан) достигается при концентрации в 10 раз ниже (0,1 %), чем для образцов тысячелистника азиатского (Хакасия) и (Кемерово). Показатели  $IC_{50}$  образцов тысячелистника азиатского (Казахстан) и (Хакасия) совпадают ( $1 \cdot 10^{-2}$  %), тогда как для тысячелистника азиатского (Кемерово) этот показатель в 2,63 раза выше. Таким образом, антиоксидантная активность экстрактов из листьев тысячелистника убывает в ряду: азиатский (Казахстан) > азиатский (Хакасия) > азиатский (Кемерово).

На рис. 4 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресценна (A) от логарифма концентрации экстрактов листьев тысячелистника мелкоцветного (1), каратавского (2), азиатского (Казахстан) (3) и обыкновенного (4). Одинаковая структура полученных зависимостей может свидетельствовать об аналогичном составе веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства, отличающихся по количественному составу.

На рис. 5 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресцеина (A) от логарифма концентрации экстрактов листьев тысячелистника благородного (1) и щетинистого (2). Зависимости практически аналогичны, что также может свидетельствовать об одинаковом качественном и количественном составе веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства. Кроме того, характер этих зависимостей существенно отличается от представленных на рис. 4, что свидетельствует о различном качественном составе антиоксидантных веществ данных двух образцов и образцов тысячелистника мелкоцветного, каратавского, азиатского (Казахстан) и обыкновенного.

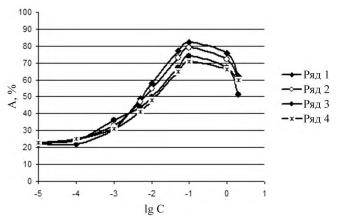


Рис. 4. Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресцениа (A) от логарифма концентрации (C) экстракта листьев тысячелистника мелкоцветного (1), каратавского (2), азиатского (Казахстан) (3) и обыкновенного (4)

Fig. 4. The dependence of the fluorescence intensity of fluorescence (A) of the logarithm of the concentration (C) of the extract of the leaves of milfoil small-colored (1), caratavian (2), Asian (Kazakhstan) (3) and ordinary (4)

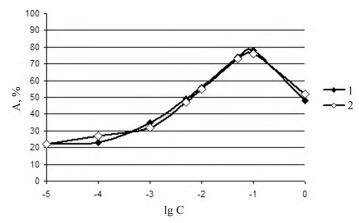


Рис. 5. Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресцениа (A) от логарифма концентрации (C) экстракта листьев тысячелистника благородного (1) и щетинистого (2)

Fig. 5. The dependence of the fluorescence intensity of fluorescein (A) of the logarithm of the concentration (C) of the extract of the leaves of milfoil noble (1) and bristly (2)

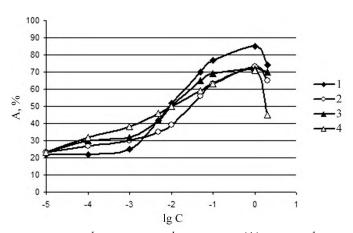


Рис. 6. Зависимость интенсивности флуоресценции флуоресценна (A) от логарифма концентрации (C) экстракта листьев тысячелистника таволгового (1), азиатского (Кемерово) (2), Биберштейна (3) и азиатского (Хакасия) (4)

Fig. 6. The dependence of the fluorescence intensity of fluorescein (A) of the logarithm of the concentration (C) of the extract of the leaves of milfoil of meadowsweet (1), Asian (Kemerovo) (2), Biberstein (3) and Asian (Khakassia) (4)

На рис. 6 представлены зависимости интенсивности флуоресценции флуоресценна (А) от логарифма концентрации экстрактов листьев тысячелистника таволгового (1), азиатского (Кемерово) (2), Биберштейна

(3) и азиатского (Хакасия) (4). Все образцы достигают максимальной активности при одинаковой концентрации 1 % и их зависимости имеют одинаковую тенденцию. В большей степени это видно при сравнении образцов тысячелистника таволгового (1) и азиатского (Хакасия) (4).

#### Заключение

Ранее проведенные исследования свидетельствуют, что в состав разных видов тысячелистника входят многочисленные вещества, отвечающие за их антиоксидантную активность (фенилпропаноиды, флавоноиды, флавонолы, флавоны и их производные, такие кислоты, как хлорогеновая, протокатеховая, галловая, кофейная и ферулиновая). Полученные данные показывают, что каждый вид тысячелистника содержит в своем составе индивидуальный набор веществ, отвечающих за антиоксидантную активность. Различия при сравнении активности цветов и листьев также могут указывать на разный состав веществ, определяющих антиоксидантные свойства. Место произрастания тысячелистника влияет на качественный и количественный состав антиоксидантных веществ, о чем свидетельствует сравнение 3-х образцов тысячелистника одного вида — азиатского, произрастающего в разных регионах (Казахстан, Хакасия и Кемерово).

Образцы цветов тысячелистника, имеющие предположительно близкий состав веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства, можно объединить в три группы:

- 1) тысячелистник азиатский (Кемерово) и азиатский (Хакасия);
- 2) тысячелистник мелкоцветный, щетинистый, Биберштейна и азиатский (Казахстан);
- 3) тысячелистник благородный, таволговый и каратавский.

Образцы листьев тысячелистника, имеющие предположительно близкий состав веществ, отвечающих за антиоксидантные свойства:

- 1) тысячелистник мелкоцветный, каратавский, азиатский (Казахстан) и обыкновенный;
- 2) тысячелистник благородный и щетинистый;
- 3) тысячелистник таволговый, азиатский (Хакасия), азиатский (Кемерово) и Биберштейна.

Экстракты цветов показали более высокую антиоксидантную активность, чем листья тысячелистника, о чем свидетельствуют более высокие показатели восстановления свечения флуоресцеина.

#### Библиографические ссылки / References

- 1. Nemeth E, Bernath J. Biological activities of yarrow species (*Achillea spp.*). Current Pharmaceutical Design. 2008;14:3151–3167. DOI: 10.2174/138161208786404281.
- 2. Benedek B, Kopp B. *Achillea millefolium* L. s. 1. revisited: recent findings confirm the traditional use. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2007;157:312–314. DOI: 10.1007/s10354-007-0431-9.
  - 3. Vitalini S, et al. Phenolic compounds from Achillea millefolium L. and their bioactivity. Acta Biochimica. 2011;58:203–209.
- 4. Serdar G, Munevver S, Ezgi D. Extraction of antioxidative principles of *Achillea biserrata* M. Bieb. and chromatographic analyses. *Journal of Secondary Metabolite*. 2015;2:3–15.
- 5. Benetis R, Radusiene J, Janulis V. Variability of phenolic compounds in flowers of *Achillea millefolium* wild populations in Lithuania. *Medicina*. 2008;44(10):775–781.
- 6. Hammad H, Albu C, Matar S. Biological activities of the hydro-alchoholic and aqueous extracts of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) grown in Jordan. *African journal of pharmacy and pharmacology*. 2013;7(25):1686–1694.
- 7. Taskin D, Alkaya D, Dolen E. Analysis of natural dyestuffs in *Achillea grandifolia* Friv. Using HPLC-DAD and Q-TOF LC/MS. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 2017;16(1):83–88.
- 8. Trendafilova A, et al. Flavonoids in flower heads of three *Achillea species* belonging to *Achillea millefolium* group Duddeck. *Chemistry of Natural Compounds*, 2007;43(2):212–213.
- 9. Ivancheva S, Stancheva B. Exudate flavonoid aglycones of *Achillea sp. Sect.* Millefolium and sect. Ptarmica. *Phytologia Balcanica*. 1996:2:102–105.
- 10. Valant-Vetschera K, Wollenweber E. Leaf flavonoids of the *Achillea millefolium* group part II: distribution patterns of free aglycones in leaf exudates. *Biochemical Systematics and Ecology.* 2001;16(7,8):605–614. DOI: 10.1016/s0305-1978(00)00033-8.
- 11. Cao GH, Alessio HM, Cutler R. G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radicals In Biology And Medicine*. 1993;3(14):303–311. DOI: 10.1016/0891-5849(93)90027-r.
- 12. Wei Y. A novel H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-triggered anti-Fenton fluorescent pro-chelator excitable with visible light. *Chemical Communications*. 2009;11:1413–1415. DOI: 10.1039/b819204a.

Статья поступила в редколлегию 12.05.2021. Received by editorial board 12.05.2021. УДК 577.352.33: 577.359: 504.055

## АНАЛИЗ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МЕМБРАН КЛЕТОК КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

И. В. ПУХТЕЕВА<sup>1)</sup>, А. В. КАУРОВА<sup>1)</sup>, Н. В. ГЕРАСИМОВИЧ<sup>1)</sup>, М. Л. ЛЕВИН<sup>1)</sup>, Л. А. МАЛЬКЕВИЧ<sup>2)</sup>

<sup>13</sup>Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь <sup>23</sup>Белорусский государственный медицинский университет, пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Беларусь

В ходе исследования проведен анализ физико-химического состояния мембран лимфоцитов периферической крови и эритроцитов пациентов с ревматоидным артритом. Обнаружено, что у пациентов с ревматоидным артритом не наблюдается достоверных изменений показателей полярности различных областей мембраны указанных клеток. В то же время установлено, что микровязкость аннулярного липида плазматической мембраны лимфоцитов у больных ревматоидным артритом снижается в 2,5 раза по отношению к контрольным значениям у здоровых пациентов, а показатель микровязкости в области общего липидного бислоя увеличивается на 25 % по отношению к контрольным показателям. Величина степени тушения триптофановой флуоресценции пиреном у пациентов с ревматоидным артритом снижается в лимфоцитах на 35 % по отношению к контролю. В мембранах эритроцитов пациентов с ревматоидным артритом не наблюдалось значимых различий по сравнению с контрольными значениями.

*Ключевые слова:* ревматоидный артрит; лимфоциты периферической крови; эритроциты; плазматическая мембрана; пирен; полярность; микровязкость.

#### Образец цитирования:

Пухтеева ИВ, Каурова АВ, Герасимович НВ, Левин МЛ, Малькевич ЛА. Анализ физико-химических характеристик мембран клеток крови пациентов с ревматоидным артритом. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:66–72.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-66-72

#### For citation:

Puhteeva IV, Kaurova AV, Gerasimovich NV, Levin ML, Malkevich LA. Analysis of physicochemical characteristics of blood cell membranes of patients with rheumatoid arthritis. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:66–72. Russian.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-66-72

#### Авторы:

**Ирина Викторовна Пухтеева** – старший преподаватель кафедры экологической медицины и радиобиологии.

Алеся Владимировна Каурова — студентка 4-го курса факультета медицинской экологии.

**Наталья Васильевна Герасимович** – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры экологической медицины и радиобиологии.

Марк Львович Левин – кандидат физико-математических наук, доцент; доцент кафедры экологической медицины и радиобиологии.

**Людмила Антоновна Малькевич** – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой медишинской реабилитации и физиотерации.

#### Authors:

*Irina V. Puhteeva*, senior lecturer at the department of environmental medicine and radiobiology.

puhteeva@mail.ru

Alesia V. Kaurova, student of 4<sup>th</sup> year at the faculty of environmental medicine.

alesya kaurova@mail.ru

Natalya V. Gerasimovich, PhD (biology), docent; associate professor at the department of environmental medicine and radiobiology. nvgerasimovich@mail.ru

Mark L. Levin, PhD (physics and mathematics), docent; associate professor at the department of environmental medicine and radiobiology.

marklyn@belhard.com

**Ludmila** A. **Malkevich**, PhD (medicine), docent; head of the department of medical rehabilitation and physiotherapy. marriu@yandex.ru

## ANALYSIS OF PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF BLOOD CELL MEMBRANES OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

I. V. PUHTEEVA<sup>a</sup>, A. V. KAUROVA<sup>a</sup>, N. V. GERASIMOVICH<sup>a</sup>, M. L. LEVIN<sup>a</sup>, L. A. MALKEVICH<sup>b</sup>

<sup>a</sup>International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University, 23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

<sup>b</sup>Belarusian State Medical University, 83 Dziaržynskaha Avenue, Minsk 220116, Belarus

Corresponding author: I. V. Puhteeva (puhteeva@mail.ru)

In the work reviewed and analyzed the results reflecting the physical and chemical state of the lymphocyte membranes of patients with rheumatoid arthritis. It was found that patients with rheumatoid arthritis did not show significant changes in the polarity of different areas of the membrane. At the same time discovered that annular lipid microviscosity of the plasma membrane of lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis is reduced 2.5 times compared to control values in healthy patients, and the increased microviscosity in the general area of lipid bilayer was increased this by 25 % in relation to control values. The value of the degree of quenching of tryptophan fluorescence by pyrene in patients with rheumatoid arthritis is reduced by 35 % in relation to the control. In the membranes of red blood cells of patients with rheumatoid arthritis, there were no significant differences compared with the control values.

*Keywords:* rheumatoid arthritis; peripheral blood lymphocytes; erythrocytes; plasma membrane; pyrene; polarity; microviscosity.

#### Введение

Ревматоидный артрит — это заболевание, находящееся в фокусе внимания ревматологов всего мира в течение десятилетий. Оно связано с большим медицинским и социальным значением этой болезни. В промышленно развитых странах ее распространенность достигает 0,5–2 % от общей численности населения [1]. Установлено, что у больных ревматоидным артритом наблюдается уменьшение продолжительности жизни по сравнению с общей популяцией на 3–7 лет [2]. Данное заболевание наносит колоссальный ущерб обществу за счет ранней инвалидизации пациентов, которая, при отсутствии своевременно начатой активной терапии, может наступать в первые 5 лет от начала болезни.

Патогенез заболевания весьма сложен и во многом недостаточно изучен. Несмотря на это к настоящему времени хорошо известны некоторые ключевые моменты в развитии ревматоидного воспаления, которые определяют основные методы лечебного воздействия на него. Развитие хронического воспаления в данном случае связано с активацией и пролиферацией иммунокомпетентных клеток (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов), что сопровождается выделением клеточных медиаторов – цитокинов, факторов роста, молекул адгезии, а также синтезом аутоантител (например, антицитруллиновых антител) и формированием иммунных комплексов (ревматоидных факторов). Эти процессы, как показано, ведут к формированию новых капиллярных сосудов и разрастанию соединительной ткани в синовиальной оболочке, к активации циклооксигеназы-2 с повышением синтеза простагландинов и развитием воспалительной реакции, к выделению протеолитических ферментов, активации остеокластов, а в результате – к деструкции нормальных тканей суставов и возникновению деформаций [3].

Из патогенеза заболевания становится очевидным, что эффективно воздействовать на развитие заболевания можно на двух уровнях: подавляя избыточную активность иммунной системы и блокируя выработку медиаторов воспаления, в первую очередь простагландинов. Кровь является интегрирующей функциональной системой, подвергающейся приспособительной перестройке одной из первых, поэтому исследование структурно-функциональных характеристик клеток крови пациентов с указанной патологией представляется особенно актуальным. На сегодняшний день многие механизмы этого процесса остаются малоизученными.

Изучение структуры и функции биомембран в норме и при патологии существенно расширяет представления о механизмах возникновения и развития патологических процессов на уровне клетки и целого организма. В ряде случаев особую актуальность приобретают исследования биологических мембран клеток крови.

Ключевую роль в работе всех внутриклеточных процессов играют такие структурные свойства биомембран, как текучесть, проницаемость, полярность и микровязкость мембран.

Биологические мембраны в первую очередь реагируют на внешние воздействия на клетку. Различные модификации структур и свойств клетки лежат в основе нарушения ее нормальной жизнедеятельности и, как последствие, развитию патологий. Кроме того, биологическая активность большей части лекарственных препаратов обусловлена в большинстве своем мембранными механизмами, которые влияют и на проницаемость мембран, их самообновление, и на работу ферментов, связанных с мембранами. Исходя из вышесказанного, целью работы являлось проведение анализа физико-химического состояния мембран клеток крови пациентов с ревматоидным артритом.

#### Материалы и методы исследования

В исследование была включена группа лиц из 15 человек (12 мужчин и 3 женщины) с диагнозом ревматоидный артрит. Условно контрольная группа состояла из 20 человек, в анамнезе которых не было сведений о заболевании ревматоидным артритом, а биохимический и общий анализы крови находились в пределах физиологической нормы.

Объектом исследования являлись лимфоциты и эритроциты периферической крови человека. Забор крови проводился как у здоровых доноров, так и пациентов с ревматоидным артритом. Для исследований он производился натощак после 12-часового голодания в одно и то же время суток (утром) пункцией локтевой вены (самотеком). Для исследования кровь отбирали в пластиковые пробирки по 10 мл (в качестве антикоагулянта использовался EDTA).

Лимфоциты выделяли согласно стандартной методике [5]. Кровь с антикоагулянтом отстаивали в течение 30–40 мин при t = 37 °C для оседания эритроцитов. В качестве градиента плотности использовали смесь, состоящую из 12 частей 9 %-го фиколла и 5 частей 33,9%-го верографина с плотностью 1,087 г/мл. Плазму крови (6–8 мл) наслаивали на 3 мл смеси фикол-верографин. Полученный раствор центрифугировали с центробежным ускорением 400 g в течение 30 мин при t = 20 °C. При этом эритроциты оседали на дно пробирки. Над ними находился тонкий слой полиморфно-ядерных лейкоцитов. Далее отсасывали пастеровской пипеткой прозрачный слой среды, расположенный непосредственно над опалесцирующим слоем мононуклеаров.

Затем по всей площади сечения пробирки, а на границе раздела фаз собирали слой лимфоцитов. Каждую из собранных фракций клеток помещали в 4 мл фосфатного буфера, содержащего 140 ммоль NaCl, 5 ммоль KCl, 20 ммоль Нереs, 1 ммоль NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5,5 ммоль глюкоза, pH 7,4 и тщательно ресуспензировали мягким пипетированием. Отмывку клеток проводили 3 раза при 300 g в течение 7–10 мин.

Подсчет количества клеток проводили в камере Горяева. Ее применение позволяет также учитывать как живые, так и мертвые клетки, оценивая их жизнеспособность.

Оценку жизнеспособности клеток проводили методом исключения трипанового синего. Для этого в маленькую пробирку вносили 10 мкл клеточной взвеси и 10 мкл раствора трипанового синего. Ресуспендировали клетки пипетированием, затем вводили каплю этой смеси в камеру Горяева, оставляли примерно на 1 мин, чтобы клетки осели на дно. После этого подсчитывали 100 клеток, отмечая голубые (погибшие) и неокрашенные (живые). Окрашенные клетки составляли 1–3 %, что соответствует норме.

Выделение мембран эритроцитов периферической крови осуществляли согласно методу, описанному в работе [6], с некоторыми модификациями. Для проведения исследования мембран эритроцитов нужно в первую очередь провести выделение клеток из общего образца крови. Выделение эритроцитов периферической крови осуществляли методом центрифугирования с некоторыми модификациями. Цельную кровь с антикоагулянтом отстаивали в течение 30–40 мин при t = 37 °C для оседания эритроцитов. Эритроцитарную массу трижды промывали в изотоническом фосфатном буфере pH 7,4 путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 7 мин при t = 4 °C.

Далее проводили гемолиз отмытых эритроцитов. К последнему осадку добавляли дистиллированную воду в соотношении 1:100.

Лизированные эритроциты центрифугировали при  $11\,000$  об/мин в течение 20 мин. Супернатант удаляли. Отмывку эритроцитарных мембран проводили 3 раза в изотоническом фосфатном буфере (pH 7,4), центрифугируя при 11000 об/мин в течение 20 мин при  $t=4\,^{\circ}\mathrm{C}$ .

После отмывки эритроцитарные мембраны ресуспензировали в изотоническом фосфатном буфере (рН 7,4). Исследование структурного состояния общей липидной фазы мембран клеток крови осуществляли спектрофлуориметрически с использованием флуоресцентного зонда пирена (Sigma). В ряде работ показано, что при возбуждении молекул пирена часть его мономеров поднимается в полярные области мембраны, в то время как другие – эксимеризуются в зоне жирнокислотных цепей фосфолипидов. На этом основании из полученных спектров рассчитываются величины микровязкости и полярности липидного компонента мембран клеток [7].

Внедрение зонда осуществляли, как описано в работе [7], путем прединкубации его спиртового раствора (4 ммоль/л) с клетками ( $1\cdot10^6$  кл/мл), находящимися в фосфатном буфере (рН 7,4). Конечная концентрация зонда в среде инкубации составляла 5 мкмоль/л. Регистрацию спектров флуоресценции осуществляли при длинах волн возбуждения 337 и 286 нм на спектрофлуориметре СМ 2203 (*Solar*, Беларусь). Микровязкость липидного окружения пирена оценивали по отношению интенсивностей эксимерной и мономерной флуоресценции ( $J_9/J_M$ ) при  $\lambda_{_{3M}}=475$  и 373 нм соответственно. Микрополярность анализировали по отношению второго и первого вибрационных пиков ( $F_2/F_1$ ) в спектре флуоресценции мономеров с  $\lambda_{_{3M}}=385$  и 373 нм при длинах волн возбуждения 337 и 286 нм соответственно.

Все полученные результаты были обработаны статистически (Microsoft Excel 2007). Значимость различий в группах оценивали по t-критерию Стьюдента при  $p \le 0.05$  [8]. Предварительно была проведена проверка и установлено нормальное распределение, что и обусловило применение вышеуказанного критерия.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Кооперативность мембран, их способность к генерализованным структурным переходам лежат в основе переключения клеточного метаболизма из одного функционального состояния в другое за счет структурных перестроек в компонентах мембран – липидах и белках [4].

Показано, что обычно биомембраны клеток находятся в жидкокристаллическом состоянии, и поддержание такого состояния очень важно для их функционирования. При переходе мембраны из жидко-кристаллической фазы в фазу геля текучесть уменьшается примерно на два порядка. Структурные и динамические свойства бислоя, находящегося в фазе геля, совершенно несовместимы с организацией и правильным функционированием белковых компонентов в мембране.

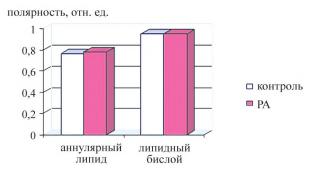
Лимфоциты периферической крови представляют собой доступный объект для изучения процессов мембранной дисфункции, так как они обладают высокой чувствительностью к действию апоптогенных и некрозогенных факторов, являются субстратом иммунного ответа. Также популяция лимфоцитов обладает динамичностью в связи с относительно непродолжительным пребыванием в кровеносной системе.

В работе с помощью флуоресцентного зонда пирена были проведены исследования показателей полярности и микровязкости аннулярного липида и липидного бислоя плазматических мембран лимфоцитов периферической крови и эритроцитов.

Пирен – гидрофобный флуоресцентный зонд, способный встраиваться преимущественно в неполярные области между жирнокислотными цепями фосфолипидов бислоя мембран. В возбужденном состоянии (после поглощения фотона) молекулы пирена сталкиваются с невозбужденными молекулами, объединяясь в долгоживущие ( $10^{-7}$ с) комплексы-эксимеры (димеры, состоящие из одной возбужденной и одной невозбужденной молекулы зонда), испускание квантов у которых смещено в более длинноволновую область по сравнению с мономером [7].

Как известно, важнейшая биологическая функция липидов — построение клеточных мембран. При образовании мембраны молекулы липидов ориентируются полярными группами («головками») наружу, а неполярными углеводородными концами («хвостами») внутрь. Образованный таким образом двойной слой определяет основное свойство мембран — их избирательную проницаемость. Изменения полярности липидного бислоя и аннулярного липида ведет к возможному нарушению их связывания, образованию «пробелов» в мембранах, а также к нарушению выполняемых функций.

Как следует из результатов, представленных на рис. 1, при исследовании показателей полярности аннулярного липида и липидного бислоя плазматических мембран лимфоцитов периферической крови у доноров контрольной группы и пациентов с ревматоидным артритом не было отмечено значимых различий в данных показателях.



*Рис. 1.* Показатели полярности плазматической мембраны (отн. ед.) лимфоцитов периферической крови доноров контрольной группы и пациентов с ревматоидным артритом (PA)

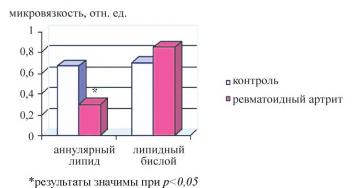
Fig. 1. Indicators of polarity of the plasma membrane (relative units) peripheral blood lymphocytes of donors of the control group and patients with rheumatoid arthritis (RA)

Известно, что для нормального функционирования клетки необходим определенный уровень микровязкости липидного бислоя мембран, который поддерживается путем направленного синтеза фосфолипидов с разным содержанием насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, а также холестерина.

В связи с вышесказанным, были проведен анализ показателей микровязкости различных областей плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови (рис. 2).

В результате проведенного анализа было обнаружено, что микровязкость аннулярного липида плазматической мембраны лимфоцитов у больных с ревматоидным артритом снижается в 2,5 раза по отношению к контрольным значениям у здоровых доноров. Аннулярные липиды составляют пограничный слой липидных молекул, подвижность которых ограничена. Установлено, что их физико-химические характеристики влияют на

функциональное состояние мембраносвязанных белков, причем наибольшая активность белков проявляется в менее вязком липидном окружении. Аннулярные липиды отличаются от липидного бислоя не только подвижностью, но и своим поведением. Белковые молекулы в определенной степени ограничивают подвижность прилипающих к их поверхности липидов, в итоге аннулярный слой в норме оказывается более упорядоченным [4].



Puc. 2. Изменение показателей микровязкости плазматической мембраны (отн. ед.) лимфоцитов периферической крови доноров при ревматоидном артрите (РА) по сравнению с контролем

Fig. 2. Change in the microviscosity of the plasma membrane (relative units) lymphocytes of peripheral blood donors in rheumatoid arthritis (RA) compared with the control

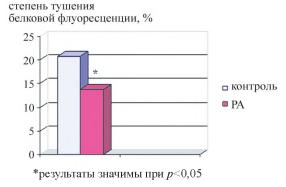
Противоположный характер изменения был отмечен при исследовании показателей микровязкости в области общего липидного бислоя. У пациентов с ревматоидным артритом установлено увеличение данного показателя на 25 % по отношению к контрольным значениям.

Наиболее ярким доказательством того, что текучесть, измеряемая с помощью спиновых меток или флуоресцентных зондов, играет важную физиологическую роль, получено в исследованиях по адаптации различных организмов к внешним экстремальным воздействиям. Данные явления наблюдаются чаще всего при изучении термического стресса, когда микроорганизмы, растения, пойкилотермные или зимующие животные подвергаются воздействию низких температур. Адаптация заключаются в изменении липидного состава мембран, в увеличении содержания ненасыщенных липидов и уменьшении длины ацильной цепи. Подобные изменения ведут к уменьшению плотности упаковки липидов в мембране и, таким образом, поддерживают текучесть мембраны. Текучесть мембран может быть критичной для одной или более мембранных функций, но каков механизм на молекулярном уровне — неизвестно [4].

Можно предположить, что обнаруженные изменения физико-химического состояния липидного компонента мембран лимфоцитов, в частности показателей микровязкости, могут сказаться и на состоянии их белкового компонента и отразиться на спектральных характеристиках их триптофановых остатков. Тушение флуоресценции мембранных белков происходит тогда, когда триптофаны контактируют с липидной фазой. Для каждого белка характерна определенная величина предельного тушения, отражающая стерическую доступность триптофанов для тушителя. Кроме того, тушение (или напротив – возгорание флуоресценции) может возникать в том случае, когда добавленное вещество, связываясь с белком, изменяет его конформацию. Среди водорастворимых белков особенно высоким сродством к красителям обладает бычий сывороточный альбумин, имеющий большой гидрофобный «карман». Этот белок имеет два триптофана, один из которых спрятан внутрь, а другой находится близко к поверхности. При тушении наблюдается снижение т (в случае тушения пиреном – с 5,4 до 3,8 нс). В использованных концентрациях красители не нарушают структуру белка [4].

Эффективными тушителями в отношении альбумина являются анионные красители, а также незаряженный пирен. Тушение имеет место даже в отсутствии заметного перекрывания спектров. В ходе тушения не обязательно возникает сенсибилизированная флуоресценция красителя. Динамическая дезактивация успешно конкурирует с резонансным переносом. Следовательно, величину тушения нельзя отождествлять с величиной резонансного переноса. В связи с этим был проведен анализ степени тушения триптофановой флуоресценции пиреном у исследуемых групп пациентов (рис. 3).

Как следует из рис. 3, величина степени тушения триптофановой флуоресценции пиреном у пациентов с ревматоидным артритом снижается приблизительно на 35 % по отношению к контролю. Установленное изменение данного показателя может свидетельствовать о более плотной упаковке липидов, а также о более высокой степени контакта белков с липидами гидрофобной зоны в мембранах контрольных проб. В то же время наблюдаемое снижение степени тушения триптофановой флуоресценции пиреном в мембранах пациентов с ревматоидным артритом может быть связано как с процессами диссоциации или перестройками в молекулах белков, так и с погружением их в липидный бислой [7].



Puc. 3. Влияние ревматоидного артрита на показатели степени тушения белковой флуоресценции (в %) плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови доноров

Fig. 3. Effect of rheumatoid arthritis on the degree of stewing of protein fluorescence (in %) plasma membrane of peripheral blood lymphocytes of donors

Можно предположить, что установленное изменение динамического состояния мембран лимфоцитов может повлечь за собой изменение активности мембраносвязанных ферментов, нарушить функционирование мембранных транспортных и сигнальных систем, рецепцию различных соединений, межклеточные и адгезивные взаимодействия мембран клеток, отвечающих за иммунные реакции организма.

В исследовании проведен сравнительный анализ структурного состояния мембран эритроцитов здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом, так как эритроциты являются высокоспециализированными клетками, основной функцией которых является перенос кислорода из легких к тканям тела и транспорт диоксида углерода (CO<sub>2</sub>) в обратном направлении (см. таблицу).

### Физико-химические характеристики структурного состояния мембран эритроцитов здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом

### Physical and chemical characteristics of the structural state of erythrocyte membranes of healthy donors and patients with rheumatoid arthritis

Показатель	Полярност	гь, отн. ед.	Микровязко	сть, отн. ед.	Степень тушения	
Группы	липидного бислоя	аннулярного липида	липидного бислоя	аннулярного липида	триптофановой флуоресценции, %	
Доноры контрольной группы	$0,82 \pm 0,03$	$0,76 \pm 0,02$	$0,42 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,01$	$30 \pm 3,25$	
Пациенты с ревматоидным артритом	$0,85 \pm 0,08$	$0,77 \pm 0,13$	$0,38 \pm 0,16$	$0,24 \pm 0,12$	27 ± 1,14	

Как следует из данных, представленных в табл., в ходе проведенного исследования не было обнаружено значимых различий исследуемых показателей. Можно предположить, что это связано с особенностями структурной и функциональной организации данных клеток, в частности отсутствием в эритроцитах межклеточных сочленений и других внутриклеточных образований.

Так, эритроциты млекопитающих, лишенные в зрелом состоянии ядра и органелл и имеющие форму двояковогнутого диска, обусловливающую высокое отношение площади к объему, — это высокоспециализированные клетки, основной функцией которых является перенос кислорода из легких к тканям тела и транспорт диоксида углерода (СО<sub>2</sub>) в обратном направлении. Можно предположить, что особенности строения цитоскелета и клеточной мембраны позволяют эритроцитам претерпевать значительные деформации и восстанавливать форму и функции, что также облегчает газообмен [9].

Согласно данным, полученным в ходе исследования, можно предположить, что при системных заболеваниях, в частности, при ревматоидном артрите, происходят изменения структуры и свойств биологических мембран клеток организма. При патологическом состоянии в мембранах лимфоцитов наблюдается нарушение микровязкости липидов на разной глубине липидного бислоя мембран, которое может сопровождаться модификацией структурно-функционального состояния мембранных белков. Данная реакция, по-видимому, имеет неспецифический характер, так как проявляется и при других заболеваниях (например, ИБС, атеросклероз и т. д.). Установлено значительное снижение текучести плазматических мембран в зонах белок-липидных контактов по сравнению с реакцией в липидном бислое. В ряде случаев степень выраженности изменений текучести плазматических мембран клеток крови была взаимосвязана с тяжестью течения заболевания. В отдельных работах зафиксировано изменение поверхностного заряда

плазматических мембран лимфоцитов с положительного на отрицательный, что свидетельствует об гиперполяризации мембран. Микровязкость (текучесть) мембраны сильно влияет на ее функционирование. При увеличении текучести мембрана становиться более проницаемой для воды и других малых гидрофильных молекул, растет скорость латеральной диффузии интегральных белков, что может привести к значительному изменению скорости метаболизма клетки [4].

#### Заключение

В исследованиях последних десятилетий установлена высокая корреляция между изменениями свойств мембран форменных элементов крови и характеристиками гомеостаза клеток внутренних органов. Наблюдаемое в работе изменение физико-химического состояния липидного матрикса мембран лимфоцитов обусловливает переход данных клеток на новый метаболический уровень и отражает дефектность иммунной системы у больных с ревматоидным артритом. Показанное в исследовании повышение вязкости плазматической мембраны может приводить к нарушению связей между клетками, развитию микроциркуляторной и иммунной дисфункции, что утяжеляет состояние больных с ревматоидным артритом.

Ревматические заболевания, констатируют медики, являются одной из основных причин временных и постоянных потерь трудоспособности. Еще одним важным аспектом, подчеркивающим значимость таких болезней для общества, является их негативное влияние на качество жизни больного человека.

Так как ревматоидный артрит – хроническое заболевание, значит оно может продолжаться в течение многих лет. Долгое время пациенты могут и не испытывать симптомов. Однако ревматоидный артрит – прогрессирующая болезнь, которая имеет потенциал причинять значительное разрушение, а затем приводить к инвалидности. Лечение данной патологии сосредотачивается в основном на облегчении боли, замедлении развития заболевания и восстановлении повреждений с помощью хирургического вмешательства. В связи с этим особое значение приобретает раннее обнаружение данной патологии с помощью современных средств и методов диагностики, что значительно сократит негативное воздействие, которое может быть нанесено суставам, другим органам человека и тканям организма.

#### Библиографические ссылки

- 1. Алехин АИ, Денисов ЛН, Исаев ЛР и др. Аэрокриотерапия в современной медицине. Москва: [б. и.]; 2002. 287 с.
- 2. Насонов Е.Л., редактор. Клинические рекомендации. Ревматологи. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2006. 288 с.
- 3. Насонов ЕЛ, Каратеев ДЕ, Чичасова НВ, Чемерис НА. Современные стандарты фармакотерапии ревматоидного артрита. Клиническая фармакология и терапия. 2005;14(1):72–75.
  - 4. Болдырев АА, Кяйвяряйнен ЕИ, Илюха ВА. Биомембранология. Петрозаводск: Кар НЦ РАН; 2006. 226 с.
  - 5. Клаус Дж. редактор. Лимфоципы. Методы. Москва: Мир., 1990. 400 с.
- 6. Заводник ИБ, Пилецкая ТП, Степуро ИИ. Осмотический и механический лизис эритроцитов человека. Биологические мембраны. 1995;12(4):400-407.
  - 7. Добрецов ГЕ, Владимиров ЮА. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. Москва: Наука; 1980. 320 с.
  - 8. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва: Практика; 1998. 459 с.
- 9. Морозова ВТ, Луговская СА, Почтарь МЕ. Эритроциты: структура, функции, клинико-диагностическое значения. Клиническая лабораторная диагностика. 2007;10:21-35.

#### References

- 1. Alekhine AI, Denisov LN, Isaev LR, et al. Aerokrioterapiya v sovremennov medicine [Aerocryotherapy in modern medicine]. Moscow: [publisher unknown]; 2002. 287 p. Russian.
- 2. Nasonova EL. Klinicheskiye rekomendacii. Revmatologiya [Clinical recommendations. Rheumatology]. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. 288 p. Russian.
- 3. Nasonov EL, Karateev DE, Chichasova NV, Chemeris NA. Modern standards of pharmacotherapy of rheumatoid arthritis. Clinical pharmacology and therapy2005;14(1):72-75. Russian.
  - 4. Boldyrev AA, Käiväräinen EI, Ilyukha VA. Biomembranologiya [Biomembranology]. Petrozavodsk: Kar NC RAS; 2006. 226 p. Russian.
  - 5. Claus J, editor. Limfotsity. Metody [Lymphocytes. Methods]. Moscow: Mir; 1990. 400 p. Russian.
- 6. Zavodnik IB, Piletska TP, Stepuro II. Osmotic and mechanical lysis of human erythrocytes. *Biologist. Membrane*. 1995;12(4):400–407. Russian.
  7. Dobretsov GE, Vladimirov YuA. *Fluorestsentnyye zondy v issledovanii biologicheskikh membran* [Fluorescent probes in the study
- of biological membranes]. Moscow: Nauka; 1980. 320 p. Russian.
  - 8. Glantz S. Mediko-biologicheskaya statistika [Medico-biological statistics]. Moscow: Practika; 1998. 459 p. Russian.
- 9. Morozova VT, Lugovskaya SA, Pochtar ME. Erythrocytes: structure, functions, clinical and diagnostic values. Clinical laboratory diagnostics. 2007;10:21-35. Russian.

Статья поступила в редколлегию 26.07.2021. Received by editorial board 26.07.2021. УДК 616.34-002:612.017.1

# СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА

А. Дж. МОХАММЕД<sup>1)</sup>, Д. Б. НИЖЕГОРОДОВА<sup>1), 2)</sup>, А. В. ВОРОБЕЙ<sup>2)</sup>, А. М. СТАРОСТИН<sup>2)</sup>, М. М. ЗАФРАНСКАЯ<sup>1), 2)</sup>

<sup>1)</sup>Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь <sup>2)</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, ул. Петруся Бровки, 3, корпус 3, 220013, г. Минск, Беларусь

Болезнь Крона представляет собой аутоиммунное воспалительное заболевание кишечника, характеризующееся развитием хронического рецидивно-ремиттирующего воспаления, преимущественно в терминальных отделах тонкой кишки и толстой кишке, в результате генетической предрасположенности или действия факторов окружающей среды. Иммунопатогенез болезни Крона ассоциируется с нарушением бактериального клиренса и изменением иммунологических показателей, что приводит к дисбалансу экосистемы желудочно-кишечного тракта, сформированной микробиомом и такими неживыми компонентами, как слизь, пищевые метаболиты или добавки. Важную роль в мукозальном иммунитете играют интраэпителиальные лимфоциты желудочно-кишечного тракта, фенотип и функциональный профиль которых во многом определяется составом микробиома и воздействием на него различных экологических факторов (диета, курение, сезонные изменения, загрязнение воздуха, гигиена и др.). В данном исследовании у пациентов с болезнью Крона установлены фенотипические изменения интраэпителиальных лимфоцитов тонкой и толстой кишки и клинико-морфологическими показателями. Полученные данные могут являться биомаркером иммунного воспаления в желудочно-кишечном тракте и позволяют рассматривать интраэпителиальные лимфоциты в качестве терапевтической мишени при иммунорегуляции адаптивного мукозального иммунного ответа на аутоантигены.

*Ключевые слова:* экосистема; интраэпителиальные лимфоциты; факторы окружающей среды; проточная цитофлуориметрия; болезнь Крона; аутоиммунное воспаление.

### Образец цитирования:

Мохаммед АДж, Нижегородова ДБ, Воробей АВ, Старостин АМ, Зафранская ММ. Субпопуляционный состав инграэпителиальных лимфоцитов у пациентов с болезнью Крона. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:73–81 (на англ.).

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-73-81

### For citation:

Mohammad A.J., Nizheharodava DB, Varabei AV, Starastsin AM, Zafranskaya MM. Intraepithelial lymphocytes subsets in Crohn's disease patients. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:73–81.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-73-81

### Авторы:

Али Джассим Мохаммед – магистрант кафедры иммуно-

Дарья Борисовна Нижегородова — кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры иммунологии; ведущий научный согрудник огдела иммунологии и биомедицинских гехнологий научно-исследовательской лаборатории. Александр Владимирович Воробей — доктор медишинских наук, профессор; член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси; заведующий кафедрой хирургии.

Андрей Михайлович Старостин – аспирант кафедры хирургии.

Марина Михайловна Зафранская — доктор медишинских наук, доцент; заведующий кафедрой иммунологии; главный научный согрудник отдела иммунологии и биомедицинских гехнологий научно-исследовательской лаборатории.

### Authors:

Ali J. Mohammad, master's student at the department of immunology.

alijassim419@gmail.com

**Darya B.** Nizheharodava, PhD (biology), docent; associate professor at the department of immunology; leading researcher at the department of immunology and biomedicine technology of scientific research laborartory.

nzh@tut.by

Alexander V. Varabei, doctor of science (medicine), full professor; corresponding member of National Academy of Sciences of Belarus; head of the department of surgery.

dept-surg@hotmail.com

Andrey M. Starastsin, postgraduate student at the department of surgery.

bio\_star@mail.ru

**Marina M. Zafranskaya**, doctor of science (medicine), docent, head of the department of immunology; chief researcher at the department of immunology and biomedicine technology, scientific research laboratory.

zafranskaya@gmail.com

# INTRAEPITHELIAL LYMPHOCYTES SUBSETS IN CROHN'S DISEASE PATIENTS

A. J. MOHAMMADa, D. B. NIZHEHARODAVAab, A. V. VARABEIb, A. M. STARASTSINb, M. M. ZAFRANSKAYAab

<sup>a</sup>International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University, 23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

<sup>b</sup>Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, 3 Petrusia Broŭki Street, 3 building, Minsk 220013, Belarus

Corresponding author: D. B. Nizheharodava (nzh@tut.by)

Crohn's disease is an autoimmune inflammatory bowel disease characterized with the chronic relapsing-remitting inflammation, mainly in the terminal parts of the small intestine and colon, as a result of a genetic predisposition or environmental factors influence. It is associated with impaired bacterial clearance and changes in immunological parameters what resulted in disruption of the gastrointestinal tract ecosystem, formed by the microbiome and non-living components such as mucus, food metabolites or additives. Intraepithelial lymphocytes of the gastrointestinal tract play an important role in mucosal immunity and their phenotype and functional profile is largely determined by the microbiome composition and environmental factors affecting it (diet, smoking, seasonal changes, air pollution, hygiene, etc.). In this investigation the changes in intraepithelial lymphocytes phenotype of small and large intestine were shown in patient with Crohn's disease as well as the correlation of intraepithelial lymphocytes phenotype with clinical data was established. Obtained data may be used as a hallmark of immune inflammation in the gut and make intraepithelial lymphocytes as ideal candidate for targeting in further immunoregulation of mucosal adaptive immune response against autoantigens.

*Keywords:* ecosystem; intraepithelial lymphocytes; environmental factors; flow cytometry; Crohn's disease; autoimmune inflammation.

# Introduction

The human gut can be considered an ecosystem comprised of microbes community and nonliving components such as mucus, food metabolites or food additives, and inflammatory bowel diseases (IBD) are increasingly associated with disruption of this ecosystem. Crohn's disease (CD) is a one of chronic autoimmune inflammatory diseases of the gastrointestinal tract refers to IBD and is characterized by an uncontrolled adaptive immune response against intestinal bacteria. Nearly 5 million individuals worldwide suffer from IBD, and the prevalence of disease continues to increase up to 70.000 new diagnoses each year [1].

Current investigations indicate that the etiology of IBD is multifactorial, with environmental, microbial, genetic, and immunological components contributing to the pathophysiology of disease. However, genetics explains a small fraction of risk, and the external environment plays a large and important role in disease pathogenesis. Environmental risk factors include childhood hygiene, air pollution, breastfeeding, smoking, diet, stress, exercise, seasonal variation, and appendectomy which may result in imbalance between regulatory and cytolytic effector lymphoid cells within the epithelium following a dysregulation of mucosal immunity, disturbances in composition of the intestinal microbiota and the generation of a pro-inflammatory microenvironment in IBD. The epithelial cytolysis leads to ulceration, allowing bacterial invasion of the mucosae and enhanced T-cell activation, along with the reduction in regulatory cells amplifying the pro-inflammatory immune response [2].

A basic principle of ecological restoration is that an ecosystem cannot be repaired until the underlying disturbance causing degradation has been removed. One of candidate for therapeutic target is intestinal intraepithelial lymphocytes (IELs) – a heterogeneous population of lymphoid cells, which localizes between the intestinal epithelial cells that form the intestinal mucosal barrier. The tissue-resident intraepithelial T-lymphocytes compartment is shaped by the local environment (oral antigen, microbial signals, region-specific cell–cell interactions) as can be appreciated by the different proportion of various cell subsets between the small and large intestine in human. The small intestine contains at least ten times more IELs than the colon. The classification of IELs includes two main subtypes: "induced" IELs that are phenotypically similar to conventional memory effector T cells and innate-like "natural" IELs that exhibit regulatory functions. Once IELs traffic to the intestine, these cells become tissue resident and do not recirculate [3; 4].

The location of IELs between epithelial cells, their effector memory, cytolytic and inflammatory phenotype, and their ability to destroy infected epithelial cells position them to kill infected epithelial cells and protect the intestine from pathogens. But IELs activation status and their close localization to the intestinal epithelium suggest that these cells may be involved into immunopathological responses and initiate or exacerbate IBD or promote cancer development and progression [5].

Nowadays there are limited data for a role of IELs in IBD. The conflicting results were reported: from the protective function of intestinal epithelium's barrier up to the contribution to gastrointestinal inflammation and

disease development [6]. So the data about IELs phenotype and functional characteristics as well as their role in preventing or reducing susceptibility to IBD remain under investigations.

In this article IELs subsets are detailed characterized in CD patients and their correlation with clinical and morphological features of disease are described what makes IELs as ideal candidate for immunobiomarker of autoimmune intestinal inflammation as well as potential target for further immunoregulation of mucosal adaptive immune response against autoantigens.

# Materials and methods

Samples of peripheral venous blood as well as small intestine and colon mucosae tissue were obtained from CD patients (n=7) hospitalized in Minsk regional clinical hospital (Republic of Belarus) and healthy donors (control group, n=5) of the same age and gender ratio during scheduled surgeries. The clinical and demographic characteristics of investigated groups and materials are presented in the table 1.

Table 1

Clinical and demographic characteristics of investigated groups

Groups	n	Age, y.o.	Gender, m/f	Tissue sample size, cm <sup>2</sup>	Disease duration, years	Disease severity
CD patients	7	31.0 (26.0–54.0)	5/2	20.7 (10.0–57.5)	5.0 (1.0–10.0)	A2L1-2B1-3P0-1
Healthy donors	5	30.0 (28.0–47.0)	3/2	23.5 (8.0–49.9)	_	-

The diagnosis was confirmed by histological examination of the tissue sample. Disease severity was established according to the Montreal classification of inflammatory bowel disease (ALBP) [7] presented in the table 2.

The Montreal classification of inflammatory bowel disease

Grade	Age of diagnosis (A)	Location (L)	Behaviour (B)	Perianal disease (P)
1	A1 – below 16 y. o.	L1 – ileal	B1 – non-stricturing, non-penetrating	
2	A2 – between 17 and 40 y. o.	L2 – colonic	B2 – stricturing	concomitant perianal
3	A3 – above 40 y. o.	L3 – ileocolonic	B3 – penetrating	disease is present
4		L4 – isolated upper disease		

Samples collection procedure. Peripheral venous blood specimens and human tissues were obtained after patients or donors provided informed consent. Peripheral venous blood was collected aseptically by venipuncture into a blood collection tubes with anticoagulant (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA). Mucosa specimens from patients with Crohn's disease or donors were obtained from electively scheduled surgical resections. Tissue samples (small intestine or colon) were collected from the macroscopically least involved area of the mucosa. In all cases, diagnosis of Crohn's disease was confirmed by histopathological examination of the resected specimen. None of the patients was taking steroids or other immunosuppressive drugs at the time of the operation. Control specimens were obtained from patients undergoing surgery for large and small intestine.

*IELs isolation method.* IELs were isolated by a modification of a described protocol [8]. The specimens were cut into 1–5 mm<sup>2</sup> fragments and incubated for 1 h under intense shaking: the mucosal fragments were placed inside a 50 ml tube with culture medium RPMI 1640 (Gibco, Germany) contained 1 mM dithiothreitol and 1 mM EDTA (Sigma, Germany) supplemented with 10 % fetal calf serum (FCS) and antibiotic-antimycotic mixture (Gibco, Germany). The scheme of protocol steps presented at the fig. 1.

A single cell suspension was obtained by filtering through a 70 mm sterile filter (Carl Roth, Germany), washed in saline and layered onto 40–60 % Percoll gradient (Sigma, Germany). The gradients were spun at 1900 rpm for 30 min. The cell fraction between 40–60 % Percoll was the most enriched for IELs. The IELs layer was transferred to a new tube, diluted to 50 ml with saline, spun at 400 g for 8 min at RT, washed twice more with 50 ml saline, and counted.

Table 2

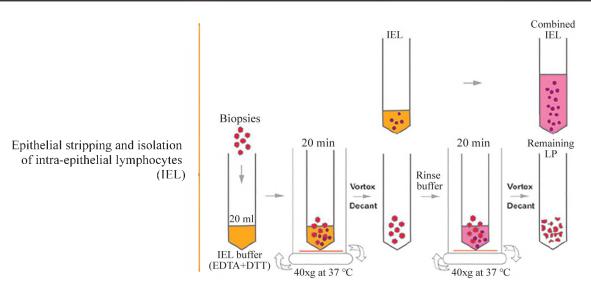


Fig. 1. IEL isolation scheme [8]

Flow cytometry method. Flow cytometry method was used for IELs viability assessment as well as characterization of surface markers expression on IELs. To assess cells apoptosis or necrosis IELs were labeled with Annexin A5-FITC/7AAD kit (Beckman Coulter, Germany) for 15 min at RT in HEPES-Ca<sup>2+</sup> buffer. For the detection of apoptotic cells cell suspension was washed with ice-cold culture medium and centrifuged for 5 minutes at  $500 \times g$  at 4 °C. Then supernatants were discarded, and cell pellets were resuspended in ice-cold 1× Binding Buffer to  $5 \times 10^6 - 10 \times 10^6$  cells/ml. Tubes were kept on ice. 10 μL of Annexin A5-FITC solution and  $20 \mu$ L of 7-AAD Viability Dye were added to  $100 \mu$ L of the cell suspensions in the tubes and mixed gently. Tubes were kept on ice and incubated for 15 minutes in the dark. Then  $400 \mu$ L of ice-cold 1× Binding Buffer was added and mixed gently. Cells were analyzed within 30 minutes. Flow cytometry analysis of alive, apoptotic and necrotic IELs was done using biparametric histogram LOG FL1 (525nm) vs LOG FL4 (675nm) shows four distinct populations: the viable cells which have negative FITC and 7-AAD signal; the apoptotic cells which have a positive FITC and a negative 7-AAD signal; the secondary necrotic cells which have positive FITC and 7-AAD signal; the damaged viable cells with a negative FITC and a positive 7-AAD signal.

For immunophenotyping,  $2\times10^5$  IELs were stained with 10 µl of CYTO-STAT tetra CHROME monoclonal antibodies panels (CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 or CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5, Beckman Coulter, USA) and incubated at 20–25 °C for 15 min in the dark. CD161-PB antibody was used also for NK-cells identification;  $\gamma\delta$ TCR-PC7 antibody was used for  $\gamma\delta$ T-cells identification. Red blood cells were lysed with the VersaLyse Solution (Beckman Coulter, USA). The aliveness and the phenotype were measured on 10 000 IELs using flow cytometer Cytoflex (Beckman Coulter, USA). The algorithm of lymphoid cells analysis is presented at fig. 2.

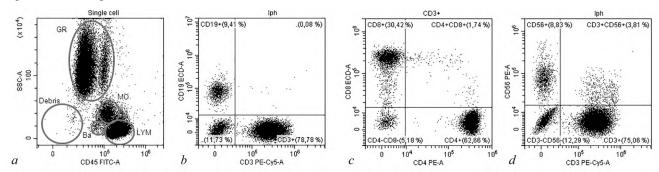


Fig. 2. The algorithm of lymphoid cells analysis: a – lymphocytes population, b – CD3<sup>+</sup>T-cells and CD19<sup>+</sup>B-cells, c – CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T-helpers and cytotoxic CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T-cells, d – CD3<sup>+</sup>T-cells and CD56<sup>+</sup>NK-cells. LYM – lymphocytes, GR – granulocytes, MO – monocytes, BA – basophiles.

According to the fig. 2, the gate (a) includes the lymphocytes which have bright CD45<sup>+</sup> FITC fluorescence and low SS (fig. 2 a). In this analysis, priority is given to including all lymphocytes while monocytes (lower CD4 expression and intermediate SS) and basophils (lower CD45 and low SS) were excluded as much as possible. The region boundaries were set on the two parameter histograms (plots) to bracket the double negative

populations (CD3<sup>-</sup>CD19<sup>-</sup> and CD3<sup>-</sup>CD56<sup>-</sup>) and to tightly encompass the CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup> and CD3<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup> populations as illustrated in fig. 2 *b*. The next region (fig. 2 *c*) boundaries were set on the two parameter histograms (plots) to bracket the double negative populations (CD3<sup>-</sup>CD4<sup>-</sup> and CD3<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>) and to tightly encompass the CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup> and CD3<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> populations as illustrated in fig. 2 *d*.

Statistical method. Statistical analysis was made using Statistica 8.0 software. The data did not correspond to the normal distribution (Shapiro-Wilk W test) and nonparametric methods were used for statistical analysis. The median and interquartile intervals (25 and 75 % percentiles) were used as descriptive statistic. The Mann-Whitney U test was used to compare two independent groups. Differences were considered statistically significant at p < 0.05. The correlation between the parameters was determined by the Spearman rank method and was presented as coefficient of correlation (R).

# Results and discussion

The characteristics of isolated from gut tissues IELs number in Crohn's disease patients. For IELs isolation the gut tissue was rinsed by manually shaking, followed by removal of the muscular layer using scissors. The mucosal layer separation step is presented at fig. 3.

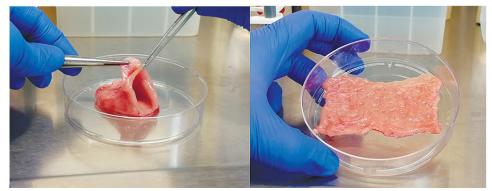


Fig. 3. The mucosal layer separation step from colon of healthy donor

To determine cell yield per cm<sup>2</sup>, the size of the mucosal tissue was measured after removal of the muscular layer. The data are presented in the table 3.

The tissue sample size and cell number per cm<sup>2</sup> in investigated groups

Table 3

Groups The part of gut Tissue sam		Tissue sample size, cm <sup>2</sup>	The number of isolated IELs, $\times 10^6$	IELs number (×10 <sup>6</sup> ) per cm <sup>2</sup>
CD nationts	Small intestine	17.50 (10.00–21.00)	24.50** (4.5–34.0)	1.10** (0.50-1.94)
CD patients	Large intestine	12.75 (10.10–40.00)	12.05* (8.0–52.0)	0.92* (0.37–1.30)
Donors	Small intestine	14.62 (9.80–18.50)	3.80 (2.50–5.90)	0.26 (0.10-0.54)
Donois	Large intestine	8.47 (3.20–13.75)	7.65 (0.90–14.40)	0.25 (0.06–0.45)

Note. \*\*p<0.01; \*p<0.05; significances are indicated as compared to healthy donors.

After isolation, IELs quantity from CD patients small  $(24.50 (4.50 \div 34.00) \times 10^6)$  and large  $(12.05 (8.00 \div 52.00) \times 10^6)$  intestine were higher than from healthy donors  $(3.80 (2.50 \div 5.90) \times 10^6)$  and  $(2.50 \div 5.90) \times 10^6$  and  $(2.50 \div 5.90) \times 10^6)$  as well as cells numbers per tissue cm<sup>2</sup>:  $(1.10 \times 10^6)$ cm<sup>2</sup> and  $(2.50 \times 10^6)$ cm<sup>2</sup> – in small and large intestine of CD patients and  $(2.50 \times 10^6)$ cm<sup>2</sup> and  $(2.50 \times 10^6)$ cm<sup>2</sup> – in donors, respectively,  $(2.50 \times 10^6)$ cm<sup>2</sup> – in donors, res

The viability of intestinal IELs in Crohn's disease patients. The investigation of IELs viability after isolation in the both samples revealed that majority of cells was alive cells (92.1 % in CD patients and 95,8 % in healthy donors). For the determination of cell death types, IELs were stained with Annexin V conjugated to a fluorophore (phosphatidylserine externalization marker) and 7-amino-actinomycin D (7-AAD) that can only enter cells with compromised membranes (membrane integrity impairment dye). It is known that during apoptosis, a general view of cellular events involves the activation of caspases, programmed destruction of protein and DNA, loss of cell membrane asymmetry (external leaflet exposure of phosphatidylserine), and eventual loss of the integrity

of the plasma membrane [9]. The results of IELs viability and death types in investigated groups are presented in the table 4.

IELs viability and death types (%) in investigated groups

Table 4

Cells viability/death type	Phenotype	IELs number, %		
Cens viability/death type	1 Heliotype	CD patients	Donors	
Alive	Annexin V <sup>-</sup> 7AAD <sup>-</sup>	94.82 (92.35–97.02)	94.02 (90.08–96.43)	
Primary apoptosis	Annexin V⁺7AAD⁻	2.35 (2.02–4.48)	3.58 (2.59–4.00)	
Secondary apoptosis	Annexin V <sup>+</sup> 7AAD <sup>+</sup>	0.71 (0.38–1.23)	0.56 (0.27–0.88)	
Necrosis	Annexin V <sup>-</sup> 7AAD <sup>+</sup>	2.12* (1.58–4.71)	1.84 (0.86–2.05)	

Note. \*p<0.05; significances are indicated as compared to healthy donors.

The investigation of IELs viability after isolation in the both groups revealed that majority of cells was Annexin  $A5^-7AAD^-$  corresponding to alive cells (94.02 % in CD patients and 94.82 % in healthy donors). Meanwhile, the analysis of dead cells among IELs in CD patients showed the equal numbers of Annexin  $V^+7AAD^-$  primary apoptotic cells (2.35 %) and Annexin  $V^-7AAD^+$  necrotic cells (2.12 %) while in healthy donors primary apoptotic cells (3.58 %) were dominated compared to necrotic ones (1.84 %). The percentage of Annexin  $V^+7AAD^+$  secondary apoptotic cells was insignificant and made 0.71 % and 0.56 %, respectively, in CD patients and healthy donors.

The immunophenotype of intestinal IEL in Crohn's disease patients. For the investigation of IELs immunophenotype and their subsets the expression of T-, B- and NK-lymphoid cell markers were analyzed in cell suspension from small and large intestine in CD patients and healthy donors. The results of IELs phenotype using four-color flow cytometry analysis are presented in the table 5.

Table 5

IELs subsets (%) in Crohn's disease patients and healthy donors

Groups	Gut samples	T-cells	T-helpers	Cytotoxic T-cells	B-cells	NK-cells	γδT-cells
Crohn's	Small intestine	88.5* (85.8–93.9)	13.8 (13.4–31.5)	59.9 (29.8–68.2)	8.6* (6.3–14.2)	11.0 (8.6–13.3)	3,2* (2,8–3,5)
disease	Colon	69.9* (56.3–80.0)	32.9 (11.4–54.6)	49.1 (36.2–62.4)	18.0* (4.1–26.3)	16.9 (11.4–20.9)	12,8* (6,3–19,3)
Healthy	Small intestine	58.9 (58.6–67)	71.4 (70.7–72.1)	29.2 (28.3–30.0)	33.0 (30.4–35.6)	11.6 (10.7–12.5)	8,0 (3,7–13,1)
donors	Colon	50.2 (30.0–70.3)	36.6 (30.7–42.3)	63.8 (60.7–66.9)	44.1 (22.0–66.1)	18.4 (9.4–27.3)	17,4 (16,9–30,5)
p		$p_{1-3} < 0.001$ $p_{2-4} < 0.05$ $p_{3-4} < 0.01$	p <sub>1-3</sub> <0.05	p <sub>1-3</sub> <0.05	$p_{1-3} < 0.05$ $p_{2-4} < 0.01$		$p_{1-3} < 0.05$ $p_{2-4} < 0.05$

Note. \*p<0.05; significances are indicated as compared to healthy donors.

Four-color flow cytometry analysis of IELs showed that cells from CD patient were predominantly consisted of T-lymphocytes (88.5 % – in small intestine and 69.9 % – in large intestine) like in peripheral blood (table 5). But in CD patients the number of CD3 IELs in small and large intestine were increased in 1,5 (p<0.001) and 1,4 times (p<0.05), respectively, as compared to healthy donors. Moreover, CD3 IELs were predominated in small intestine in CD patients (88.5 % versus 69.9 % in large intestine, p<0.01) while nearly equal number of CD3 IELs was detected in ileum (59.2 %) and colon (50.2 %) of healthy donors (table 5).

Moreover, the decrease of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T-helper in small intestine as compared to healthy donors (p < 0.05) with a tendency to increase of CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>cytotoxic T-lymphocytes in small intestine (immunoregulatory ratio = 0.31) were established in CD patients (table 5). It was demonstrated the equal numbers of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T-helper and CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>cytotoxic T-lymphocytes in the colon of CD patients with CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio = 0.76 but the increase of

cytotoxic T-cells IEL compared to T-helper IELs with CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio = 0.57 in healthy donor what corresponded to literature data.

Cytofluorometric investigation of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> $\gamma\delta$ T-cells revealed their decrease among IELs in the gut of CD patients (3.2 % – in small and 12.8 – in the large intestine) compared to healthy donor (8.0 and 17.4 %, respectively, p < 0.05) (table 5).

CD19<sup>+</sup>B-cells were decreased in all gut samples from CD patients as compared to healthy donors (in 3.8 times – in small intestine, p < 0.05, and 2.4 times – in large intestine, p < 0.01). While there were no differences in the percent of neither CD56<sup>+</sup>NK-cells (table 5) nor CD161<sup>+</sup>NK-cells in investigated groups. These results suppose the involvement of T-cells as a major player in the pathogenesis of Crohn's disease.

For the comparative analysis the immunophenotype of peripheral blood lymphoid cells was estimated in Crohn's disease patients and healthy donors. The total number of lymphoid cells subsets in peripheral blood of CD patients and donors are presented in table 6.

Lymphoid cells subsets (%) in peripheral blood of CD patients and donors

Table	6	

Groups	T-cells	T-helpers	Cytotoxic T-cells	B-cells	NK-cells	γδT-cells
Crohn's disease	68.2 (66.2–84.9)	60.1 (52.3–65.5)	33.4 (25.3–35.9)	12.7 (5.1–14.6)	12.8 (9.2–17.9)	8.5* (1.6–17.1)
Healthy donors	74.5 (70.0–79.0)	64.0 (55.1–73.0)	33.0 (31.0–35.0)	9.7 (9.4–10.0)	13.2 (12.4–14.0)	2.3 (1.9–2.8)

Note. \*p<0.05; significances are indicated as compared to healthy donors.

The CD3<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T-helpers had tendency to decrease in CD patients as compare to healthy donors, at the same time there is no difference in cytotoxic CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T- and NK-cells in investigated groups, while there was the tendency to elevation of CD19<sup>+</sup>B cells and the significant increase of  $\gamma\delta$ T-cells in CD patients as compare to healthy donors.

According to literature data Crohn's disease are also generally thought to be driven by aberrant CD4<sup>+</sup>IELs responses directed against the intestinal microbiota, aberrant differentiation and/or functions as major contributing factors to immunopathology at mucosal sites. Probably, the established decrease of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T-helper in small intestine may be explained by apoptotic cell death as result of hyper stimulation and activation. Perhaps the most significant detrimental effect of CD4<sup>+</sup> IELs is their ability, in conjunction with CD4<sup>+</sup> T cells in the *lamina propria*, to promote the development of small intestinal inflammation in patients with IBD [10]. Although both Crohn's disease and ulcerative colitis share some important end-stage pathways of tissue damage, they represent immunologically different diseases with distinct effector CD4<sup>+</sup>T-cell types involved. Crohn's disease is considered to be a classical Th1-cell-mediated inflammatory disorder that is characterized by elevated levels of IFNγ and IL-12. However, the more recent findings that inflamed colons from both mouse models and patients with Crohn's disease show considerable Th17 cell infiltrates, suggests a more complex disorder. In addition, IL-23, which promotes Th17 cell responses, seems to be a major player in IBD pathogenesis and genome-wide association studies in humans defined IL-23R as one of the major IBD susceptibility genes. Recent studies have also pointed to roles for thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and the IL-17 family member IL-25 in the induction of CD4<sup>+</sup>T cell-driven intestinal inflammation [11].

In humans, CD8<sup>+</sup>IELs closely resemble systemic effector memory cells and exhibit cytolytic activity. It is thought that the intestinal microenvironment conditions CD8<sup>+</sup>IELs to respond to non-classical major histocompatibility complex (MHC) class I molecules through the activation of natural killer receptors. These MHC class I ligands are upregulated in response to epithelial stress, infection or inflammation. Instead, it is thought the activation of antigen-specific conventional CD8 $\alpha$ β<sup>+</sup>TCR $\alpha$ β<sup>+</sup> IELs or recognition of epithelial stress ligands by these cells induces epithelial cytolysis. Animal studies suggest that autoreactivity is primarily a characteristic associated with the naturally occurring TCR $\alpha$ β<sup>+</sup>CD8 $\alpha$ α<sup>+</sup>IELs subset. This IELs subset was shown to be selected by self-antigens restricted by non-classical and classical MHC class I and II molecules during thymic development. The current line of thought is self-reactive T cells that failed to undergo negative selection are destined to preferentially migrate and expand in the intestine, where they acquire CD8 $\alpha$ α and granzyme. In addition to having an autoreactive TCR, these naturally occurring innate-like lymphocytes express activating NK receptors, that enable them to recognize self-antigens induced under conditions of stress and inflammation. This latter autoreactivity is destined to recognize modifications of self that signal the presence of pathogens and transformed cells [12].

The correlation of IELs subsets immunophenotype and clinical parameters in CD patients. The correlation of the IELs subsets number in small and large intestine as well as peripheral blood lymphocytes and clinical data, such as the Crohn's disease duration, localization and severity was estimated in patients.

The negative correlation was established between the number of CD3<sup>+</sup>T cells in small intestine and the duration of Crohn's disease (R=-0.8, p > 0.05) as well as perianal disease (R=-0.7, p > 0.05), mostly due to cytotoxic CD8<sup>+</sup>T-cells and  $\gamma\delta$ T-cells (table 7). All T-cells subsets with killer activity (CTL,  $\gamma\delta$ T-cells and NK-cells) also inversely correlated with disease localization (R=-0.86, p > 0.05). At the same time, the number of T-helpers and B-lymphocytes was positively correlated with disease severity (R=0.94, p < 0.01) and the presence of perianal disease (R=0.70, p < 0.01).

 $Table \ 7$  The coefficient of correlation (R) of IEL subsets in small intestine and clinical parameters in CD patients

Parameter	T-cells	T-helpers	CTL	B-cells	NK-cells	γδT-cells
Age	-0.60	0.20	-0.60	0.60	-0.60	-0.60
Duration	-0.80*	0.40	-0.90*	0.80*	0.00	-0.80**
L	-0.57	0.00	-0.86*	0.57	-0.86*	-0.86*
В	-0.63	0.94**	-0.47	0.63*	-0.47	0.00
P	-0.70*	0.70*	-0.70*	0.70*	-0.70*	-0.35

Note. \*p<0.05; \*\*p<0.01.

In the colon of CD patients the less the number of  $\gamma\delta$ T-cells was the more disease duration (R=-0.90, p<0.05), area of localization (R=-0.87, p<0.05) and perianal disease (R=-0.65, p<0.05) were. The number of NK-cells also was inversely correlated with perianal disease (R=-0.90, p<0.05) (table 8).

Table 8

The coefficient of correlation (R) of IELs subsets in colon and clinical parameters in CD patients

Parameter	T-cells	T-helpers	CTL	B-cells	NK-cells	γδT-cells
Age	0.37	0.37	0.14	0.48	0.08	-0.20
Duration	0.40	0.50	0.20	-0.10	-0.60	-0.90*
L	-0.09	0.48	0.09	-0.09	-0.29	-0.87*
В	0.44	0.17	-0.14	0.08	-0.08	0.17
P	0.39	0.39	-0.13	-0.13	-0.65*	-0.65*

Note. \*p<0.05.

The number of lymphoid cells in peripheral blood was not significantly correlated with clinical parameters of CD patients.

Thus, the T-helpers and B-lymphocytes are involved in effector damage of gut tissue while T-cells subsets with killer activity (CTL,  $\gamma\delta$ T-cells and NK-cells) probably play a protective or immunoregulatory role in CD immunopathogenesis.

# Conclusion

IELs which are located between the epithelial cells of the intestinal mucosa close to the gut lumen have been suggested to be the first lymphocytes to encounter luminal antigens and therefore play an important role in mucosal immunity as well as in intestinal inflammation. In this article IELs number, viability and immunophenotype subsets were detailed characterized in CD patients. According to the obtained data the next conclusions were formulated:

- 1. The total IELs number is increased in 6,4 times in small intestine (p<0.01) and in 1,6 times in large intestine (p<0.05) of CD patients as compared to healthy donors, what indicates the active involvement of IELs in intestinal inflammation.
- 2. The majority of IELs after isolation from gut are Annexin  $A5^-7AAD^-$  corresponding to alive cells in the both investigated groups (94.02 % in CD patients and 94.82 % in healthy donors) but the number of necrotic IELs among dead cells in CD patients is higher than in healthy donors (p<0.05) reflecting tissue damage process in inflamed gut.

- 3. The changes of IELs subsets in the gut of CD patients are revealed as compared to donors: the number of CD3<sup>+</sup>IELs in small and large intestine are increased in 1,5 (p<0.001) and 1,4 times (p<0.05), respectively, characterizing with the prevailing of CD8<sup>+</sup>IELs in small intestine (immunoregulatory ratio=0.31; p<0.05), while the numbers of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> $\gamma$ 8T-cells (p<0.05) and CD19<sup>+</sup>B-cells (p<0.01) among IELs are decreased in all parts of gut. There are no differences in the percent of NK-cells in investigated groups. These results suppose the involvement of T-cells as a major player in the intestinal inflammation maintenance and CD immunopathogenesis.
- 4. The established positive correlation of T-helpers and B-lymphocytes in small intestine with disease severity (R=0.94, p<0.01) and the presence of perianal disease (R=0.70, p<0.01) reflects the abberant effector T-cells function and indicates the involvement these subsets in the damage of gut tissue while lymphoid cells subsets with killer activity (CTL,  $\gamma\delta$ T-cells and NK-cells) inversely correlated with clinical parameters (R=-0.86, p>0.05) and probably play a protective or immunoregulatory role in CD immunopathogenesis.

# References

- 1. Orr M, Kocurek K, Bakos Y and McDowell R. A restoration ecology perspective on the treatment of inflammatory bowel disease. *Evolution, Medicine, and Public Health.* 2019;217–220. DOI:10.1093/emph/eoz031.
- 2. Guan Q. A Comprehensive review and update on the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Journal of Immunology Research*. 2019; article ID7247238. DOI: 10.1155/2019/7247238.
- 3. Van Kaer L and Olivares-Villagómez D. Developments, homeostasis and functions of intestinal intraepithelial lymphocytes. *Journal Immunology*, 2018;200:2235–2244. DOI: 10.4049/jimmunol.1701704.
- 4. Sumida H. Dynamics and clinical significance of intestinal intraepithelial lymphocytes. *Immunological Medicine*. 2019;42(3):117–12. DOI: 10.1080/25785826.2019.1658516.
- 5. Hu MD and Edelblum KL. Sentinels at the frontline: the role of intraepithelial lymphocytes in inflammatory bowel disease. Current Pharmacology Reports. 2017;23(1):321–334. DOI:10.1007/s40495-017-0105-2.
- 6. Cheroute H, Lambolez F, Mucida D. The light and dark sides of intestinal intraepithelial lymphocytes. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(7):445–456. DOI:10.1038/nri3007.
- 7. Satsangi J. Silverberg MS, Vermeire S. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut.* 2006;55(6):749–753.
- 8. Trapecare M, Khan S, Roan N, et al. An optimized and validated method for isolation and characterization of lymphocytes from HIV+ human gut biopsies. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2017;33(S1):31–39. DOI:10.1089/aid.2017.0208.
  - 9. Green D. Apoptosis and other cell death mechanisms. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2011:645-657.
- 10. Zhou C, Qiu Y and Yang H. CD4CD8aa IELs: they have something to say. Frontiers in Immunology. 2019;10:2269. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02269.
- 11. Mayassi T and Jabri B. Human intraepithelial lymphocytes. *Mucosal Immunology*. 2018;11(5):1281–1289. DOI:10.1038/s41385-018-0016-5.
- 12. De Souza H and Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*. 2016;13:13–27. DOI:10.1038/nrgastro.2016.186.

Статья поступила в редколлегию 25.07.2021. Received by editorial board 25.07.2021. УДК 616.611-002

# ХАРАКТЕРИСТИКА γδΤ-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ІдА-НЕФРОПАТИЕЙ

А. В. СВИРСКАЯ<sup>1)</sup>, Д. Б. НИЖЕГОРОДОВА<sup>1),2)</sup>, К. С. КОМИССАРОВ<sup>2),3)</sup>, Е. И. МИНЧЕНКО<sup>4)</sup>, В. С. ПИЛОТОВИЧ<sup>2)</sup>, М. М. ЗАФРАНСКАЯ<sup>(),2)</sup>

<sup>1)</sup>Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь <sup>2)</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, ул. Петруся Бровки, 3, корпус 3, 220013, г. Минск, Беларусь <sup>3)</sup>Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Беларусь <sup>4)</sup>1-я городская клиническая больница, пр. Независимости, 64, 220013, г. Минск, Беларусь

В настоящее время IgA-нефропатия является самой распространенной формой первичного гломерулонефрита, приводящей к развитию терминальной стадии почечной недостаточности. Ее причинами являются не только генетические, но и экологические факторы, способствующие эпигенетическим изменениям как в клеточном, так и гуморальном звене иммунитета. Основными триггерами хронического аутоиммунного воспаления при IgA-нефропатии являются такие факторы окружающей среды, как промышленные поллютанты, инфекционные агенты, аллергены и нефротоксические ксенобиотики, которые приводят не только к нарушению продукции иммуноглобулина А в слизистых оболочках, но и к изменению состава микробиоты и мукозальных лимфоидных клеток, в том числе минорной популяции убТ-лимфоцитов. В данном исследовании определен субпопуляционный состав, активационный потенциал и цитотоксическая активность убТ-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией, а также выявлена взаимосвязь иммунологических параметров различных субпопуляций убТ-клеток с биохимическими и гистологическими показателями

### Образец цитирования:

Свирская АВ, Нижегородова ДБ, Комиссаров КС, Минченко ЕИ, Пилотович ВС, Зафранская ММ. Характеристика үбТ-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021;3:82–89.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-82-89

### For citation:

Svirskaya AV, Nizheharodava DB, Komissarov KS, Minchenko EI, Pilotovich VS, Zafranskaya MM. γδT-lymphocytes in patients with IgA-nephropathy. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:82–89. Russian. https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-82-89

# Авторы:

Алеся Валерьевна Свирская – магистрант кафедры иммунологии.

**Дарья Борисовна Нижегородова** – кандидат биологических наук, доцент; ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и биомедишинских технологий научно-исследовательской лаборатории; доцент кафедры иммунологии.

Кирилл Сергеевич Комиссаров – кандидат медишинских наук, доцент, доцент кафедры трансплантологии; заведующий отделом нефрологии, почечно-заместительной терапии и трансплантации почки МНПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии.

**Елена Ивановна Минченко** – врач-нефролог высшей квалификационной категории нефрологического отделения.

**Валерий Станиславович Пилотович** – доктор медицинских наук, профессор; профессор кафедры урологии и нефрологии.

Марина Михайловна Зафранская — доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой иммунологии, главный научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории.

## Authors:

Alesia V. Svirskaya, master's student at the department of immunology.

alesjswirskay@mail.ru

Darya B. Nizheharodava, PhD (biology), docent, associate professor at the department of immunology; leading researcher at the department of immunology and biomedicine technology, scientific research labor.

nzh@tut.by

Kirill S. Komissarov, PhD (medicine), docent, associate professor at the department of transplantology; head of the department of nephrology, kidney replacement therapy and kidney transplantation, MSPC of surgery, transplantology and hematology.

kirill\_ka@tut.by

*Elena I. Minchenko*, nephrologist of the highest qualification category of the nephrological.

elena-nephro.tut.by

*Valery S. Pilotovich,* doctor of science (medicine), professor, professor at the department of urology and nephrology. *urobelmapo@tut.by* 

Marina M. Zafranskaya, doctor of science (medicine), docent; head of the department of immunology; chief researcher at the department of immunology and biomedicine technology, scientific research laboratory.

zafranskaya@gmail.com

прогрессирования заболевания. У пациентов с IgA-нефропатией установлено перераспределение субпопуляций  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов в периферической крови, характеризующееся преобладанием ткане-резидентных клеток (V $\delta 1^+$  и V $\delta 3^+ T$ -лимфоцитов) и статистически значимым снижением доминирующей субпопуляции V $\delta 2^+ T$ -лимфоцитов относительно контрольной группы. Показано, что субпопуляции  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов не характеризовались питотоксической активностью, однако выявленное повышение экспрессии активационной молекулы HLA-DR на V $\delta 1^+$  и V $\delta 3^+ T$ -лимфоцитах свидетельствует о возможной антиген-презентирующей способности данных клеток. Полученные результаты могут быть использованы в качестве потенциальных биомаркеров в ранней диагностике аутоиммунной патологии почек.

*Ключевые слова:* IgA-нефропатия; экологический фактор; эпигенетика;  $\gamma \delta T$ -лимфоциты; проточная цитофлуориметрия; аутоиммунная патология.

# γδΤ-LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH IgA-NEPHROPATHY

A. V. SVIRSKAYA<sup>a</sup>, D. B. NIZHEHARODAVA<sup>a,b</sup>, K. S. KOMISSAROV<sup>b,c</sup>, E. I. MINCHENKO<sup>d</sup>, V. S. PILOTOVICH<sup>b</sup>, M. M. ZAFRANSKAYA<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,
23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

<sup>b</sup>Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education,
3 Petrusia Broŭki Street, 3 building, Minsk 220013, Belarus

<sup>c</sup>Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology,
8 Siamashka Street, Minsk 220045, Belarus

<sup>d</sup> 1<sup>st</sup> City Clinical Hospital,
64 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220013, Belarus
Corresponding author: A. V. Svirskaya (alesjswirskay@mail.ru)

Currently, IgA-nephropathy is the most common form of primary glomerulonephritis resulted in the development of end-stage renal failure, the causes of which are not only genetic, but also environmental factors that contribute to epigenetic changes in the both cellular and humoral immunity. The main triggers of chronic autoimmune inflammation in IgA-nephropathy are environmental factors such as industrial pollutants, infectious agents, allergens and nephrotoxic xenobiotics resulted in not only the disruption of immunoglobulin A production in mucosae but also changes in the composition of microbiota and mucosal lymphoid cells, including the minor population of  $\gamma\delta$ T-lymphocytes.

In this study, the composition of  $\gamma\delta T$ -cells subsets, their activation potential and cytotoxic activity were determined as well as the correlation of  $\gamma\delta T$ -cells immunophenotype with biochemical and histological parameters of disease progression were established in patients with IgA-nephropathy. The redistribution of  $\gamma\delta T$ -lymphocytes subsets in peripheral blood of patients with IgA-nephropathy was found characterizing by a predominance of tissue-resident cells ( $V\delta 1^+$  and  $V\delta 3^+T$ -lymphocytes) and a statistically significant decrease of  $V\delta 2^+T$ -cells subpopulation as compared to the control group. It was shown that  $\gamma\delta T$ -lymphocytes did not demonstrate the cytotoxic activity, however, the detected increase of activated marker HLA-DR expression on  $V\delta 1^+$  and  $V\delta 3^+T$ -lymphocytes indicated their possible antigen-presenting role in disease pathogenesis. The obtained results can be used as potential biomarkers in the early diagnosis of autoimmune kidney pathology.

**Keywords:** IgA-nephropathy; environmental factor; epigenetics; γδT-lymphocytes; flow cytometry; autoimmune pathology.

# Введение

IgA-нефропатия представляет собой аутоиммунное заболевание, характеризующееся накоплением депозитов легких цепей (к и  $\lambda$ ) иммуноглобулина класса A (IgA) и реже – класса G в мезангиуме почечных клубочков, что приводит к инициации иммунокомплексного воспаления, повреждению почечных клубочков и развитию почечной недостаточности. Причинами развития IgA-нефропатии могут выступать не только генетическая предрасположенность, но и различные экологические факторы, среди которых выделяют: загрязнение окружающей среды (воздуха, воды и почвы) тяжелыми металлами, продуктами сельскохозяйственной химии и промышленными отходами; инфекционные агенты, белковые компоненты которых схожи с поверхностными протеинами почечной ткани; нефротоксические ксенобиотики растительного происхождения, содержащие аристолоховую кислоту; аллергены и эндемичные особенности пищевого рациона, которые приводят к повреждению слизистых оболочек [1].

Согласно литературным данным, у 80 % пациентов с IgA-нефропатией в период обострения наблюдаются инфекции верхних дыхательных путей, ассоциированные с некоторыми вирусами или грамположительными бактериями, отмечается дисрегуляция мукозального иммунитета, что часто обусловлено сезонными изменениями и экологической обстановкой в регионе. При этом в результате феномена молекулярной

мимикрии синтезируются антитела, способные распознавать не только инфекционные агенты, но и перекрестно реагировать с галактозо-дефицитным IgA [2]. Еще одним триггерным фактором развития IgA-нефропатии может являться аллергическая реакция на пищевые и бытовые аллергены, которая приводит к нарушению формирования IgA и последующему образованию иммунных комплексов [3]. Частая ассоциация IgA-нефропатии с аутоиммунной патологией слизистых оболочек (целиакия, воспалительные заболевания кишечника) предполагает активное вовлечение микробиоты желудочно-кишечного тракта и роль диеты в инициации хронического воспаления и дисбаланса мукозальных лимфоидных клеток [1; 2].

В совокупности с генетической предрасположенностью экологические факторы участвуют в инициации эпигенетических изменений пострансляционной модификации IgA, иммунные комплексы с которым впоследствии откладываются в тканях почек и приводят к развитию почечной недостаточности. Таким образом, во всем мире, в том числе и в Республике Беларусь, IgA-нефропатия является наиболее распространенной формой первичных гломерулонефритов [1] и представляет собой актуальную социально-значимую проблему в современной нефрологии и иммунологии.

Иммунопатогенез IgA-нефропатии характеризуется активацией как клеточного, так и гуморального звена иммунной системы. Однако если роль B-лимфоцитов и системы комплемента хорошо изучена при IgA-нефропатии, то механизмы вовлечения популяций T-лимфоцитов до сих пор остаются объектом пристального исследования. Рядом авторов показано, что при IgA-нефропатии выявляется перераспределение циркулирующих T-клеток, характеризующееся увеличением классических  $\alpha\beta$ T-лимфоцитов, в частности, хелперных популяций Th2-, Tfh-, Th17-, Th22-клеток, а также минорной популяции  $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, наряду со снижением Th1- и Treg-клеток [2; 3]. При этом полученные данные о роли  $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в патогенезе IgA-нефропатии не многочисленны и противоречивы [4], что объясняется высокой гетерогенностью данной популяции.

 $\gamma\delta$ Т-клетки представляют собой минорную лимфоидную популяцию, экспрессирующую Т-клеточный рецептор (TCR), состоящий из  $\gamma$ - и  $\delta$ -цепей, и характеризующуюся структурным и функциональным разнообразием. Основными областями локализации  $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов преимущественно являются слизистые оболочки и ткани (кишечник, кожа, легкие), в то время как в периферической крови  $\gamma\delta$ Т-клетки составляют 1–10 % от циркулирующих Т-лимфоцитов. На основе экспрессии  $V\delta$ -цепи выделяют три основные субпопуляции  $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов ( $V\delta1^+$ ,  $V\delta2^+$ ,  $V\delta3^+$ -клетки), при этом каждая субпопуляция имеет свои функциональные особенности [4; 5].

Обладая как врожденными, так и адаптивными свойствами  $\gamma \delta T$ -клетки являются посредниками видового и специфического иммунитета и участвуют в различных иммунных реакциях: быстро активируются и пролиферируют в ответ на аутоантигены, опухолевые и микробные антигены; способны проявлять цитотоксическую активность, опосредуемую синтезом гранзимов и перфоринов; участвуют в антитело-зависимой клеточной цитотоксичности за счет экспрессии FcyRIII; обладают антиген-презентирующей функцией, что является ключевыми моментами в развитии иммунного воспаления при различных хронических и аутоиммунных заболеваний [5]. С другой стороны,  $\gamma \delta T$ -лимфоциты могут выполнять иммунорегуляторную функцию, опосредованную синтезом противовоспалительных цитокинов и участием в репарации тканей [6; 7].

В настоящее время антигенная специфичность и физиологические функции γδТ-клеток ограничены в нашем понимании, однако данные клетки обладают иммунными функциями, аналогичными с классическими αβТ-лимфоцитами и натуральными киллерами, которые могут существенно изменяться в условиях формирования аутоиммунной патологии, в частности при IgA-нефропатии. Поэтому важным остается не только изучение количественных характеристик, но и оценка статуса активации γδТ-лимфоцитов и их цитотоксического профиля [8], что может быть использовано в качестве биомаркера в диагностике аутоиммунной патологии почек.

Таким образом, цель данного исследования – оценка субпопуляционного состава  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов в периферической крови, их активационного статуса и цитотоксической активности у пациентов с IgA-нефропатией.

## Материалы и методы исследования

Материалом исследования явилась периферическая венозная кровь 20 пациентов с IgA-нефропатией в возрасте  $32,0(28,0\div39,0)$  лет (10 мужчин, 10 женщин) и 14 здоровых доноров в возрасте  $38,0(30,3\div52,5)$  лет (6 мужчин, 8 женщин).

Диагноз IgA-нефропатии подтверждали в биоптатах пациентов по Оксфордской классификации (MEST-C), включающую мезангиальную пролиферацию (M), эндотелиальную пролиферацию (E), сегментарный гломерулосклероз (S), тубулярную атрофию (T), полулуния (C) [4; 5]. У пациентов с IgA-нефропатией наиболее часто встречались острые пролиферативно-воспалительные изменения в клубочках: мезангиальная пролиферация (M1) наблюдалась в 90 % случаев, эндотелиальная пролиферация (E1) – у 45 % пациентов, клеточные полулуния (C1) выявлены у 30 % человека. Из хронических склеротических повреждений чаще отмечался сегментарный склероз (S1) – у 70 % пациентов, минимальная атрофия почечных канальцев и интерстициальный склероз (T0) – у 75 % человек, тогда как индекс T1 встречался в 15 % случаев.

Определение биохимических показателей (концентрация креатинина, гематурия и суточная протеинурия) проводили с использованием диагностических наборов и биохимического анализатора. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали по формуле (1) для мужчин и по формуле (2) для женщин:

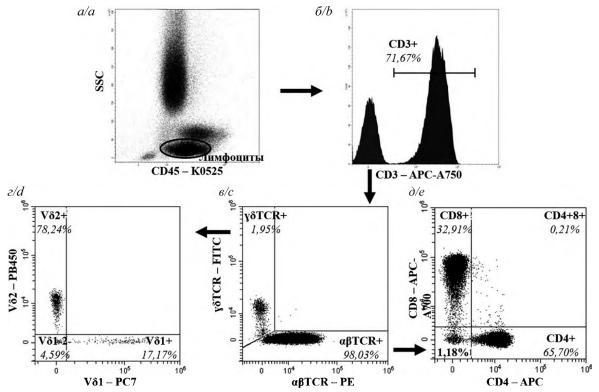
$$CK\Phi=1,23\times \frac{(140-\text{ возраст (годы)})\times\text{масса тела (кг)}}{\text{креатинин крови (мкмоль/л)}}$$
 (1)

креатинин крови (мкмоль/л)

$$CK\Phi = 1.05 \times \frac{(140 - возраст (годы)) \times масса тела (кг)}{креатинин крови (мкмоль/л)}$$
(2)

У пациентов с IgA-нефропатией медианный показатель протеинурии составил  $1000~(400 \div 1750)~\text{мг/сут}$ , креатинина  $-79~(72 \div 91)~\text{мкмоль/л}$ , гематурии  $-20~(1 \div 30)~\text{клеток}$  в поле зрения, а также скорости клубочковой фильтрации  $-92~(85 \div 110)~\text{мл/мин}$ .

Субпопуляции γδТ-лимфоцитов определяли с применением панели антител DuraClone IM TCRs (ТСRγδ-FITC, ТСRαβ-PE, HLA-DR-ECD, ТСR Vδ1-PC7, CD4-APC, CD8-A700, CD3-APC-A750, ТСR Vδ2-PB, CD45-KRO, Beckman Coulter, India) и проточного цитометра CytoFLEX (Вескman Coulter, США). Для иммунофенотипирования 100 мкл цельной крови добавляли в пробирку с моноклональными антителами, перемешивали и инкубировали в течение 15 мин. Эритроциты лизировали раствором VersaLyse (Вескman Coulter, США) в течение 10 мин. Результаты регистрировали на 1000 событий γδТ-лимфоцитов. На рис. 1 представлен алгоритм анализа Т-клеточных субпопуляций после измерения.



a — лимфоциты среди популяции одиночных клеток;  $\delta$  — популяция CD3<sup>+</sup>T-лимфоцитов среди всех лимфоцитов;  $\epsilon$  — субпопуляции а $\beta$ T- и  $\gamma\delta$ T-лимфоцитов среди CD3<sup>+</sup>T-лимфоцитов;  $\epsilon$  — субпопуляции V $\delta$ 1<sup>+</sup>, V $\delta$ 2<sup>+</sup>, V $\delta$ 3<sup>+</sup>T-лимфоцитов среди  $\gamma\delta$ T-лимфоцитов;  $\delta$  — субпопуляции CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>T-лимфоцитов среди а $\beta$ T-лимфоцитов

 $\mathit{Puc.}\ 1.\ \mathsf{A}$ лгоритм анализа  $\alpha\beta$ - и  $\gamma\delta\mathsf{T}$ -клеточных субпопуляций

a – lymphocytes among the population of single cells; b – population of CD3<sup>+</sup>T-lymphocytes among all lymphocytes; c – subpopulations of  $\alpha\beta$ T and  $\gamma\delta$ T-lymphocytes among CD3<sup>+</sup>T-lymphocytes; d – subpopulations of V $\delta$ 1<sup>+</sup>, V $\delta$ 2<sup>+</sup>, V $\delta$ 3<sup>+</sup>T-lymphocytes among  $\gamma\delta$ T-lymphocytes; e – subpopulations of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>T-lymphocytes among  $\alpha\beta$ T-lymphocytes

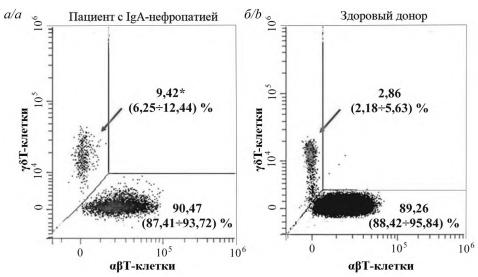
Fig. 1. The algorithm of  $\alpha\beta$ -and  $\gamma\delta$ T-cell subsets analysis

Статистическую обработку данных выполняли в программе STATISTICA 8.0. Сравнение независимых групп проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Корреляционный анализ осуществляли с применением рангового коэффициента корреляции непараметрических данных Спирмена (R). За уровень статистической значимости принимали p < 0.05.

# Результаты исследования и их обсуждение

*Субпопуляционный состав убТ-лимфоцитов у пациентов с ІдА-нефропатией.* Иммунофенотипическая характеристика лимфоцитов показала, что количество CD3<sup>+</sup>T-лимфоцитов статистически

значимо не различалось у пациентов с IgA-нефропатией и здоровых доноров (66,55 ( $61,95\div74,01$ ) % и 63,98 ( $59,46\div71,39$ ) % соответственно). На рис. 2 представлены индивидуальные данные процентного содержания  $\alpha\beta T$ - и  $\gamma\delta T$ -лимфоцитов у пациента с IgA-нефропатией и здорового донора, которые отражают общую тенденцию количественного распределения клеточных субпопуляций  $CD3^{+}T$ -лимфоцитов в исследуемых группах. Показано, что у пациентов с IgA-нефропатией наблюдалось статистически значимое увеличение содержания  $\gamma\delta T$ -лимфоцитов по сравнению с IgA-нефропатией и здоровых доноров. На рис. 2 представлены индивидуальные данные пациента с IgA-нефропатией и здорового донора, отражающие общие изменения в исследуемой выборке.



 $Puc.\ 2$ . Распределение αβТ- и  $\gamma$ δТ-лимфоцитов (%) у пациента с IgA-нефропатией (a) и здорового донора ( $\delta$ ) Примечание. \*p<0,05 — статистические значимые различия указаны по отношению к группе здоровых доноров.

Fig. 2. The distribution of αβT- and γδT-lymphocytes (%) in patient with IgA-nephropathy (a) and healthy donor (b) Note. \*p<0,05 – statistically significant differences are pointed as compared with healthy donors.

Известно, что наряду с классическими Т-лимфоцитами в патогенез IgA-нефропатии могут вовлекаться и минорные лимфоидные клетки. В частности,  $\gamma \delta T$ -клетки играют важную роль в защитных иммунных реакциях: их способность продуцировать такие цитокины, как интерферон- $\gamma$  или интерлейкин-17A, позволяет быстро реализовывать механизмы иммунного воспаления на патогенные сигналы при развитии патологий почек. В связи с этим увеличение содержания циркулирующих  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов может быть результатом активации врожденного клеточного звена иммунитета [8].

При изучении субпопуляционного состава  $\gamma\delta T$ -лимфоцитов, экспрессирующих  $V\delta 1^+$ ,  $V\delta 2^+$  и  $V\delta 3^+$ -домен, обнаружено перераспределение количества данных клеток в периферической крови у пациентов с IgA-нефропатией (табл. 1). Так, выявлено увеличение содержания  $V\delta 1^+ T$ -лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией по сравнению с контрольной группой (p < 0.05), в то время как процент  $V\delta 2^+ T$ -лимфоцитов снижался у пациентов по отношению группе доноров. Уровень  $V\delta 3^+ T$ -лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией характеризовался тенденцией к увеличению относительно группы здоровых доноров (p = 0.06).

Согласно литературным данным,  $V\delta 1^+$  и  $V\delta 3^+$  не являются типичными циркулирующими клетками, однако при обнаружении повышения уровня данных клеток у пациентов с IgA-нефропатией можно предположить, что происходит перераспределение циркулирующих и ткане-резидентных клеток для реализации механизмов иммунологического надзора [9].  $V\delta 1^+$ Т-лимфоциты обычно расположены в эпителиального слое кишечника, коже, печени и селезенки, участвуя в поддержании целостности эпителиального барьера. Основными лигандами для  $V\delta 1^+$ Т-клеток являются неклассические антиген-презентирующие молекулы MICA или MICB, а также члены семейства CD1, презентирующие гликолипидные антигены. Многие авторы отмечают пролиферацию  $V\delta 1^+$  и  $V\delta 3^+$ Т-клеток при инфекциях, вызванных вирусами (цитомегаловирус, ВИЧ и т. д.), внутриклеточными микроорганизмами, грибковыми антигенами, а также при аутоиммунной патологии желудочно-кишечного тракта и онокопатологических состояниях [10].

 $V\delta2^+T$ -лимфоциты очень часто коэкспрессируют цепь  $V\gamma9$  и в основном присутствуют в периферической крови, составляя более 90 % периферических циркулирующих  $\gamma\delta T$ -клеток. Содержание  $V\delta2^+T$ -лимфоцитов быстро увеличивается во время распознавания фосфоантигенов микробного происхождения, а также экспрессируемых трансформированными клетками. Ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны активируют  $V\gamma9V\delta2^+T$ -клетки через TLR или NKG2D, что приводит к быстрой индукции экспрессии цитокинов и хемокинов. Кроме того, такие суперантигены, как токсин синдрома токсического шока и стафилококковые энтеротоксины, способны также активировать  $V\gamma9V\delta2^+T$ -клетки [11; 12].

Таблица 1

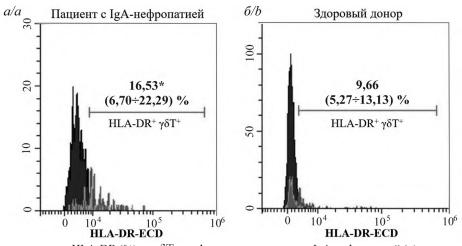
Количество  $V\delta 1^+, V\delta 2^{+\,\text{H}}\,V\delta 3^+ T$ -лимфоцитов (%) у пациентов с IgA-нефропатией и здоровых доноров

Table 1

The number of  $V\delta 1^+$ ,  $V\delta 2^+$  and  $V\delta 3^+$ T-lymphocytes (%) in patients with IgA-nephropathy and healthy donors

Субпопуляции үбТ-лимфоцитов	Пациенты с IgA-нефропатией	Здоровые доноры	Уровень значимости, р	
Vδ1 <sup>+</sup> Т-лимфоциты	27,97 (10,49÷41,97) %	14,60 (4,95÷17,45) %	0,05	
Vδ2 <sup>+</sup> Т-лимфоциты	61,86 (41,56÷86,34) %	79,84 (71,71÷91,56) %	0,04	
Vδ3 <sup>+</sup> Т-лимфоциты	9,73 (1,94÷17,13) %	5,47 (2,47÷5,46) %	0,06	

Экспрессия активационного маркера HLA-DR на  $\gamma\delta T$ -лимфоцитах у пациентов с IgA-нефропатией. Для оценки активационного потенциала в исследуемых группах изучена экспрессия HLA-DR на субпопуляциях  $\gamma\delta T$ -лимфоцитов. На рис. 3 представлены индивидуальные данные пациента с IgA-нефропатией и здорового донора, отражающие общие изменения в экспрессии HLA-DR на  $\gamma\delta T$ -лимфоцитах в исследуемых выборках. У пациентов с IgA-нефропатией выявлено увеличение количества HLA-DR $^+\gamma\delta T$ -лимфоцитов по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о высоком активационном потенциале  $\gamma\delta T$ -лимфоцитов и их способности к антигенной презентации [13]. Установлено увеличение количества экспрессирующих HLA-DR  $V\delta 1^+T$ -лимфоцитов (до 21,39 (10,74÷28,65) %) и  $V\delta 3^+T$ -лимфоцитов (до 24,17 (12,28÷35,91) %) у пациентов с IgA-нефропатией. Однако у здоровых доноров содержание HLA-DR $^+V\delta 1^{+\mu}$  HLA-DR $^+V\delta 3^+T$ -лимфоцитов оставалось на уровне 15,70 (4,41÷15,79) % и 8,77 (4,35÷17,39) %, соответственно, p<0,01.



Puc. 3. Уровень экспрессии HLA-DR (%) на γδТ-лимфоцитах у пациента с IgA-нефропатией (a) и здорового донора ( $\delta$ ) Примечание. \*p<0,05 — статистические значимые различия указаны по отношению к группе здоровых доноров.

Fig. 3. HLA-DR expression (%) on  $\gamma\delta$ T-lymphocytes in patient IgA-nephropathy (a) and healthy donor (b) Note. \*p<0.05 – statistically significant differences are pointed as compared with healthy donors.

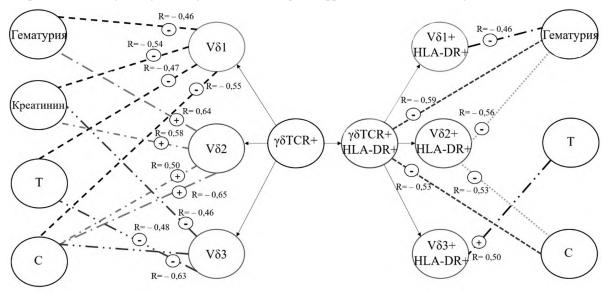
Принимая во внимание, что HLA-DR является молекулой главного комплекса гистосовместимости II класса и представляет собой собой лиганд для TCR, полученные данные о повышении ее экспрессии на γδТ-лимфоцитах могут свидетельствовать об их участии в инициации иммунного ответа в качестве клеток, презентирующих пептидные антигены [12]. Кроме того, будучи маркером поздней активации, повышенная экспрессия HLA-DR может свидетельствовать также о готовности реализации γδТ-лимфоцитами своего эффекторного функционального потенциала, в частности продукции цитокинов, хемокинов и литических ферментов; выполнении цитотоксической противовирусной активности; индукции созревания дендритных клеток; оказания помощи В-клеткам; презентации антигенов CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеткам [13]. Активированные Т-клетки не только играют важную роль в цитотоксичности и стимулировании воспалительных процессов, но также вызывают дифференцировку и созревание клеток врожденного иммунитета [14].

Характеристика цитотоксичности  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов у пациентов с *IgA*-нефропатией. Для определения удельного содержания клеток с цитотоксическим функциональным профилем у пациентов с IgA-нефропатией проведена оценка экспрессии корецепторных молекул CD8<sup>+</sup> на  $\gamma \delta T$ -лимфоцитах. В результате исследования выявлено отсутствие статистически значимых различий содержания  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов, экспрессирующих CD8<sup>+</sup>, у пациентов с IgA-нефропатией относительно контрольной группой (32,10 (23,19÷42,36) % и 29,27 (18,27÷44,54) % соответственно). Кроме того, не обнаружены статистически значимые различия в субпопуляциях V $\delta 1$ <sup>+</sup>, V $\delta 2$ <sup>+</sup>, V $\delta 3$ <sup>+</sup>-лимфоцитов, экспрессирующих CD8<sup>+</sup>, что свидетельствует о низком цитотоксическом потенциале данных клеток у пациентов с IgA-нефропатией.

Для сравнительной характеристики исследован также субпопуляционный состав а $\beta$ Т-лимфоцитов по экспрессии корецепторных молекул CD4 и CD8, которые указывают, соответственно, на принадлежность к популяции Т-хелперов или цитотоксическим лимфоцитам. Установлено статистически значимое снижение количества CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов (52,52 (46,14÷58,70) %) и увеличение CD8<sup>+</sup>T-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией (38,45 (33,17÷42,56) %) по сравнению с группой здоровых доноров (61,51 (56,70÷72,66) % и 29,48 (22,54÷34,60) %, соответственно, p<0,05).

Несмотря на отсутствие изменений в общем количестве Т-лимфоцитов, обнаруженное перераспределение аβТ-лимфоцитов в сторону цитотоксических может свидетельствовать об эффекторных механизмах, реализуемых лимфоцитами в патогенезе IgA-нефропатии. Известно, что Т-лимфоциты, экспрессирующие CD8<sup>+</sup> молекулу, после первоначальной активации во вторичных лимфоидных органах инфильтрируют воспаленный участок в виде дифференцированных эффекторных клеток в ответ на локальную продукцию хемоаттрактантов, а затем сохраняются в ткани, со временем реализуя свои механизмы цитотоксичности, что может приводить к повреждающему эффекту [15].

Корреляционный анализ иммунофенотипа  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов с клинико-морфологическими показателями у пациентов с IgA-нефропатией. Для установления взаимосвязи иммунологических и клинико-морфологических показателей проведен корреляционный анализ, с одной стороны, между биохимическими показателями (гематурия, протеинурия, скорость клубочковой фильтрации, концентрация креатинина) и морфологическими показателями (мезангиальная и эндотелиальная пролиферация, сегментарный гломерулосклероз, тубулярная атрофия, наличие полулуний), а с другой стороны, фенотипом  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов и их субпопуляций  $V\delta 1^+$ ,  $V\delta 2^+$ ,  $V\delta 3^+$  у пациентов с IgA-нефропатией. На рис. 4 представлены коэффициенты корреляции  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов и их субпопуляций у пациентов с IgA-нефропатией с соответствующими показателями.



 $Puc.\ 4.\$ Корреляция  $\gamma$ бТ-лимфоцитов и их субпопуляций с клинико-морфологическими показателями: C- наличие полулуний; T- тубулярная атрофия

Fig. 4. Correlation of  $\gamma \delta T$ -lymphocytes and their subpopulations with clinical and morphological parameters: C – presence of semilunia; T – tubular atrophy

У пациентов с IgA-нефропатией выявлена обратная зависимость количества  $V\delta1^+$ Т-лимфоцитов от уровня гематурии (R=-0,60; p=0,01) и креатинина (R=-0,54; p=0,03), также от развития тубулярной атрофии (R=-0,47; p<0,05) и наличия полулуний в клубочках (R=-0,55; p=0,02). При этом установлена прямая корреляция количества  $V\delta2^+$ Т-лимфоцитов с уровнем гематурии (R=0,64; p=0,01) и креатинина (R=0,58; p=0,01), а также с уровнем тубулярной атрофии (R=0,50; p=0,04) и образование полулуний в гломерулах (R=0,65; p=0,01). Показано, что содержание  $V\delta3^+$ Т-лимфоцитов обратно пропорционально зависело

от показателей гематурии (R=-0,46; p<0,05), креатинина (R=-0,48; p=0,05), развития тубулярной атрофии почек (R=-0,63; p=0,01), а также отмечалась тенденция к образованию полулуний (R=-0,43; p=0,09).

Наряду с этим, у пациентов с IgA-нефропатией определена обратная корреляция между содержанием  $\gamma\delta T$ -лимфоцитов, экспрессирующих активационную молекулу HLA-DR, и уровнем гематурии (R=-0,59; p=0,01), как и образованием полулуний (R=-0,53; p=0,03). При этом выявлена обратная зависимость количества V $\delta 1$ <sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> Т-клеток от уровня гематурии (R=-0,46; p<0,05). В то время как содержание V $\delta 2$ <sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> лимфоцитов обратно пропорционально коррелировало с проявлением гематурии (R=-0,56; p=0,02) и наличием полулуний в клубочках почек (R=-0,53; p=0,03). При этом установлена зависимость количества V $\delta 3$ <sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> клеток от развития тубулярной атрофии (R=0,50; p=0,04). Содержание V $\delta 1$ <sup>+</sup>Т-лимфоцитов, экспрессирующих цитотоксическую молекулу CD8<sup>+</sup>, коррелировало с развитием мезангиальной пролиферации (R=0,48; p=0,05), в то время как уровень V $\delta 3$ <sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов обратно коррелировал с показателями протеинурии (R=-0,55; p=0,02).

# Заключение

В результате проведенных исследований показано, что гетерогенная популяция  $\gamma \delta T$ -лимфоцитов активно вовлекается в патогенез IgA-нефропатии и в зависимости от своего фенотипа может по-разному реализовывать свой потенциал. У пациентов с IgA-нефропатией выявлено увеличение количества тканерезидентных активированных  $V\delta 1^+T$ -клеток в периферической крови, наряду со снижением содержания  $V\delta 2^+T$ -клеток, на фоне отсутствия изменений цитотоксических свойств эффекторных субпопуляций, что может быть использовано в качестве биомаркера при дифференциальной диагностике аутоиммунной патологии почек. Установленная обратная корреляция содержания  $V\delta 1^+$ - и  $V\delta 3^+T$ -лимфоцитов и их активированных форм с развитием гематурии, тубулярной атрофии и наличием полулуний свидетельствует о регуляторной роли данных субпопуляций в патогенезе заболевания. В то время как положительная связь  $V\delta 2^+T$ -лимфоцитов с гематурией, тубулярной атрофией и наличием полулуний отражает вовлечение эффекторных механизмов данной популяции в иммунопатогенез IgA-нефропатии. При этом уровень активированных  $\gamma\delta T$ -лимфоцитов и субпопуляций  $V\delta 1^+$  и  $V\delta 2^+T$ -клеток обратно коррелировал с гематурией и наличием полулуний, что подтверждает их регуляторную роль. Корреляция субпопуляции  $V\delta 3^+T$ -лимфоцитов с тубулярной атрофией может свидетельствовать о способности функционировать данной популяции в качестве антиген-презентирующих клеток.

# Библиографические ссылки / References

- 1. Turner J, Becker M, Mittrücker H. Tissue-Resident Lymphocytes in the Kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2018;29:389–399. DOI: 10.1681/ASN.2017060599.
- 2. Ruszkowski J, Lisowska K, Pindel M. T cells in IgA nephropathy: role in pathogenesis, clinical significance and potential therapeutic target. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2019;23:291–303. DOI:10.1007/s10157-018-1665-0.
- 3. Kabelitz D. Gamma Delta T Cells (γδ T Cells) in Health and Disease. In Memory of Professor Wendy Havran. *Cells.* 2020;9:1–7. DOI:10.3390/cells9122564.
- 4. Chang S, Li X. The Role of Immune Modulation in Pathogenesis of IgA Nephropathy. *Frontiers in Medicine*. 2020;7(92):1–15. DOI: 10.3389/fmed.2020.00092.
- 5. Hassler JR. IgA nephropathy: A brief review. Seminars in Diagnostic Pathology. 2020;37:143–147. DOI: 10.1053/j. semdp.2020.03.001.
- 6. Sallustio F, Curci C, Leo V, Gallone A, Pesce F, Gesualdo L. A New Vision of IgA Nephropathy: The Missing Link. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(189):1–15. DOI: 10.3390/ijms21010189.
- 7. Raj DS, Pecoits-Filho R, Kimmel PL. Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Chronic Renal Disease*. 2020;24:355–373. DOI: 10.1016/B978-0-12-815876-0.00024-3.
- 8. Zhang WR. Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease. *Annual Review of Physiology*. 2019;81:309–333. DOI: 10.1146/annurev-physiol-020518-114605.
- 9. Rampoldi F, Ullrich L, Prinz I. Revisiting the Interaction of  $\gamma\delta$  T-Cells and B-Cells. *Cells*. 2020;9(743):1–11. DOI: 10.3390/cells9030743.
- 10. Peters C, Kabelitz D, Wesch D. Regulatory functions of  $\gamma\delta$  T cells. Cellular and Molecular Life Sciences. 2018;75(12):1–14. DOI: 10.1007/s00018-018-2788-x.
- 11. Paul S, Giri S, Lal G. Role of gamma-delta ( $\gamma\delta$ ) T Cells in autoimmunity. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015;97:259–271. DOI: 10.1189/jlb.3RU0914-443R.
- 12. Lee HW, Chung YS, Kim TJ. Heterogeneity of Human  $\gamma\delta T$  Cells and Their Role in Cancer Immunity. *Immune Network*. 2020;20(1):1–15. DOI: 10.4110/in.2020.20.e5.
- 13. Khan U, Ghazanfar H. Lymphocytes and Autoimmunity. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2018;342:1–44. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2018.05.008.
  - 14. Fightner AS, Ravens S, Prinz I, Human γδ TCR Repertoires in Health and Disease. Cells. 2020;9(800):1–14. DOI: 10.3390/cells9040800.
  - 14. Fichulet As, Ravelis 3, 1 miz 1. Human yo TeR Repetiones in Health and Disease. Cells. 2020;9(402):1–14. DOI: 10.3390/cells9020462.

    15. Bank I. The Role of Gamma Delta T Cells in Autoimmune Rheumatic Diseases. Cells. 2020;9(462):1–30. DOI: 10.3390/cells9020462.

# Промышленная и аграрная экология

# Industrial and agricultural ecology

УДК 631.459.2+631.438.2

# ВЛИЯНИЕ ЭРОЗИОННО-АККУМУЛЯТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ НА ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ $^{137}\mathrm{Cs}$ НА СКЛОНОВЫХ ЗЕМЛЯХ

H.~H.~ЦЫБУЛЬ $KO^{()},~B.~Б.~$ ЦЫРИБ $KO^{()},~A.~M.~$ УСТИНОВ $A^{()},~U.~A.~$ ЛОГAЧ $\ddot{E}B^{()},~A.~A.~$ МИТЬ $KOBA^{()}$ 

<sup>1)</sup>Институт почвоведения и агрохимии Национальной академии наук Беларуси, ул. Казинца, 90, 220108, г. Минск, Беларусь

# Образец цитирования:

Цыбулько НН, Цырибко ВБ, Устинова АМ, Логачёв ИА, Митькова АА. Влияние эрозионно-аккумулятивных процессов на перераспределение <sup>137</sup>Сs на склоновых землях. Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2021:3:90–97.

https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-90-97

# For citation:

Tsybulka MM, Tsyrybka VB, Ustsinava HM, Lahachou IA, Mitskova AA. Influence of erosion-accumulative processes on <sup>137</sup>Cs redistribution on slope lands. *Journal of the Belarusian State University. Ecology.* 2021;3:90–97. Russian. https://doi.org//10.46646/2521-683X/2021-3-90-97

### Авторы:

**Николай Николаевич Цыбулько** – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заместитель директора.

Виктор Борисович Цырибко — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории агрофизических свойств и защиты почв от эрозии. Анна Михайловна Устинова — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории агрофизических свойств и защиты почв от эрозии. Илья Александрович Логачёв — младший научный сотрудник лаборатории агрофизических свойств и защиты почв от эрозии.

Анастасия Александровна Митькова — младший научный сотрудник лаборатории агрофизических свойств и защиты почв от эрозии.

### Authors:

Mikalai M. Tsybulka, doctor of sciences (agriculture), full professor, deputy director.

nik.nik1966@tut.by

*Viktar B. Tsyrybka*, PhD (agriculture), docent; senior researcher at the laboratory of agrophysical properties and soil protection from erosion.

m029@yandex.ru

Hanna M. Ustsinava, PhD (agriculture), docent; leading researcher at the laboratory of agrophysical properties and soil protection from erosion.

brissa erosion@mail.ru

Ilya A. Lahachou, junior researcher at the laboratory of agrophysical properties and soil protection from erosion. ia logachev@list.ru

Anastasia A. Mitskova, junior researcher at the laboratory of agrophysical properties and soil protection from erosion. brissa erosion@mail.ru

В исследовании проанализировано изменение удельной активности  $^{137}$ Cs на склоновых землях под влиянием эрозионных процессов с 2015 по 2020 г. Количественные показатели перераспределения  $^{137}$ Cs эрозионными процессами зависят от плотности радиоактивного загрязнения территории, интенсивности жидкого и твердого стока, растительного покрова и использования земель. На эродированных почвах, расположенных на склоне, удельная активность  $^{137}$ Cs в пахотном слое ниже, чем на неэродированных и намытых почвах соответственно на 5.7-49.0 и на 32.0-70.3 %. Наибольшая удельная активность  $^{137}$ Cs в почве отмечается на намытых почвах в зоне аккумуляции наносов.

Влияние эрозионно-аккумулятивных процессов на перераспределение радионуклидов в верхнем слое почвы на пахотных склоновых землях необходимо учитывать при проведении крупномасштабного картографирования загрязненных радионуклидами территорий и использовании сельскохозяйственных земель.

*Ключевые слова:* эрозионные процессы; перераспределение <sup>137</sup>Cs; эродированные почвы; намытые почвы; удельная активность <sup>137</sup>Cs; смыв.

# INFLUENCE OF EROSION-ACCUMULATIVE PROCESSES ON <sup>137</sup>CS REDISTRIBUTION ON SLOPE LANDS

M. M. TSYBULKA<sup>a</sup>, V. B. TSYRYBKA<sup>a</sup>, H. M. USTSINAVA<sup>a</sup>, I. A. LAHACHOU<sup>a</sup>, A. A. MITSKOVA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute for Soil Science and Agrochemistry, National Academy of Sciences of Belarus, 90 Kazinca Street, Minsk 220108, Belarus Corresponding author I. A. Lahachou (ia logachev@list.ru)

The article analyzes the change in the specific activity of 137Cs on slope lands under the influence of erosion processes for the period from 2015 to 2020. Quantitative indicators of the redistribution of <sup>137</sup>Cs by erosion processes depend on the density of radioactive contamination of the territory, the intensity of liquid and solid runoff, vegetation cover, and land use. On eroded soils located on a slope, the specific activity of <sup>137</sup>Cs in the arable layer is lower than on non-eroded and reclaimed soils by 5.7–49.0 and 32.0–70.3 %, respectively. The highest specific activity of <sup>137</sup>Cs in soil is observed on reclaimed soils in the zone of sediment accumulation.

The influence of erosion-accumulative processes on the redistribution of radionuclides in the upper soil layer on arable slope lands must be considered when carrying out large-scale mapping of radionuclide-contaminated territories and the use of agricultural lands.

**Keywords:** erosion processes; redistribution of <sup>137</sup>Cs; eroded soils; reclaimed soils; specific activity of <sup>137</sup>Cs; runoff.

# Введение

Вследствие аварии на Чернобыльской АЭС радиоактивному загрязнению подверглись территории, которые существенно отличаются по рельефу, геоморфологии, гидрографическим особенностям, почвенному покрову, климатическим условиям. Исследованиями, проведенными в различных регионах, установлено влияние ландшафтных особенностей на миграцию радиоактивных веществ. Горизонтальный перенос их связан со смывом с поверхности почвы атмосферными осадками и их стока в нижележащие участки и гидрографическую сеть, а также с процессами дефляции и переноса воздушным путем [1].

Масштабы и интенсивность горизонтальной миграции радионуклидов зависят от гидрометеорологических условий, физико-географических особенностей и рельефа территории, дисперсности радиоактивных аэрозолей и прочности их фиксации почвой, типа почвы, растительного покрова. В районах, характеризующихся сильно расчлененным рельефом, содержание <sup>137</sup>Cs в верхних слоях почвы может изменяться до двух порядков [2].

В Беларуси водной эрозии подвержено 473,3 тыс. га сельскохозяйственных земель. Эродированные почвы расположены преимущественно на пахотных землях. По данным крупномасштабных почвенных исследований, в наиболее пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС районах Гомельской, Могилевской и Брестской областей водной эрозии подвержено около 65 тыс. га сельскохозяйственных земель, из них 59 тыс. га – пахотных [3].

Водная эрозия почв вызывается стоком талых вод и выпадением ливневых осадков. Соответственно, в течение года смыв почвы может наблюдаться в два периода. Первый – во время зимних оттепелей и весеннего снеготаяния, второй – в период стокообразующих дождей. Водно-эрозионные процессы проявляются на склонах в виде смыва верхней части почвенного покрова (плоскостная и струйчатая эрозия) или в виде размыва в глубину (линейная эрозия).

Эрозия, разрушая пахотный слой, приводит к выносу радионуклидов с жидким стоком и смываемой почвой. В результате этого происходит локальное перераспределение радионуклидов, так как частицы почвы с радионуклидами мигрируют с крутых участков склонов вниз и откладываются в их нижних частях, балках и поймах рек, образуя новые пятна повышенной концентрации радионуклидов. С жидким талым и ливневым стоком и взвешенными частицами почвы радионуклиды могут выноситься в водные источники [4–6].

Разные формы радионуклидов неодинаково ведут себя в миграционных процессах. Обменные формы за счет десорбции переходят в почвенный раствор и поверхностные воды, а затем в растворенном состоянии могут участвовать в процессах миграции. Необменные формы мигрируют на взвешенных частицах [7]. Следовательно, с поверхностным жидким стоком в растворенном состоянии смываются обменные формы радионуклидов, а также растворимые в воде их соединения в нейтральной и анионной формах. Необменные формы выносятся только с твердым стоком (смываемой почвой).

Количественные параметры миграции радионуклидов с жидким стоком зависят от содержания их водорастворимых и обменных форм в верхнем слое почвы, а с твердым стоком – от содержания в твердой фазе почвы и определяются интенсивностью водно-эрозионных процессов. Установлено, что в процессе водной эрозии основное количество <sup>137</sup>Сѕ и <sup>90</sup>Ѕг мигрирует с твердыми взвесями почвенных частиц [8; 9]. Темпы смыва и аккумуляции, их пространственное распределение по длине склона, обусловлены сочетанием нескольких параметров: уклон, длина и конфигурация склона; интенсивность и периодичность выпадения дождевых осадков; характер снеготаяния и состояние почвенного покрова в этот период; противоэрозионная стойкость почв; набор сельскохозяйственных культур, возделываемых на данном склоне, способ обработки почвы.

Характер смены зон эрозии и аккумуляции при общем нарастании уклона по длине склона зависит от физико-гидрологических закономерностей формирования стока наносов. При ручейковом стоке насыщение потока наносами происходит в среднем на первых 100 м длины склона. В дальнейшем перенасыщенный наносами поток частично разгружается, приводя к переотложению материала. Ниже по склону участок аккумуляции сменяется зоной смыва, где разгруженный и, следовательно, более мощный поток вновь усиливает миграцию [10]

В зависимости от параметров склона по его длине может быть несколько сменяющих друг друга зон смыва и аккумуляции. На коротких склонах содержание радионуклидов повышается к подножьям. Иногда максимальные концентрации их приурочены к ложбинам, которые проходят вблизи холмов и гряд. На длинных склонах (более 500 м) экстремальные содержания радионуклидов присутствует в их верхних и средних частях.

Отмечается [11], что при низкоконцентрированном стоке наблюдается уменьшение значений плотности в транзитной зоне середины склона по сравнению с верхней приводораздельной и нижней аккумулятивной частями склона. В случае преобладания рассеянного стока наблюдается увеличение значений плотности загрязнения в центральной части склона по сравнению с приводораздельной частью, откуда идет смыв, и с нижней частью склона, куда смыв не доносит почвенную массу, рассеивая в середине склона.

Как правило, зоны смыва по площади многократно превышают зоны аккумуляции, поэтому даже при относительно невысоких темпах смыва, которые незначительно отражаются в поле первоначального радиоактивного загрязнения, накопление смытых со склонов наносов одновременно может привести к существенному росту суммарных запасов радионуклидов в зонах аккумуляции.

Экспозиция и крутизна склона, оказывая существенное влияние на интенсивность смыва почвы и микроклиматические условия, в значительной степени определяют и миграционные потоки радионуклидов. На продольно-прямых чрезвычайно крутых склонах южной экспозиции аккумуляция <sup>137</sup>Cs в верхней, средней и нижней микрозонах в 1,6–3,7 раза выше по сравнению с аналогичными участками на северном склоне [12].

Цель исследования: изучить закономерности и количественные параметры горизонтальной миграции радионуклидов на эродированных почвах пахотных и луговых земель в зависимости от интенсивности водно-эрозионных процессов.

# Материалы и методы исследования

Исследования проводили в 2015 и 2020 гг. на 5 почвенно-геоморфологических профилях (катенах), охватывающих водораздельную часть, где смыв отсутствовал, склоновую часть с преобладанием смыва и зону аккумуляции наносов (табл. 1), на территориях землепользований КСУП «Тепличное» ОСП Конный завод № 59» Ветковского р-на (катены 1 и 2), ОАО «Уречанский» Славгородского р-на (катена 3) и ОАО «Чериковрайагропромтехснаб» Чериковского р-на (катены 4 и 5).

Таблица 1

# Месторасположение почвенно-геоморфологических катен

Table 1

# Location of soil-geomorphological catenas

№	Координат	ъ плакора	Координаты зоны аккумуляции		
катены	широта	долгота	широта	долгота	
1	52° 32′ 08,9″	31° 08′ 25,6″	52° 32′ 27,1″	31° 08′ 28,2″	
2	52° 32′ 10,6″	31° 08′ 31,1″	52° 32′ 05,5″	31° 08′ 33,9″	
3	53° 25′ 59,7″	30° 53′ 25,0″	53° 26′ 01,0″	30° 53′ 23,1″	
4	53° 35′ 53,6″	31° 31′ 40,5″	53° 35′ 55,5″	31° 31′ 39,3″	
5	53° 37′ 12,6″	31° 31′ 56,6″	53° 37′ 13,2″	31° 32′ 06,0″	

Объектами исследований являлись дерново-подзолистые и дерново-карбонатные неэродированные, эродированные и намытые легкосуглинистые и рыхлосупесчаные почвы с плотностью загрязнения  $^{137}$ Cs от 3,1 до 17,8 Ки/км $^2$  (табл. 2).

Таблица 2

# Физико-географическая характеристика почвенно-геоморфологических катен

Table 2

# Physical-geographical characteristics of soil-geomorphological catenas

	Характеристика склона		Характеристика почвы			
Вид земель (№ катены)	экспозиция форма тип		тип	грануло-метрический состав	Плотность загрязнения <sup>137</sup> Cs, Ku/км <sup>2</sup>	
Пахотные (1) Северная Пря		Прямой	Дерново-подзолистая	Легкосуглинистая	4,2-7,9	
Пахотные (2)	Юго-восточная	Выпуклый	Дерново-подзолистая	Легкосуглинистая	3,3-5,6	
Пахотные (3)	Восточная	Выпуклый	Дерново-карбонатная	Легкосуглинистая	3,1-6,5	
Пахотные (4)	Северная	Выпуклый	Дерново-подзолистая	Рыхлосупесчаная	5,4-17,8	
Луговые (5)	Юго-восточная	Выпуклый	Дерново-подзолистая	Рыхлосупесчаная	6,2-10,3	

По почвенно-геоморфологическим профилям закладывали почвенные разрезы и прикопки с их описанием и отбором почвенных образцов на глубину пахотного слоя. Удельную активность  $^{137}\mathrm{Cs}$  в почвенных образцах определяли на  $\gamma$ - $\beta$ -спектрометре МКС-AT1315. Основная относительная погрешность измерений при доверительном интервале P=95% не превышала 15-30%, аппаратурная ошибка измерений – 15%.

Прогнозные показатели получены при помощи онлайн-сервиса [15] по периоду полураспада радионуклидов, используя данные фактической удельной активности  $^{137}$ Cs на момент отбора проб в 2015 г.

# Результаты исследования и их обсуждение

В результате исследований установлено изменение удельной активности <sup>137</sup>Сs в пахотном слое почв склоновых земель с 2015 по 2020 г. (табл. 3). Она существенно варьировала в зависимости от степени эродированности почвы по элементам склона. Наблюдалось уменьшение концентрации радионуклида на склоновой части − зоне смыва (эродированные почвы) и увеличение ее в нижней части и подножье склона − в зоне аккумуляции наносов (намытые почвы). Только на почвенно-геоморфологической катене № 5, заложенной на луговых землях, выявлены меньшие различия в удельной активности <sup>137</sup>Сs между зонами аккумуляции, зоной смыва и плакором, что обусловлено более низкой интенсивностью водно-эрозионных процессов и, следовательно, горизонтальной миграцией радионуклида.

Таблица 3

# Изменение удельной активности <sup>137</sup>Сs на склоновых сельскохозяйственных землях

 $Table \ 3$  Change in the specific activity of  $^{137}Cs$  on slope agricultural lands

Элемент рельефа	Эродированность	Удельная активность <sup>137</sup> Cs в почве, Бк/кг		Изменение удельной активности <sup>137</sup> Cs в 2020 г. по отношению к 2015 г.	
	почвы	2015 г.	2020 г.	Бк/кг	%
	Почвенно-ге	оморфологиче	ская катена №	2 1	
Плакорная часть	Неэродированная	600,5	503,7	0,0	0,0
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	572,6	416,2	-87,5	-17,4
Подножье склона – зона акку муляции наносов	Намытая	667,2	780,3	+276,6	+54,9
	Почвенно-ге	оморфологиче	ская катена №	2 2	
Плакорная часть	Неэродированная	568,3	493,7	0,0	0,0
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	535,4	410,0	-83,7	-17,0
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	424,0	344,5	-149,2	-30,2
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	392,4	320,2	-173,5	-35,1
Подножье склона – зона акку муляции наносов	Намытая	465,2	567,8	+157,8	+32,0
	Почвенно-ге	оморфологиче	ская катена №	23	
Плакорная часть	Неэродированная	493,4	402,0	0,0	0,0
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	450,5	379,2	-22,8	-5,7
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	275,4	205,1	-196,9	-49,0
Подножье склона – зона акку муляции наносов	Намытая	465,9	643,1	+241,1	+60,0
	Почвенно-ге	оморфологиче	ская катена №	2 4	
Плакорная часть	Неэродированная	1168,8	1029,4	0,0	0,0
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	702	596,8	-432,6	-42,0
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	617	532,4	-497,0	-48,3
Подножье склона – зона аккумуляции наносов	Намытая	912,1	1031,7	+2,3	0,2
Подножье склона – зона аккумуляции наносов	Намытая	1438,7	1753,4	+724,0	+70,3
	Почвенно-ге	оморфологиче	ская катена №	2.5	
Плакорная часть	Неэродированная	1016,6	886,6	0,0	0,0
Склоновая часть – зона смыва	Эродированная	747,2	628,6	-258,0	-29,1
Подножье склона – зона аккумуляции наносов	Намытая	669,2	612,4	-274,2	-30,9
Подножье склона – зона акку муляции наносов	Намытая	680,9	622,1	-264,5	-29,8

Наибольшее изменение в почве по склону отмечено на почвенно-геоморфологических катенах № 3 и 4. Активность  $^{137}$ Cs на плакоре была почти в 2 раза выше по сравнению со склоновой частью (зоной смыва).

В целом на эродированных почвах, расположенных на склоне, удельная активность <sup>137</sup>Cs в пахотном слое была ниже, чем на неэродированных и намытых почвах на 5,7–49,0 и 32,0–70,3 % соответственно. Такие различия обусловлены интенсивностью процессов водной эрозии и особенностями рельефа. Предыдущими исследованиями установлено, что потенциальный смыв почвы на катенах 1, 2 и 4 составляет от 5 до 10 т/га в год, а на катене 3–15 т/га в год [13].

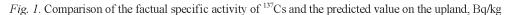
Наибольшая активность <sup>137</sup>Cs в почве на всех изученных почвенно-геоморфологических катенах пахотных земель отмечалась на намытых почвах в зоне аккумуляции наносов. В отдельных случаях она достигала 1753,4 Бк/кг.

Результаты наших исследований подтверждаются литературными данными, в которых отмечается, что разница между плотностью загрязнения радионуклидами на территории с высокой вертикальной расчлененностью рельефа может достигать 2–5 Ки/км<sup>2</sup> [14]. Такое распределение совпадает с горизонтальной миграцией элементов в элементарных геохимических ландшафтах.

На основе полученных данных при помощи онлайн-сервиса [15] и с целью оценки вклада эрозионно-аккумулятивных процессов в перераспределение радиоцезия в агроландшафтах выполнен прогноз удельной активности радионуклида. Расчетные данные сравнивались с фактическими экспериментальными значениями, затем построены кривые удельной активности <sup>137</sup>Сs в пахотном слое почвы, отражающие фактические и прогнозные показатели. Наиболее высокая степень сходимости фактических и прогнозных показателей в пахотном слое отмечалась для неэродированных почв (рис. 1–3).



 $\it Puc.~1$ . Сравнение фактической удельной активности  $^{137}{\rm Cs}$  и прогнозного значения на плакоре,  ${\rm Ek/kr}$ 





*Puc. 2.* Сравнение фактической удельной активности <sup>137</sup>Cs и прогнозного значения в зоне смыва, Бк/кг

Fig. 2. Comparison of the factual specific activity of 137Cs and the predicted value in the runoff zone, Bq/kg



Рис. 3. Сравнение фактической удельной активности 137Cs и прогнозного значения в зоне аккумуляции, Бк/кг

Fig. 3. Comparison of the factual specific activity of 137Cs and the predicted value in the accumulation zone, Bq/kg

Фактические величины удельной активности  $^{137}$ Сs в зоне смыва ниже, чем прогнозные. Различия достигали 16,9-18,9%, что хорошо иллюстрирует роль водно-эрозионных процессов в миграции радионуклида. Для зоны аккумуляции наносов характерна обратная тенденция – прогнозные величины активности  $^{137}$ Сs в почве на катенах 1-4 были ниже фактических значений на 20,5-54,0%. Это согласуется с теорией перераспределения элементов в геохимических ландшафтах.

Значительные различия в зоне аккумуляции катены № 4 объясняется сложностью рельефа. Если первая точка отбора почвенных образцов находится в зоне аккумуляции преимущественно одного склона (по которому проложена катена), то вторая точка является зоной аккумуляции изучаемого склона и нескольких прилегающих к нему.

Роль фактора землепользования (пахотные или луговые земли) в перераспределении  $^{137}$ Сs в агроланд-шафте показана на примере почвенно-геоморфологической катены № 5, расположенной на луговых землях. Фактические и прогнозные значения активности  $^{137}$ Сs в почве были очень близкими, а в зоне аккумуляции наносов – практически идентичны.

Проведенные исследования подтверждают ранее полученные результаты, свидетельствующие, что на луговых землях удельная активность <sup>137</sup>Cs в почве изменяется в основном согласно закону его радиоактивного распада, а на пахотных – различие могут быть обусловлены и эрозионно-аккумулятивными процессами.

## Заключение

Количественные параметры горизонтальной миграции <sup>137</sup>Cs с водно-эрозионными процессами зависят от плотности радиоактивного загрязнения почвы, величины жидкого и твердого стока, интенсивности использования склоновых земель. На эродированных почвах, расположенных на склоне, удельная активность <sup>137</sup>Cs в пахотном слое ниже, чем на неэродированных и намытых почвах на 5,7–49,0 и 32,0–70,3 % соответственно. Наибольшая удельная активность <sup>137</sup>Cs в почве отмечается на намытых почвах в зоне аккумуляции наносов.

Влияние эрозионно-аккумулятивных процессов на перераспределение радионуклидов в верхнем слое почвы на пахотных склоновых землях необходимо учитывать при проведении крупномасштабного картографирования загрязненных радионуклидами территорий и использовании сельскохозяйственных земель.

# Библиографические ссылки

- 1. Голосов ВН. Эрозионно-аккумулятивные процессы в речных бассейнах освоенных равнин. Москва: ГЕОС; 2006. 296 с.
- 2. Санжарова НИ, Фесенко СВ, редакторы. *Радиоэкологические последствия аварии на Чернобыльской АЭС: биологические* эффекты, миграция, реабилитация загрязненных территорий. Москва: PAH; 2018. 278 с.
  - 3. Кузнецов ГИ, Смеян НИ, редакторы. Почвы сельскохозяйственных земель Республики Беларусь. Минск: Оргстрой; 2001. 432 с.
- 4. Пристер БС. Вертикальная и горизонтальная миграция радионуклидов в агроландшафтах зоны аварии на Чернобыльской АЭС. Доклады АН Украины. Математика, естествознание, технические науки. 1993;1:163–171.
- 5. Коробова ЕМ. Ландшафтно-геохимический подход к изучению загрязнения некоторых природных геосистем в дальней зоне воздействия аварии на ЧАЭС. В: *Радиационные аспекты Чернобыльской аварии. Труды I Всесоюзной конференции.* Обнинск: [б. н.]; 1993. с. 225–231.
  - 6. Матвеев АВ. Влияние эрозионных процессов на миграцию радионуклидов. Доклады АН Беларуси. 1994;38(1):98–101.
- 7. Борзилов ВА, Бобовникова ЦИ, Коноплев АВ. Формы нахождения долгоживущих радионуклидов в природных средах и их роль в процессах миграции. В: *Радиационные аспекты Чернобыльской аварии. Труды I Всесоюзной конференции. Том 1.* Обнинск: [б. н.]; 1993. с. 168–172.

- 8. Кузнецов ВК, Санжарова НИ. Горизонтальная и вертикальная миграпия <sup>40</sup>K, <sup>137</sup>Cs, <sup>226</sup>Ra, <sup>232</sup>Th и <sup>241</sup>Am на обрабатываемых склоновых агроландшафтах Пензенской области различной степени крутизны. *Экология*. 1997;2:150–152.
  - 9. Борзилов ВА, Коноплев АВ, Ревина СК. Горизонтальная миграция <sup>137</sup>С s. *Метеорология и гидрология*. 1988;11:43–53.
- 10. Голосов ВН, Жукова ОМ, Маркелов МВ. Учет эрозии почв при проведении радиационного мониторинга. В: *Радиоактивность после ядерных взрывов и аварий. Труды Международной конференции, Москва, 5–6 декабря 2005 г. Том 2.* Санкт-Петербург: Гидрометеоиздат, 2006. с. 332–338.
- 11. Квасникова ЕВ, Стукин ЕД, Голосов ВН. Неравномерность загрязнения цезием-137 территорий, расположенных на большом расстоянии от Чернобыльской АЭС. *Метеорология и гидрология*. 1999;2:5–11.
- 12. Кузнецов ВК, и др. Горизонтальная и вертикальная миграния <sup>137</sup>Сs в склоновых ландшафтах. *Радиационная биология*. *Радиоэкология*. 2009;49(3):282–290.
- 13. Цыбулька НН, и др. Горизонтальная миграпия  $^{137}$ Cs при водной эрозии почв. *Радиационная биология*. *Радиоэкология*. 2004;44(4):484–488.
- 14. Черныш АФ, Аношко ВС. Миграция и аккумуляция радионуклидов в эродированных агроландшафтах Белорусского Полесья. Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География. 2006;1:98–102.
- 15. Прогнозирование изменения удельной активности радиоактивных элементов [Интернет]. Интернет-портал о радиоактивности [процитировано 22 января 2021]. Доступно по: http://www.radprocalculator.com/Decay.aspx.

# References

- 1. Golosov VN. *Erozionno-akkumulyativnyye protsessy v rechnykh basseynakh osvoyennykh ravnin* [Erosion-accumulative processes in the river basins of the developed plains]. Moscow: GEOS; 2006. 296 p. Russian.
- 2. Sanzharova NI, Fesenko SV, editors. Radioecological consequences of the accident at the Chernobyl nuclear power plant: biological effects, migration, rehabilitation of contaminated areas. Moscow: RAS; 2018. 278 p. Russian.
- 3. Kuznetsov GI, Smeyan NI, editors. *Pochvy sel'skokhozyaystvennykh zemel Respubliki Belarus* [Soils of agricultural lands of the Republic of Belarus]. Minsk: Orgstroy; 2001.432 p. Russian.
- 4. Prister BS. Vertical and horizontal migration of radionuclides in agricultural landscapes of the accident zone at the Chernobyl nuclear power plant. *Reports of the Academy of Sciences of Ukraine. Mathematics, natural science, technical sciences.* 1993;1:163–171.
- 5. Korobova EM. Landscape-geochemical approach to the study of pollution of some natural geosystems in the far zone of the Chernobyl accident. In: *Radiation aspects of the Chernobyl accident. Trudy I Vsesojuznoy konferentsii. Tom 1.* Obninsk: [publisher unknown]; 1993. p. 225–231. Russian.
- 6. Matveev AV. Influence of erosion processes on the migration of radionuclides. *Reports of the Academy of Sciences of Belarus*. 1994;38(1):98–101. Russian.
- 7. Borzilov VA, Bobovnikova TSI, Konoplev AV. Forms of finding long-lived radionuclides in natural environments and their role in migration processes. In: *Radiation aspects of the Chernobyl accident. Trudy I Vsesojuznoy konferentsii. Tom 1.* Obninsk: [publisher unknown]; 1993. p. 168–172. Russian.
- 8. Kuznetsov VK, Sanzharova NI. Horizontal and vertical migration of <sup>40</sup>K, <sup>137</sup>Cs, <sup>226</sup>Ra, <sup>232</sup>Th and <sup>241</sup>Am on the cultivated slope agrolandscapes of the Penza region of varying degrees of steepness. *Ecology*. 1997;2:150–152. Russian.
  - 9. Borzilov VA, Konoplev AV, Revina SK. Horizontal migration of <sup>137</sup>Cs. Meteorology and Hydrology. 1988;11:43–53. Russian.
- 10. Golosov VN, Zhukova OM, Markelov MV. Accounting for soil erosion during radiation monitoring. In: *Radioactivity after nuclear explosions and accidents. Trudy Mezhdunarodnoy konferentsii. Moscow, 2005 December, 5–6. Tom 2.* Saint Petersburg: Gidrometeoizdat, 2006. p. 332–338. Russian.
- 11. Kvasnikova EV, Stukin ED, Golosov VN. Unevenness of cesium-137 contamination of territories located at a great distance from the Chernobyl nuclear power plant. *Meteorology and Hydrology*. 1999;2:5–11. Russian.
- 12. Kuznetsov VK, et al. Horizontal and vertical migration of <sup>137</sup>Cs in slope landscapes. *Radiation biology. Radioecology.* 2009;49(3):282–290. Russian.
- 13. Tsybulka NN, et al. Horizontal migration of 137Cs during water erosion of soils. *Radiation biology. Radioecology.* 2004;44(4):484–488. Russian.
- 14. Chernysh AF, Anoshko VS. Migration and accumulation of radionuclides in eroded agricultural landscapes of Belarusian Polesie. BSU Bulletin. Series 2, Chemistry. Biology. Geography. 2006;1:98–102. Russian.
- 15. Prediction of changes in the specific activity of radioactive elements [Internet]. Internet portal about radioactivity [cited 2021 January 22]. Available from: http://www.radprocalculator.com/Decay.aspx

Статья поступила в редколлегию 20.08.2021. Received by editorial board 20.08.2021.

# СОДЕРЖАНИЕ

СОЦИАЛЬНО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ УСТОЙЧИВОГО РАЗВИТИЯ
Козленко А. В. Пандемии Поздней античности
изучение и реабилитация экосистем
Гасымова Х. Г., Абдыева Р. Т., Али-заде В. М. Особенности флуктуаций эфемерово-эфемероидовой синузии в полупустынных фитоценозах Кура-Аразской низменности в связи с климатическими изменениями
Падутов В. Е. Влияние факторов окружающей среды на популяционно-генетическую структуру дуба черешчатого ( <i>Quercus robur</i> L.) в Беларуси
Потапов Д. В., Галиновский Н. Г., Аверин В. С., Демиденко О. М. Предотвращение вредного воздействия на объекты животного мира при обустройстве и эксплуатации нефтяных скважин
РАДИОЛОГИЯ И РАДИОБИОЛОГИЯ, РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ
Кляус В. В., Николаенко Е. В., Жукова О. М., Кочергина Н. С. Прогнозная оценка последствий тяжелой аварии на Белорусской АЭС для здоровья населения
<b>МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ</b>
Батян А. Н., Демешко П. Д., Гончарова Е. В., Пухтеева И. В. Эволюция радиобиологических моделей: от зарождения представлений до современных подходов оценки эффектов лучевой терапии
<i>Тарун Е. И., Кухта А. Н., Небокаткина А. А., Курченко В. П.</i> Антиоксидантная активность экстрактов цветов и листьев тысячелистника
Пухтеева И. В., Каурова А. В., Герасимович Н. В., Левин М. Л., Малькевич Л. А. Анализ физико-химических характеристик мембран клеток крови пациентов с ревматоидным артритом
Мохаммед А. Дж., Нижегородова Д. Б., Воробей А. В., Старостин А. М., Зафранская М. М. Субпопуляционный состав интраэпителиальных лимфоцитов у пациентов с болезнью Крона
Свирская А. В., Нижегородова Д. Б., Комиссаров К. С., Минченко Е. И., Пилотович В. С., Зафранская М. М. Характеристика γδТ-лимфоцитов у пациентов с IgA-нефропатией
промышленная и аграрная экология
<i>Цыбулько Н. Н., Цырибко В. Б., Устинова А. М., Логачёв И. А., Митькова А. А.</i> Влияние эрозионно-аккумулятивных процессов на перераспределение <sup>137</sup> Cs на склоновых землях

# **CONTENTS**

SOCIAL AND ENVIRONMENTAL PROBLEMS OF SUSTAINABLE DEVELOPMENT	ı
Kozlenko A. V. Pandemics of Late Antiquity	4
THE STUDY AND REHABILITATION OF ECOSYSTEMS	
Gasimova Kh. H., Abdiyeva R. T., Ali-zade V. M. Features of the fluctuation of the ephemerous-ephemeroid synusion in the semi-desert phytocenosis of the Kura-Araz lowland in connection with climatic changes	11
Padutov V. E. The influence of environmental factors on the population genetic structure of the pedunculate oak (Quercus robur L.) in Belarus	18
Potapov D. V., Galinovskiy N. G., Averin V. S., Demidenko O. M. Preventing the harmful effect on fauna at oil wells arrangement and operation	27
RADIOLOGY AND RADIOBIOLOGY, RADIATION SAFETY	
Kliaus V. V., Nikalayenka A. U., Zhukova O. M., Kacharhina N. S. Prognosys of the consequences of the severe accident at the Belorusian NPP to public health	40
MEDICAL ECOLOGY	
Batyan A. N., Demeshko P. D., Hancharova E. V., Pukhteeva I. V. Evolution of radiobiological models: from concept generation to current knowledge about the effects of radiotherapy	49
Tarun E. I., Kuxta A. N., Nebokatkina A. A., Kurchenko V. P. Antioxidant activity of extracts of milfoil flowers and leaves	57
Puhteeva I. V., Kaurova A. V., Gerasimovich N. V., Levin M. L., Malkevich L. A.  Analysis of physicochemical characteristics of blood cell membranes of patients with rheumatoid arthritis	66
Mohammad A. J., Nizheharodava D. B., Varabei A. V., Starastsin A. M., Zafranskaya M. M. Intraepithelial lymphocytes subsets in Crohn's disease patients	73
Svirskaya A. V., Nizheharodava D. B., Komissarov K. S., Minchenko E. I., Pilotovich V. S., Zafranskaya M. M. γδΤ-lymphocytes in patients with IgA-nephropathy	82
INDUSTRIAL AND AGRICULTURAL ECOLOGY	
Tsybulka M. M., Tsyrybka V. B., Ustsinava H. M., Lahachou I. A., Mitskova A. A.  Influence of erosion-accumulative processes on <sup>137</sup> Cs redistribution on slope lands	90

Журнал включен Высшей аттестационной комиссией Республики Беларусь в Перечень научных изданий для опубликования результатов диссертационных исследований по биологическим, сельско-хозяйственным и техническим (экология) наукам.

Журнал включен в библиографическую базу данных научных публикаций «Российский индекс научного цитирования» (РИНЦ).

# Журнал Белорусского государственного университета. Экология. № 3. 2021

Учредитель:

Белорусский государственный университет

Юридический адрес: пр. Независимости, 4, 220030, Минск. Почтовый адрес: ул. Долгобродская, 23/1, 220070, Минск. Тел. 398-89-34, 398-93-44. www.iseu.bsu.by E-mail: jecology@bsu.by

«Журнал Белорусского государственного университета. Экология» издается с сентября 2017 г. До августа 2017 г. выходил под названием «Экологический вестник» (ISSN 1994-2087).

Редактор Л. М. Кореневская Технический редактор М. Ю. Мошкова Корректор М. Ю. Мошкова

> Подписано в печать 25.09.2021. Тираж 100 экз. Заказ.

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь» ЛП № 02330/89 от 3 марта 2014. Ул. Кальварийская, 17, 220004, Минск.

Journal of the Belarusian State University. Ecology. No. 3. 2021

Founder:

Belarusian State University

Registered address: 4 Niezaliežnasci Ave., 220030, Minsk.
Correspondence address: 23/1 Daūhabrodskaja Str., 220070, Minsk.
Tel. 398-89-34, 398-93-44.
www.iseu.bsu.by
E-mail: jecology@bsu.by

«Journal of the Belarusian State University. Ecology» published since September, 2017. Until August, 2017 named «Ekologicheskii vestnik» (ISSN 1994-2087).

Editor *L. M. Korenevskaya* Technical editor *M. Yu. Moshkova* Proofreader *M. Yu. Moshkova* 

Signed print 25.09.2021. Edition 100 copies. Order number.

RUE «Information Computing Center of the Ministry of Finance of the Republic of Belarus». License for publishing No. 02330/89, 3 March, 2014. 17 Kalvaryjskaya Str., 220004, Minsk.

© БГУ, 2021

© BSU, 2021