



45 лет
27 Научному центру
Министерства обороны
Российской Федерации



ТЕМА НОМЕРА:

НАУЧНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
СОБЛЮДЕНИЯ КОНВЕНЦИИ
О ЗАПРЕЩЕНИИ ХИМИЧЕСКОГО
И БИОЛОГИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
ФГБУ «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации

ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

JOURNAL OF NBC PROTECTION CORPS



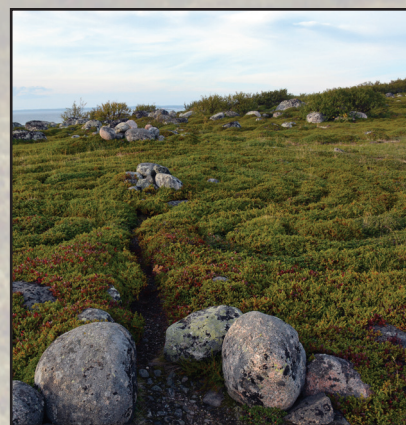
В НОМЕРЕ:

Том 3, № 4
октябрь-декабрь
2019

- ◆ Федеральному Государственному Бюджетному Учреждению «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации исполняется 45 лет
- ◆ Возможности сохранения работоспособности при отравлениях фосфорорганическими соединениями

Наша замечательная Россия

Андреевский скит на Большом Заяцком острове в Белом море



Большой и Малый Заяцкие острова входят в состав Соловецкого архипелага. Площадь островов – 1,4 и 1,1 км² соответственно. Растительность характерная для южной тундры. Когда-то на островах гнездилась крупная морская птица из семейства утиных – гага, и монахи приезжали сюда за яйцами, отсюда название островов. Обустройство острова началось в середине XVI в. при игумене, а впоследствии Патриархе Московском Филиппе (Федор Степанович Колычев, 1507–1569). Во время второго посещения монастыря в 1702 г. Петром I имевшаяся на острове часовня была перестроена в церковь во имя святого апостола Андрея Первозванного. По легенде, в этой церкви в ночь с 15 на 16 августа был освящен Андреевский флаг – главный корабельный кормовой флаг Российского флота. Через два месяца после посещения Соловков Петр I овладел шведской крепостью Нотебург (бывшая русская крепость Орешек). В 50 км от нее, на Заячьем острове, в устье Невы в мае 1703 г. он основал крепость во имя святых апостолов Петра и Павла. Так от церкви на Заяцком острове в Белом море, на Заячьем острове на Неве началась славная история новой столицы России и Балтийского флота. На верхней фотографии церковь Андрея Первозванного, далее поварня и гостеприимный дом. На фотографии внизу слева – каменная гавань XVI в. Фотография внизу в центре – Соловецкий монастырь. Расположен в 5 км от Большого Заяцкого острова. Фотография внизу справа – древний лабиринт. Их здесь не менее 13. Самый большой 24,4 м. Назначение не понятно.

Фотографии М.В. Супотницкого



ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

ISSN 2587-5728
(Print)

Том 3, № 4
2019 г.

Журнал издается
с 2017 года

Рецензируемый научно-практический журнал, специализирующийся на освещении химических и биологических угроз Российской Федерации, научных достижений по основным направлениям деятельности и задачам войск РХБ защиты ВС РФ, повышении профессионального уровня специалистов войск РХБ защиты ВС РФ, возрождении интереса к их истории и привлечении молодых ученых к работе в научно-исследовательских организациях войск РХБ защиты ВС РФ

Учредитель и издатель

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр»
Министерства обороны
Российской Федерации
(27 НЦ МО РФ)

Выходит ежеквартально

Главный редактор

д-р техн. наук, доц. Петров С.В. (Москва)

Заместители главного редактора

канд. биол. наук, снс Супотницкий М.В. (Москва)
канд. техн. наук, доц. Колесников Д.П. (Москва)

Ответственный секретарь

Шило Н.И. (Москва)

Научный редактор

канд. биол. наук Лебединская Е.В. (Москва)

Редакционная коллегия

член-корреспондент РАН, д-р биол. наук, проф.
Аминин Д.Л. (Владивосток)
д-р мед. наук, проф. Дармов И.В. (Киров)
д-р биол. наук, проф. Ефременко Е.Н. (Москва)
д-р биол. наук, проф. Завьялова Н.В. (Москва)
д-р техн. наук, проф. Мухин В.М.
(Электросталь)
д-р мед. наук, проф. Рембовский В.Р.
(Санкт-Петербург)
д-р хим. наук Родин И.А. (Москва)
д-р хим. наук, проф. Рыбальченко И.В. (Москва)
д-р хим. наук Савельева Е.И. (Санкт-Петербург)

Редакционный совет

Председатель –
канд. воен. наук Кириллов И.А. (Москва)

Заместители председателя:

канд. экон. наук Кикоть С.Г. (Москва)
канд. хим. наук, доц. Ковтун В.А. (Москва)

Члены редакционного совета:

д-р мед. наук, проф. Гладких В.Д. (Москва)
Емельянов И.М. (Кострома)
канд. хим. наук Иноземцев В.А. (Вольск)
д-р техн. наук, проф. Кондратьев В.Б. (Москва)
д-р биол. наук, проф. Стяжкин К.К. (Тамбов)
канд. мед. наук Туманов А.С. (Киров)
канд. техн. наук Тырышкин С.Н. (Москва)
д-р хим. наук, проф. Холстов В.И. (Москва)

Дизайн, верстка: Сластилова Л.М. (Москва)

Адрес редакции:

27 НЦ МО РФ, 105005, г. Москва,
Бригадирский пер., д. 13.
Тел.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mil.ru.
Издание зарегистрировано Федеральной
службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых
коммуникаций (Роскомнадзор).
Свидетельство о регистрации средства
массовой информации
П/И № ФС 77-69472 от 25.04.2017 г.
Все права защищены. При перепечатке
материалов и размещении их на
интернет-ресурсах ссылка на журнал
обязательна.

Подписано в печать: 05.12.2019 г. Тираж 500 экз.
Отпечатано в типографии:
ГУП «ЦНИИХМ им. Д.И. Менделеева»,
115487, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 16 А.
Тел.: 8 (499) 661-80-46, e-mail: ntrved@cniihm.ru

СОДЕРЖАНИЕ

Поздравления и обращения к личному составу 27 Научного центра	303
Редакционная статья	
Федеральному государственному бюджетному учреждению «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации исполняется 45 лет В.А. Ковтун.	307
Химическая безопасность и защита от химического терроризма	
Возможности сохранения работоспособности при отравлениях фосфорорганическими соединениями А.Ю. Микшта, Л.П. Эрдниев, А.А. Власов, И.В. Леготин, И.А. Ермолаева, С.А. Комиссаренко, И.А. Нельга	311
Биологическая безопасность и защита от биологических угроз	
Обоснование выбора лабораторной модели для доклинической оценки медицинских средств защиты в отношении боливийской геморрагической лихорадки Т.Е. Сизикова, В.Н. Лебедев, В.Б. Пантюхов, Е.Ю. Вахнов, С.В. Борисевич	319
Новые представители семейства Filoviridae: распространение, природные резервуары, потенциальная эпидемическая опасность Т.Е. Сизикова, Н.В. Боярская, А.В. Ковальчук, В.Н. Лебедев, С.В. Борисевич	329
Вакцинопрофилактика сибирской язвы в Российской Федерации и ее ближайшие перспективы А.Н. Шевцов, О.В. Коротышев, С.А. Пермяков, И.П. Погорельский	337
Иммуноотропные и иммуногенные свойства неспецифических поринов иерсиний О.Д. Новикова, О.Ю. Портнягина, О.П. Вострикова, В.А. Иванис	350
Вооружение и средства войск РХБ защиты	
Разработка специальных интерактивных обучающих компьютерных программ для подготовки специалистов войск радиационной, химической и биологической защиты К.П. Кузнецова, С.Н. Солнышков	373
Охрана результатов интеллектуальной деятельности в войсках РХБ защиты	
Что следует знать при патентовании изобретений, созданных в войсках радиационной, химической и биологической защиты М.В. Супотницкий	381
Хроника	
Памяти Антонова Николая Серафимовича (16.12.1924 г. – 5.01.2019 г.)	394
Маньковский Геннадий Иванович (к 70-летию со дня рождения)	395
Каляев Николай Иванович (к 70-летию со дня рождения)	396
Участие представителей войск РХБ защиты ВС РФ в заседании XXIII Всемирного русского народного собора	397
Заложен прочный фундамент сотрудничества с Русской Православной Церковью	398
Указатель авторов и статей журнала за 2019 год	399

Журнал включен в научную электронную библиотеку eLIBRARY.RU и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).
Условия откаты для авторов приведены в п. 11 Правил направления и опубликования научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты» (Вестник войск РХБ защиты. 2019. № 1. С. 89–96).
К публикации принимаются статьи на русском и английском языках, подготовленные в соответствии с «Правилами направления и опубликования научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты». Статьи проходят рецензирование не менее чем двумя рецензентами. Используются модели двойного слепого рецензирования либо открытого рецензирования (по выбору авторов). Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописей не взимается, ускоренная публикация не допускается. Труды заочных конференций не публикуются.
Журнал распространяется в органах законодательной и исполнительной власти Российской Федерации, в центральных органах военного управления, в научно-исследовательских организациях и образовательных учреждениях Министерства обороны Российской Федерации, в организациях и на предприятиях промышленности, работающих в сфере РХБ защиты, а также поступает в Российскую государственную библиотеку, Российскую национальную библиотеку и другие крупнейшие библиотеки Российской Федерации. Позиция редакции может не совпадать с точкой зрения авторов.



Published since
2017

JOURNAL

OF NBC PROTECTION CORPS

ISSN 2587-5728
(Print)
Vol. 3 No 4
2019

«Journal of NBC Protection Corps» is a peer-reviewed scientific and practical journal, publishing papers in the fields of chemical and biological threats to the Russian Federation. It covers scientific achievements in the main spheres and tasks of the NBC Protection Troops. The objective of the journal is to improve the professional level of specialists of the NBC Protection Troops, to revive the interest in their history and to attract young scientists to the work in scientific research organization of the NBC Protection Troops

Founder and Publisher

Federal State Budgetary Establishment
«27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence
of the Russian Federation.

Quarterly Edition

Editor-in-Chief

Doctor of Technical Sciences, Associate Professor
Petrov S.V. (Moscow)

Deputy Editors-in-Chief

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Supotnitskiy M.V. (Moscow)

Candidate of Technical Sciences, Associate Professor
Kolesnikov D.P. (Moscow)

Executive Secretary

Shilo N.I. (Moscow)

Science Editor

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Lebedinskaya E.V. (Moscow)

Editorial Board

Corresponding Member of RAS, Doctor of Biological
Sciences, Professor Aminin D.L. (Vladivostok)

Doctor of Medical Sciences, Professor

Darmov I.V. (Kirov)

Doctor of Biological Sciences, Professor

Efremenko E.N. (Moscow)

Doctor of Biological Sciences, Professor

Zavyalova N.V. (Moscow)

Doctor of Technical Sciences, Professor

Mukhin V.M. (Elektrostal)

Doctor of Medical Sciences, Professor

Rembovskiy V.R. (St.-Petersburg)

Doctor of Chemical Sciences Rodin I.A. (Moscow)

Doctor of Chemical Sciences, Professor

Rybalchenko I.V. (Moscow)

Doctor of Chemical Sciences

Savelieva E.I. (St.-Petersburg)

Editorial Council

Chairman –

Candidate of Military Sciences Kirillov I.A. (Moscow)

Vice-Chairmen:

Candidate of Economical Sciences Kikot S.G.

(Moscow)

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor

Kovtun V.A. (Moscow)

Editorial Council Members:

Doctor of Medical Sciences, Professor

Gladikh V.D. (Moscow)

Emelyanov I.M. (Kostroma)

Candidate of Chemical Sciences

Inozemcev V.A. (Volsk)

Doctor of Technical Sciences, Professor

Kondratyev V.B. (Moscow)

Doctor of Biological Sciences, Professor

Styazhkin K.K. (Tambov)

Candidate of Medical Sciences Tumanov A.S. (Kirov)

Candidate of Technical Sciences

Tyryshkin S.N. (Moscow)

Doctor of Chemical Sciences, Professor

Kholstov V.I. (Moscow)

CRC preparation: Slastilova L.M. (Moscow)

Address of the Editorial Office

Federal State Budgetary Establishment
«27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence
of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13,
Moscow 105005, Russian Federation.

Tel.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mil.ru.

Publication is registered by the Federal

Service for Supervision in the Sphere of

Telecom, Information Technologies and Mass

Communications.

Certification of the Mass Media

ПИ № ФС 77-69472, April 25, 2017.

All rights reserved. Links to the journal are

obligatory while citing.

The publication data for the journal is 5 December,

2019.

Circulation: 500 copies.

Published in: Federal State Unitary Establishment

«TsNIIKhM» named after D.I. Mendeleev,

Nagatinskaya Str. 16A, Moscow 115487, Russian

Federation Tel.: 8 (499) 661-80-46,

e-mail: ntrved@cniihm.ru

Contents

Congratulations to the Personnel of the 27 Scientific Centre 303

Editorial

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry
of Defence of the Russian Federation, 45-th Anniversary

V.A. Kovtun 307

Chemical Security and Protection against Chemical Terrorism

The Possibilities of Working Capacity Maintenance at Organophosphorous
Compounds Intoxication

A.Yu. Mikshta, L.P. Erdniev, A.A. Vlasov, I.V. Legotin, I.A. Ermolaeva,
S.A. Komissarenko, I.A. Nelga 311

Biological Security and Protection against Biological Threats

Validation of Choice of Laboratory Model for Preclinical Estimation of Medical
Protectors Against Bolivian Hemorrhagic Fever

T.E. Sizikova, V.N. Lebedev, V.B. Pantukhov, E.Y. Vakhnov, S.V. Borisevich 319

The New Members of Filoviridae Family: Distribution, Natural Reservoirs,
Potential Epidemic Danger

T.E. Sizikova, N.V. Boyarskaya, A.V. Kovalchuk, V.N. Lebedev, S.V. Borisevich 329

Vaccinal Prevention of Anthrax in the Russian Federation and Its Immediate
Prospects

A.N. Shevtsov, O.V. Korotyshev, S.A. Permyakov, I.P. Pogorelsky 337

Immunotropic and Immunogenic Properties of Nonspecific Yersinia Porins

O.D. Novikova, O.Yu. Portnyagina, O.P. Vostrikova, V.A. Ivanis 350

NBC Defence Troops Weapons and Means of NBC Protection

The Development of Special Interactive Teaching Computer Programs
for the Training of the Specialists of Radiological, Chemical and Biological
Defence Troops

K.P. Kuznetsova, S.N. Solnyshkov 373

Protection of Results of Intellectual Activity in the Russian NBC

Protection Troops

Preparation of Applications for Inventions Created in the Nuclear, Biological and Chemical
Protection Troops

M.V. Supotnitskiy 381

Cronicle

In Memoriam Antonov Nikolay Serafimovich (16.12.1924 – 5.01.2019) 394

Mankovsky Gennady Ivanovich, 70-th Birth Anniversary 395

Kalyaev Nikolay Ivanovich, 70-th Birth Anniversary 396

The Representatives of NBC Protection Troops Took Part in the Meeting
of the XXIII World Russian People's Cathedral 397

On the Cooperation with the Russian Orthodox Church 398

2019 Index 399

The journal is included into the scientific electronic library eLIBRARY.RU and the Russian Science Citation Index
*Terms of the offer for the authors are given in the Article 11 of the Rules for the authors (Journal of NBC
Protections Corps. 2019. V. 3. No 1. P. 89–96).*

Only articles prepared in Russian and English languages and in accordance with the Rules for the Authors of Sending
and Publishing of the Articles in the «Journal of NBC Protection Corps», are acceptable for the publication. All research
articles are peer reviewed by at least two suitably qualified experts. Double-blind peer review and open peer review
are both available by the authors' choice. The journal does not charge article-processing, publication and peer review
fees. Accelerated publication is not allowed. The papers from correspondence conferences are not published.
The journal is distributed among the bodies of legislative and executive power of the Russian Federation, in
the main military headquarters, scientific and research institutions and educational establishments of the
Ministry of Defence of the Russian Federation, in engineering, experimental design offices and industrial and
manufacturing structures, working in the sphere of NBC Defence. The journal is distributed also among the main
libraries of the Russian Federation, including Russian State Library and Russian National Library
The information and views set out in this publication are those of the author(s) and do not necessarily reflect the
official opinion of the Editorial Board.

Уважаемые товарищи!

Поздравляю вас с замечательной датой в жизни вашего коллектива – 45-летием со дня образования 27 НЦ МО РФ!

На сегодняшний день Центр является головной научной организацией войск радиационной, химической и биологической защиты ВС РФ по научному обоснованию и подготовке предложений руководству страны по обеспечению защиты национальных интересов, поддержанию паритета и безопасности государства в военно-химической области.

Основу Центра составляют высококвалифицированные офицеры и гражданский персонал, имеющие высокий научный потенциал, профессиональную подготовку в вопросах общей и военной химии, биологии, медицины. Коллектив Научного центра комплектуется офицерским составом, прошедшим практическую работу в войсках, научно-исследовательских организациях, на полигонах МО РФ и обладающим высокими военно-техническими знаниями и навыками, полученными при выполнении сложных и ответственных задач по укреплению обороноспособности нашего государства в области военно-химических проблем, подготовке кадров высшей квалификации. За годы своего существования Центр приобрел тесные научные связи с научно-исследовательскими организациями МО и промышленности, осуществлял и осуществляет руководство и координацию важнейших научных исследований, проводимых в организациях и на предприятиях в целях защиты войск и населения страны от оружия массового поражения.

Уверен, что коллектив Центра и в дальнейшем будет занимать ведущие позиции в деле развития науки и техники, принимать активное участие в отстаивании интересов государства на международном уровне в военно-химической области.

От всей души желаю вашему коллективу крепкого здоровья, творческого долголетия, плодотворного труда на благо нашей Родины – России!

**Начальник войск РХБ защиты ВС РФ
генерал-лейтенант**

A stylized handwritten signature in black ink, consisting of a large loop and a horizontal stroke.

И.А. Кириллов

Дорогие коллеги! Уважаемые ветераны!

От всей души поздравляю командование, ветеранов и весь личный состав 27 НЦ МО РФ с 45-летним юбилеем со дня образования.

Управление начальника войск и весь личный состав выражает вам глубокое уважение и признательность за то, что, находясь на передовых рубежах военной науки, вы с честью и достоинством выполняете свой воинский долг и качественно решаете задачи государственной важности.

Своим добросовестным отношением к выполнению специальных задач по обеспечению надежной защиты российского государства, умением оперативно и правильно действовать в сложной обстановке, личный состав 27 НЦ МО РФ завоевал непререкаемый авторитет в войсках радиационной, химической и биологической защиты.

Высокий патриотизм, самоотдача и целеустремленность офицеров, прапорщиков и гражданских специалистов служат делу повышения боевой готовности войск радиационной, химической и биологической защиты и приумножают славные традиции военно-химической науки.

Выражаю глубокую уверенность в том, что коллектив 27 НЦ МО РФ и впредь будет сохранять и приумножать свой научный потенциал, достойно служить и выполнять поставленные задачи! Сердечно благодарю вас за добросовестный, честный ратный труд, самоотдачу и бескорыстие!

Желаю вам крепкого здоровья, семейного счастья и благополучия, дальнейших успехов в служении на благо нашей любимой Родины – России!

**Заместитель начальника войск РХБ защиты ВС РФ по вооружению и НИР
генерал-майор**

 **С.Кикоть**

Уважаемые коллеги!

От всей души поздравляю вас с 45-й годовщиной создания 27 НЦ МО РФ – одной из ведущих организаций войск радиационной, химической и биологической защиты!

За эти годы Центр прошел трудный и непростой путь своего становления и развития, демонстрируя при этом свои возможности по успешному выполнению многогранных, сложных и ответственных задач по обеспечению надежной защиты войск и населения страны. Сотрудники Центра не только научно-теоретически обосновывали пути решения стоящих и внезапно возникающих проблем в сфере своей деятельности, но и принимали личное участие в их практической реализации, на деле показывая свои высокие работоспособность, профессионализм, компетентность. За образцовое выполнение военно-научных задач многие сотрудники Центра заслуженно награждены государственными и ведомственными наградами.

Вы по праву можете гордиться своим коллективом, вносящим достойный вклад в различные аспекты укрепления обороноспособности нашей страны. Сотрудников Центра отличает не только высокий профессионализм, но и высокое чувство товарищества и готовность оказать помощь в различных вопросах.

Выражаю уверенность в том, что и впредь коллектив Центра будет находиться на передовых рубежах в деле обеспечения военно-химической безопасности страны, укрепления ее обороноспособности, активно отстаивать национальные интересы на международном уровне.

Искренне желаю вам счастья, благополучия и дальнейшего процветания на благо защиты нашего Отечества!

**Заместитель начальника войск РХБ защиты ВС РФ
полковник**

 **А.Марченко**

Уважаемые коллеги и друзья!

Примите самые искренние поздравления с 45-летием со дня образования 27 НЦ МО РФ!

Научный центр прошел тернистый научный путь и сегодня является примером того, как творческий поиск в сочетании с трудом, энергией, профессионализмом, глубокими знаниями, волей и организаторскими способностями всех поколений научной элиты, может привести к высоким результатам.

Большой профессиональный опыт, глубокое понимание проблемных вопросов в области разработки образцов вооружения и военной техники, умение выделить наиболее перспективные направления их развития – вот те качества, которые снискали вашей организации искреннее уважение в научно-исследовательских организациях войск РХБ защиты ВС РФ и предприятиях промышленности.

Высокий патриотизм сотрудников Центра позволил внести достойный вклад в развитие военно-химической науки, в создание надежного щита нашей Родины. Вы достойно продолжаете славные традиции своих предшественников.

Поздравляю командование, военнослужащих, гражданский персонал, ветеранов Центра с юбилеем. Желаю вам благополучия, здоровья, оптимизма, процветания, воплощения творческих замыслов, новых достижений в научной деятельности и новых побед на благо России!

С праздником вас!

Председатель Военно-научного комитета (войск РХБ защиты)
полковник



С.Тырышкин

Дорогие друзья!

Поздравляю коллектив 27 НЦ МО РФ с 45-й годовщиной со дня образования!

Всегда с теплотой и благодарностью вспоминаю время службы в коллективе 27 НЦ МО РФ. Для меня это была школа профессионального роста, расширения кругозора и развития навыков в решении любых сложнейших задач, которые перед нами ставило руководство страны, Вооруженных Сил Российской Федерации, Управления начальника войск радиационной, химической и биологической защиты.

За годы своей деятельности Центр прошел нелегкий, но славный путь, выполняя ответственные задачи в области обеспечения химической и биологической безопасности Вооруженных Сил Российской Федерации и государства.

Сотрудники Научного центра – прежде всего высококвалифицированные специалисты, патриоты России, с честью выполнявшие свой долг в Афганистане, в ходе контртеррористических операций, при ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС.

Научный центр всегда стоял на переднем крае злободневных проблем химической и биологической безопасности, подготовил целую плеяду выдающихся ученых и руководителей, внесших достойный вклад в укрепление обороноспособности государства и развитие отечественной науки.

С развитием прорывных наукоёмких технологий перед Центром стоят новые задачи по внедрению их в перспективные образцы вооружения и военной техники, обеспечивающих достойный вклад в укрепление обороноспособности страны.

Выражаю уверенность в том, что ваш коллектив и в дальнейшем будет находиться на передовых рубежах военно-химической науки.

Желаю руководству 27 НЦ МО РФ, ветеранам, всем сотрудникам благополучия, доброго здоровья, творческих успехов в военной службе и труде, новых научных достижений.

Руководитель Центра аналитических исследований национального органа Российской Федерации по конвенциям о запрещении химического и биологического оружия при Минпромторге России – советник генерального директора



В.Холстов

Уважаемые товарищи!

Примите искренние и сердечные поздравления со знаменательной датой – 45-летием со дня образования 27 НЦ МО РФ!

На протяжении своего существования доблестный труд, неутомимое стремление к развитию и совершенствованию, уникальные научные достижения коллектива Центра обеспечивают решение важнейших государственных задач, направленных на укрепление обороноспособности страны.

Сегодня 27 НЦ МО РФ занимает лидирующее место среди лучших научно-исследовательских организаций Министерства обороны Российской Федерации. Благодаря усилиям специалистов Центра, войска РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации оснащены современными образцами вооружения и военной техники, по своим тактико-техническим характеристикам позволяющими успешно выполнять боевые задачи любой сложности.

27 НЦ МО РФ является признанной кузницей научных кадров, уникальной научной школой специалистов высшей квалификации, востребованных не только Вооруженными Силами, но и промышленностью, здравоохранением, образованием и многими другими отраслями!

Ваш коллектив - это коллектив настоящих патриотов, обладающий могучим научно-техническим потенциалом. Вы честно и преданно служите родной земле, отдавая все силы и знания, энергию и талант своему Отечеству.

Убежден, что профессионализм и ответственность, которые всегда помогают вам в сложной обстановке при выполнении поставленных задач, позволят и в дальнейшем сохранить и приумножить лучшие научные традиции 27 НЦ МО РФ.

С особой теплотой и сердечностью поздравляю ветеранов Центра, всех тех, кто свои глубокие знания и практический опыт вложил в дело развития отечественной науки.

В этот знаменательный день от всей души желаю вам доброго здоровья, счастья, творческого долголетия, новых достижений в науке и в решении важнейшей задачи по укреплению обороноспособности нашей великой России!

Генеральный директор ФГУП «ГосНИИОХТ»

В.Кондратьев

Дорогие товарищи! Уважаемые ветераны!

Коллектив Фонда перспективных исследований сердечно поздравляет руководство, сотрудников и ветеранов 27 НЦ МО РФ с 45-летием со дня образования.

27 НЦ МО РФ является ведущей научной организацией войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, обладающей значительными научным потенциалом и опытом координации деятельности научно-производственных организаций Минобороны России и промышленности при решении сложных задач по обеспечению радиационной, химической и биологической безопасности государства.

Богатейший опыт, знания, широта научных интересов позволяют 27 НЦ МО РФ уверенно идти к намеченным целям.

Желаю всему коллективу здоровья, благополучия, творческих успехов и новых достижений в деле укрепления обороноспособности и безопасности России.

**Заместитель генерального директора – руководитель направления химико-биологических и медицинских исследований Фонда перспективных исследований
генерал-майор запаса
Герой России**

А.Панфилов

Федеральному государственному бюджетному учреждению «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации исполняется 45 лет

Четвертого декабря 2019 г. исполняется 45 лет со дня образования федерального государственного бюджетного учреждения «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ), созданного во исполнение решения Правительства СССР приказом Министра обороны СССР в целях выработки предложений для руководства страны и Министерства обороны по адекватному реагированию на военно-химические угрозы.

Сорокапятилетняя история Центра тесно вплетена в историю и жизнь химических войск, войск радиационной, химической и биологической защиты, Вооруженных Сил и нашего государства, она насыщена яркими и значимыми событиями. Эта история создана людьми, создана офицерами и специалистами, прошедшими через 27 НЦ МО РФ, оставившими частичку себя в его жизни. Знание истории Центра, сохранение и приумножение традиций – дело чести всех наших сотрудников.

Формирование 27 НЦ МО РФ началось с назначением в его состав офицеров и сотрудников Научно-технического комитета Управления начальника Химических войск и Военной академии химической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко, обладавших большим опытом организации и проведения научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ.

Первым начальником Центра был назначен полковник (впоследствии генерал-майор) Вадим Васильевич СМЕРНИЦКИЙ, участник Великой Отечественной войны, лауреат Государственной премии. В.В. СМЕРНИЦКИЙ руководил центром в период с 1974 г. по 1980 г.

Вадим Васильевич обладал большим научно-практическим опытом, внес огромный вклад в становление Центра, под его руководством проходило формирование и развитие научного коллектива, были определены направления деятельности, практическая реализация которых позволила достичь паритета в области обеспечения химической безопасности. Первым заместителем командира 27 НЦ МО РФ был назначен полковник С.С. Шустов, заместителем по научной работе – полковник Н.И. Чугунов.



Полковник Ковтун Виктор Александрович

В дальнейшем Центром руководили видные деятели военно-химической науки – И.Б. ЕВСТАФЬЕВ, В.И. ХОЛСТОВ, Ю.А. КЛИМЕНТЬЕВ, В.В. БУЛАТОВ, В.Б. КОНДРАТЬЕВ, А.А. ЖИРОВ, И.К. КАСАТКИН, К.К. СТЫЖКИН. В настоящее время 27 НЦ МО РФ возглавляет полковник В.А. КОВТУН.

В состав Центра входили шесть отделов и обеспечивающие подразделения. Отделы возглавляли полковник А.И. Трофимов, полковник А.А. Моксяков, полковник В.Н. Топников, полковник Я.Е. Белозеров, полковник А.Ф. Шкитко, полковник А.В. Евстратов.

В 27 НЦ МО РФ был развернут комплекс НИОКР по оценке потенциальной опасности, возможных масштабов и последствий применения химического оружия против СССР, по разработке исходных данных для создания новых образцов индикации, технических и медицинских средств защиты.

К концу 1970-х гг. 27 НЦ МО РФ сформировался и как научная, и как организационная структура, профессиональный авторитет которой ни у кого не вызывал сомнений и без которой не решался ни один вопрос в области военно-химической безопасности.



*Определение уровня диоксида серы
в воздухе на вершине кратера
вулкана Сарычева*



*Специалисты войск РХБ защиты отбирают
пробу в месте предполагаемого применения
химического оружия террористами*

На базе 27 НЦ МО РФ был сформирован координационный научно-технический совет, два специальных докторских диссертационных совета и экспертный совет ВАК, которые способствовали формированию плеяды докторов и кандидатов наук среди сотрудников 27 НЦ МО РФ, 33 ЦНИИ МО РФ, других научно-исследовательских организаций Министерства обороны и промышленности, органов военного управления.

В это же время начинается совершенствование лабораторной и полевой базы научно-исследовательских организаций Химических войск, которые позволяли бы определять тактико-технические характеристики разрабатываемых образцов вооружения и средств Химических войск в различных климатических условиях. Кроме того, требовалось дальнейшее развитие теоретических методов оценки боевых характеристик образцов вооружения и военной техники и боевой эффективности их применения.

27 НЦ МО РФ организовывал, координировал и осуществлял комплекс НИОКР научно-исследовательских организаций Министерства обороны и промышленности по обеспечению защиты национальных интересов, поддержанию паритета и безопасности государства в военно-химической области.

Под непосредственным руководством специалистов 27 НЦ МО РФ проводились на полигонах в различных регионах СССР государственные испытания образцов вооружения, военной и специальной техники, не имеющих аналогов в мире.

Учеными Центра была проведена большая научно-практическая работа по подготовке текста Конвенции о запрещении химического оружия, по разработке государственной программы уничтожения химического оружия в СССР и Российской Федерации. Были разработаны научно-технические, медицинские и экологические основы безопасного выполнения указанной программы, активно решались во-

просы по подготовке и обоснованию позиции Российской Федерации в Организации по запрещению химического оружия.

В 1987–1989 гг. при непосредственном участии сотрудников Центра впервые были организованы показы химического оружия СССР и технологий его уничтожения на военном объекте Шиханы иностранным специалистам. Показы явили собой демонстрацию доброй воли СССР в вопросах химического разоружения.

Сотрудники 27 НЦ МО РФ мужественно выполняли свой воинский долг при ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС, принимали участие в боевых действиях на территории Афганистана, защищали конституционные интересы государства в Северо-Кавказском регионе Российской Федерации, участвовали в операции Вооруженных Сил Российской Федерации на территории Сирийской Арабской Республики, а также в выполнении других специальных задач как на территории Российской Федерации, так и за ее пределами.

За прошедшие 45 лет в 27 НЦ МО РФ был проведен ряд организационных мероприятий, в результате которых был осуществлен переход на структуру научных управлений; в соответствии с расширением решаемых задач в структуру Центра вводились новые управления; в условиях оптимизации Вооруженных Сил в его состав были включены научно-исследовательские подразделения Военной академии радиационной, химической и биологической защиты, 674 Научного центра МО РФ, 33 ЦНИИ МО РФ.

Создаваемый для поддержки выработки адекватных решений в военно-химической области Центр развился в одну из ведущих научных организаций по обеспечению радиационной, химической и биологической безопасности нашего государства.

В настоящее время в 27 НЦ МО РФ выполняются работы по: проведению исследований в области обеспечения РХБ безопасности го-



**Лаборатория
химико-аналитического контроля 27 НЦ МО РФ**

сударства; реализации требований конвенциональных обязательств Российской Федерации по химическому и биологическому оружию, в том числе по международному экспертному химическому и биохимическому анализу; научному и практическому обеспечению РХБ безопасности важных государственных и военных объектов; организации и контролю РХБ безопасности проведения международных и национальных политических, экономических и спортивных мероприятий.

В соответствии с перечнем поручений Президента Российской Федерации при непосредственном участии специалистов 27 НЦ МО РФ разработана и утверждена Указом Президента Российской Федерации от 5 декабря 2016 г. № 645 «Стратегия развития системы РХБ защиты войск и населения Российской Федерации в мирное и военное время на период до 2025 г. и дальнейшую перспективу».

В 27 НЦ МО РФ успешно функционирует лаборатория химико-аналитического контроля, предназначенная для тонкого химического анализа экологических и биомедицинских проб на содержание в них следовых количеств токсичных химикатов и продуктов их деструкции. Лаборатория аккредитована в системе Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии на техническую компетентность по проведению аналитического контроля при осуществлении деятельности в области обороны и безопасности государства. В настоящее время область национальной аккредитации лаборатории предусматривает определение содержания широкого круга токсичных веществ в различных средах (более 1200 методик).

Лаборатория химико-аналитического контроля 27 НЦ МО РФ является единственной в Российской Федерации лабораторией, имеющей международные аккредитации по анализу экологических и биомедицинских проб, и наряду с 13 зарубежными лабораториями – Техническое



Президент Российской Федерации и верховный главнокомандующий Вооруженными Силами Российской Федерации В.В. Путин рассматривает экспозицию, подготовленную 27 НЦ МО РФ

соглашение с Организацией по запрещению химического оружия на право участия в международных расследованиях фактов применения химического оружия и других токсичных химикатов, проводимых под эгидой Организации по запрещению химического оружия (ОЗХО) и Организации Объединенных Наций.

Лаборатория химико-аналитического контроля 27 НЦ МО РФ ежегодно (в процессе подтверждения своей международной аккредитации) успешно выполняет контрольные эксперименты в рамках профессиональных тестов ОЗХО, доказывая высокую квалификацию в проведении анализов биомедицинских проб и проб неизвестного состава на наличие токсичных химикатов и их метаболитов.

В рамках выполнения возложенных на 27 НЦ МО РФ государственных задач мобильная диагностическая группа центра обеспечивала РХБ контроль на Кубке Конфедераций FIFA 2017, Чемпионате Мира по футболу 2018, ежегодном международном военно-техническом форуме «АРМИЯ», Восточном экономическом форуме, Всемирном фестивале молодежи и студентов, Российском инвестиционном форуме и других мероприятиях.

В 27 НЦ МО РФ осуществляется редакционно-издательская деятельность. С целью информирования и учета данных о состоянии РХБ защиты в мире организована подготовка еженедельных информационных сводок по материалам открытых источников о фактах, происшествиях, технологиях, политических решениях, угрозах и вызовах в области РХБ безопасности. На основе информационных сводок в 27 НЦ МО РФ ежемесячно выпускается информационный «Дайджест», который представляется руководству войск РХБ защиты и Министерства обороны.

27 НЦ МО РФ является учредителем и издателем рецензируемого научно-практического журнала «Вестник войск РХБ защиты». Журнал

издается с 2017 г. в полноцветном варианте и имеет свой сайт. Это первый открытый научно-практический журнал войск РХБ защиты за более чем 100 лет их существования. Журнал специализируется на освещении химических и биологических угроз Российской Федерации, научных достижений по основным направлениям деятельности войск РХБ защиты, повышении профессионального уровня специалистов войск РХБ защиты, возрождении интереса к их истории и привлечении молодых ученых к работе в НИО войск РХБ защиты. Журнал зарегистрирован Роскомнадзором и имеет регистрацию в Национальном центре ISSN с присвоением международного стандартного номера серийного издания. Журнал включен научную электронную библиотеку eLIBRARY.RU, в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ) и объявлен в подписку на 2020 г. через агентство «Пресса России».

В настоящее время проводится работа, направленная на включение журнала в международные базы цитирования и в «Перечень журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации. Главный редактор журнала – д-р техн. наук, лауреат Ленинской премии 1991 г., генерал-полковник в отставке, в 1989–1991 гг. – начальник Химических войск Министерства обороны СССР, в 1992–2001 гг. – начальник войск РХБ защиты Министерства обороны Российской Федерации С.В. ПЕТРОВ.

Проводится активная работа диссертационного совета по подготовке высококвалифицированных кадров – докторов и кандидатов наук среди сотрудников НИО МО РФ и промышленности.

Основу Центра составляют высококвалифицированные специалисты, имеющие профессиональную подготовку в вопросах общей и военной химии, биологии, медицины, вооружения и тактики войск РХБ защиты ВС РФ. Созданы научные школы в области системы специальных вооружений, методологии оценки их боевого качества и эффективности применения, физико-химических методов обнаружения и идентификации токсичных химикатов.

За особые научные заслуги сотрудники центра неоднократно удостоивались высоких правительственных наград и званий. Звания «Лауреат государственной премии» были удостоены: генерал-лейтенант И.Б. ЕВСТАФЬЕВ (дважды), генерал-полковник В.И. ХОЛСТОВ, полковник А.С. ГУСАКОВ, А.Р. ЯНУШЕВСКИЙ. Звания «Герой Российской Федерации» – генерал-майор А.В. ПАНФИЛОВ.

Сорокапятилетняя история 27 НЦ МО РФ позволяет говорить о многих традициях, которые сложились в коллективе и о результатах, достигнутых при выполнении сложных и ответственных задач по укреплению обороноспособности нашего государства в области военно-химических проблем. Сотрудников центра отличает не только высокий профессионализм, но и чувство товарищества и взаимовыручки, готовность всегда прийти на помощь в различных ситуациях.

Из стен 27 НЦ МО РФ вышла плеяда замечательных специалистов и руководителей, которые в настоящее время служат и работают в федеральных органах исполнительной власти, Генеральном штабе Вооруженных Сил Российской Федерации, управлении Начальника войск РХБ защиты, в научных организациях промышленности. Мы по праву гордимся своими специалистами, вносящими достойный вклад в укрепление обороноспособности страны.

Дорогие коллеги, за эти годы наш Центр прошел трудный, но славный и достойный исторический путь. На этом пути были и периоды стабильной плодотворной успешной работы, и периоды испытаний на прочность реформами и сокращениями. Но на всех этапах коллектив Центра проявлял невероятный патриотизм, трудолюбие, ответственность, высочайший профессионализм и любовь к своему делу. Нынешнее поколение сотрудников помнит и ценит огромный вклад ветеранов в становление и развитие Центра, в создание научных школ, в сплочение и воспитание молодежи. Успехи коллектива Центра – результат многолетнего труда нескольких поколений ученых и научных работников. Мы очень дорожим нашими достижениями, чтим, уважаем и продолжаем традиции наших учителей – ветеранов. Нам очень дороги и важны научные связи с многими НИО Министерства обороны и промышленности.

Все, что сделано нашим коллективом за 45-летний период своей деятельности, вызывает гордость, восхищение и глубочайшее уважение! Все мы гордимся и очень дорожим службой и работой в нашем родном Центре. Наш Центр – это героическое прошлое, достойное настоящее и, уверен, прекрасное будущее!

Поздравляю вас с праздником – днем создания федерального государственного бюджетного учреждения «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации!

От всей души желаю вам, вашим родным и близким, крепкого здоровья, счастья, благополучия в семьях, оптимизма, новых достижений и дальнейших успехов в служении родному Отечеству!

С уважением,



Начальник 27 НЦ МО РФ
кандидат химических наук, доцент
полковник В.А. Ковтун

Возможности сохранения работоспособности при отравлениях фосфорорганическими соединениями

А.Ю. Микшта, Л.П. Эрдниев, А.А. Власов, И.В. Леготин,
И.А. Ермолаева, С.А. Комиссаренко, И.А. Нельга

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт»
Министерства обороны Российской Федерации, 412918, Российская Федерация,
Саратовская обл., г. Вольск-18, ул. Краснознаменная, д. 1

Поступила 22.07.2019 г. Принята к публикации 17.08.2019 г.

Опыт современных локальных вооруженных конфликтов и мониторинг террористической активности в мире свидетельствуют о сохраняющейся угрозе поражений фосфорорганическими соединениями (ФОС) в боевой обстановке, а также в результате производственных аварий и террористических актов. При своевременном применении личным составом средств защиты можно прогнозировать, что, помимо летальных и тяжелых поражений, до 30 ± 5 % составят легкие и стертые формы интоксикации. Показано, что актопротекторы с различным механизмом действия (гипоксен, октодрин и мельдоний) при однократном пероральном применении повышают выносливость экспериментальных животных при легком отравлении ФОС. При этом степень угнетения ацетилхолинэстеразы периферической крови всех животных, получавших модельное ФОС, не различалась между группами и колебалась в пределах от 8 до 24 %. По степени увеличения времени удержания экспериментальных животных на поверхности воды препараты распределились в ряду: мельдоний < октодрин < гипоксен. Совместное пероральное применение исследуемых веществ не сопровождалось потенцированием актопротекторного эффекта. Комбинированное применение исследованных актопротекторов в отношении увеличения работоспособности и выносливости экспериментальных животных по данным пробы с принудительным плаванием сравнимо с изолированным введением мельдония, не имеет преимуществ перед использованием октодрина, превосходит гипоксен по скорости наступления эффекта, но уступает ему по выраженности и длительности. Полученные факты свидетельствуют о целесообразности применения изучаемых актопротекторов для профилактики снижения боеспособности при угрозе применения ФОС (гипоксен), для ее неотложного повышения у легкопораженных ФОС (октодрин), а также в комплексном лечении отравлений ФОС (мельдоний, гипоксен).

Ключевые слова: актопротектор; гипоксен; мельдоний; октодрин; работоспособность; фосфорорганическое соединение.

Библиографическое описание: Микшта А.Ю., Эрдниев Л.П., Власов А.А., Леготин И.В., Ермолаева И.А., Комиссаренко С.А., Нельга И.А. Возможности сохранения работоспособности при отравлениях фосфорорганическими соединениями // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 4. С. 311–318. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-311-318>

Опыт современных локальных вооруженных конфликтов и мониторинг террористической активности в мире свидетельствуют о сохраняющейся угрозе поражений фосфорорганическими соединениями (ФОС) в боевой обстановке [1], а также в результате производственных аварий и террористических актов [2]. Токсиче-

ское действие ФОС на центральную нервную систему человека дозозависимо и может проявляться широким спектром расстройств – от снижения боеспособности и выносливости, и до психических нарушений, состояния «оглушенности» и комы [3–10]. При своевременном применении личным составом средств защиты можно

прогнозировать, что, кроме летальных и тяжелых поражений, до 30±5 % составят легкие и стертые формы интоксикации [2]. Существующие подходы к решению проблемы поддержания высокого уровня боеспособности легко пораженных ФОС сконцентрированы, главным образом, на специфических составляющих патогенеза токсических поражений, а именно – на воздействии на холинорецепторы и ацетилхолинэстеразу. Однако в последние годы все большее развитие получает в Российской Федерации адаптация фармакопейных лекарственных средств для использования в качестве специальных средств медицинской противохимической и противорадиационной защиты [11, 12].

Цель работы – изучение возможности использования актопротекторов для сохранения работоспособности при отравлениях фосфорорганическими соединениями легкой степени тяжести.

Материалы и методы

Исследование проводили с соблюдением Правил лабораторной практики в Российской Федерации с использованием белых нелинейных половозрелых крыс-самцов, массой 200±20 г.

За 8 ч до опытов кормление животных прекращали. Для оценки выносливости и работоспособности использовали плавательную пробу с отягощением (тест Порсолта, «принудительное плавание»), оценивая предельную продолжительность плавания (ППП) [15]. Методика позволяет определить физическую выносливость белых крыс в условиях стресса и запредельных нагрузок. Плавание проводили в прозрачном цилиндре диаметром 20 см, высота воды – от 0,8 до 0,9 м, температура 25 °С. При вынужденном плавании использовали груз 5 % от массы тела, который фиксировали у основания хвоста. При проведении пробы оценивали время плавания. Окончание фиксировали при отказе животного от плавания, то есть при полном погружении под «водное зеркало» на 5 с.

28 животных были рандомизированы на 7 равных групп. Все вещества вводили однократно, внутривенно, с помощью металлического зонда и шприца 2,0 мл в удельном объеме 5,0 мл/кг. Особям первой группы (контрольной) – дистиллированную воду, второй – комплекс актопротекторов (полидигидроксибензилтиосульфат натрия («Гипоксен», ООО «Олифен», Россия) 30 мг/кг + 2-(2-карбоксилатэтил)-1,1,1-триметилгидразиний (мельдоний) («Кардионат», ОАО «Нижфарм», Россия) 60 мг/кг + 1,5-диметилгексилламин (октодрин) («DMHA HCl», ООО «НордФит», Россия) 15 мг/кг), животные остальных опытных групп получали модельное ФОС типа VX в дозе 0,003 мг/кг, изолированно (3 группа), либо с последующим введением указанного выше комплекса актопротекторов (4

группа); гипоксена – в дозе 30 мг/кг (пятая группа); мельдония – в дозе 60 мг/кг (шестая группа); октодрин – в дозе 15 мг/кг (седьмая группа). Затем пробу с «принудительным плаванием» повторяли через 1, 4, 21 и 26 ч после введения препаратов. Оценку активности ацетилхолинэстеразы проводили по методу Хестрина через 26 ч после введения ФОС [16].

Данные представляли в виде медианы (Me) и 25 и 75 перцентилей (Q25; Q75), их статистическую обработку проводили с помощью программы STATISTICA for Windows 6.0. Значимость различий между несколькими независимыми группами определяли при помощи критерия Краскелла-Уоллиса для множественных сравнений с последующим расчетом значения p по методу Манна-Уитни с применением поправки Бонферрони, различия показателей между зависимыми группами определяли с применением теста Фридмана и критерия Тьюки для зависимых групп. Разницу частоты изменения показателя в зависимости от действия фактора определяли при помощи точного двухстороннего критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [17].

Результаты. PPP у всех животных контрольной группы в точках 4, 21 и 26 ч значимо превышала исходные значения ($p < 0,05$), наиболее высокий показатель наблюдался на 21 ч (рисунок 1).

Динамика PPP у интактных животных, по-видимому, обусловлена адаптацией к предъявляемой нагрузке на фоне достаточных для отдыха временных интервалов. Применение комплекса актопротекторов приводило к увеличению PPP у всех животных данной группы в сравнении с исходными значениями и уже к первому часу она практически удваивалась, достигая максимального прироста также на 21 ч эксперимента ($p < 0,05$), а на 26 ч PPP статистически значимо снижалась в сравнении с 4 и 21 ч, превышая при этом исходную.

Динамика изменения PPP в группе отравления ФОС без коррекции свидетельствовала об умеренном снижении этого показателя во всех контрольных точках, начиная с первых часов после введения, наименьшее время удержания на воде регистрировалось через 21 ч (на 28 (20;31) % ниже исходных значений).

Применение комплекса актопротекторов на фоне отравления ФОС позволило не только сохранить, но и повысить исходный уровень выносливости всех крыс группы на протяжении всего эксперимента ($p < 0,05$), о чем свидетельствовал значительный прирост PPP (в 2,4 раза) уже на 1 ч с последующим плавным снижением до значений, все же превышающих исходные.

К наиболее существенному и стойкому увеличению работоспособности приводило перо-

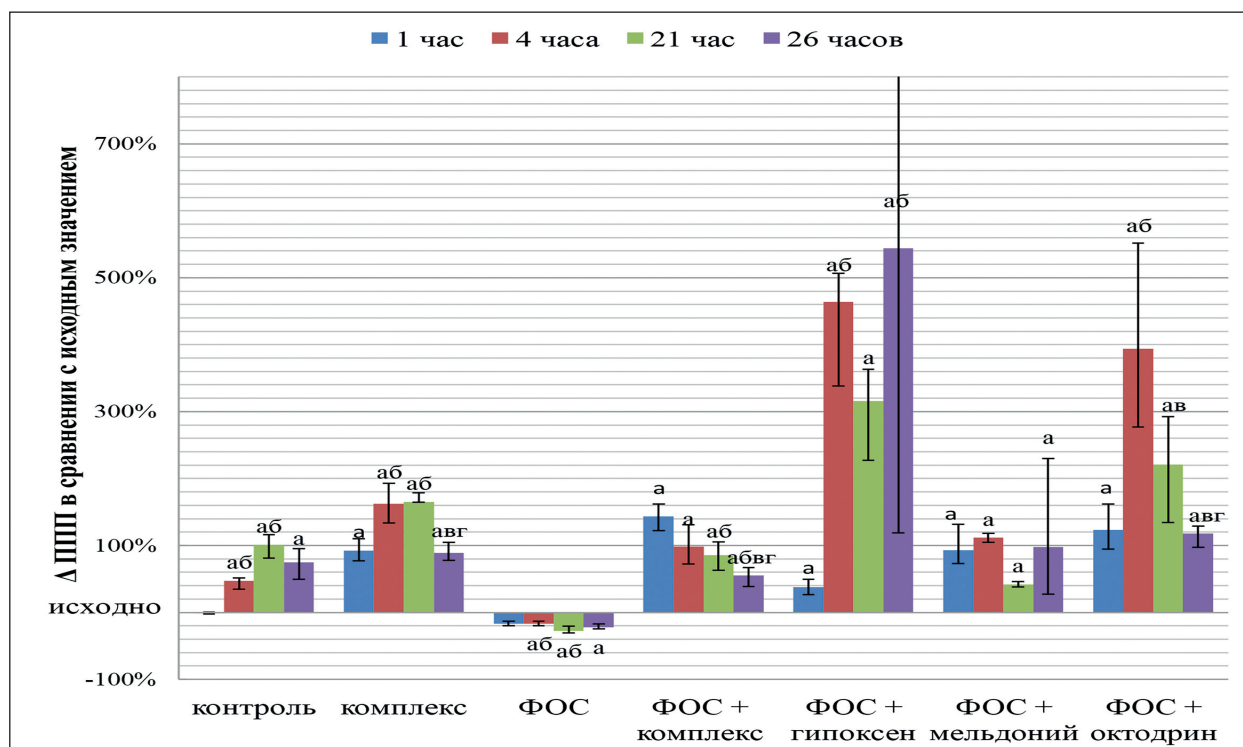


Рисунок 1 – Динамика предельной продолжительности плавания

(в % к исходному показателю), по группам ((а – различия статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении ППП в данной точке с исходными значениями внутри группы; б – различия статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении ППП в данной точке с значениями «1 час» внутри группы; в – различия статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении ППП в данной точке с значениями «4 часа» внутри группы; г – различия статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении ППП в данной точке с значениями «21 час» внутри группы)

ральное изолированное применение гипоксена на фоне отравления ФОС, при умеренном эффекте на 1 ч, в точке 4 происходил прирост ППП в 5,5 раза, в дальнейшем эффект сохранялся до 26 ч у всех животных.

Применение мельдония характеризовалось существенным, плавным и стойким увеличением ППП, максимальные значения которого наблюдались на 4 ч.

Закономерное, значительное и воспроизводимое у всех животных группы повышение работоспособности к 4 ч наблюдалось при применении октодрина с последующим плавным снижением, при этом и к 26 ч эффект сохранялся. Исходные показатели ППП между группами не имели статистически значимых различий (таблица 1).

Межгрупповой анализ ППП свидетельствует о ее снижении в сравнении с контрольной группой у отравленных ФОС крыс во всех точках, при этом через 4 и 26 часов различия статистически значимы ($p = 0,03$). Применение комплекса актопротекторов приводило к значительному повышению ППП в сравнении с контрольной группой лишь в точке 1 ч, в остальных точках оно сохранялось на уровне тенденции ($p < 0,1$). При применении комплекса на фоне отравления ФОС отмечено протективное действие. Так, уже на 1 ч

комбинированное применение актопротекторов приводило к увеличению ППП не только в сравнении с группой ФОС без коррекции, но также с группой контроля и гипоксена ($p = 0,03$); статистически значимый терапевтический эффект в отношении ФОС по показателю ППП сохранялся к 4 ч ($p = 0,03$) и на уровне тенденции – к 21 и 26 ч ($p = 0,061$).

Наиболее выраженный протективный эффект гипоксена в сравнении с группой ФОС без лечения наблюдался на 4-м, 21-м и 26-м ч эксперимента ($p = 0,03$), при этом ППП превышала таковую в контрольной группе, хотя статистической значимости эти различия достигли лишь в точке 4 ч. В сравнении с мельдонием, гипоксен был более активен на 21 ч ($p = 0,03$).

Максимальный протективный эффект мельдония в сравнении с ФОС также регистрировался на 4 ч эксперимента ($p = 0,03$), хотя на уровне тенденции имел место и в других точках. Необходимо отметить, что ППП в данной группе превышала значения контрольной через час (0,03), на уровне тенденции – через 4 ч (0,061), а на 21 ч уступало контрольной группе ($p = 0,029$).

Эффективность октодрина в отношении ФОС превышала таковую гипоксена и комплексного применения актопротекторов на 1 ч ($p = 0,03$),

Таблица 1 – Предельная продолжительность плавания крыс, по группам (абсолютные значения)

Группа	Препарат	ППП, с (Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅))				
		Накануне	Через 1 ч	Через 4 ч	Через 21 ч	Через 26 ч
1	Контроль	130 (108;150)	127 (106;149)	161 (157;178)	231,5 (230;246)	208 (201;217)
2	Комплекс актопротекторов	112,5 (108;120)	226 (182,5;268) ^{1,3}	305,5 (260;347) ³	326,5 (294;352) ^{3,6}	221,5 (204;239) ³
3	ФОС	123 (111;135)	106 (85;119)	103 (83;123) ¹	85 (78;102)	91,5 (81;111) ¹
4	ФОС + комплекс актопротекторов	104,5 (103;119)	279,5 (259;298) ^{1,3,5}	251,5 (215;273) ³	222 (190;246)	175,5 (161;191)
5	ФОС + гипоксен	137,5 (118;146)	171 (161;181) ⁷	636,5 (441;769) ^{1,3}	466,5 (370;542) ^{3,6}	782,5 (292;1300) ³
6	ФОС + мельдоний	120,5 (105;132)	230,5 (216;252) ^{1,3}	251 (214;282) ^{3,7}	174 (157;182) ^{1,7}	214 (128;413)
7	ФОС + октодрин	123 (101;151)	292,5 (281;298) ^{1,3,4}	496 (411;806) ^{1,2,3}	332 (267;462) ³	236,5 (229;272) ³

^{1,2,3,4,5,6,7} Различия статистически значимы при $p < 0,05$ в сравнении с показателем в данной точке группы, соответствующей цифре в сноске.

в дальнейшем была сравнима с гипоксеном (таблица 1).

Степень угнетения ацетилхолинэстеразы периферической крови всех животных, получавших модельное ФОС, не различалась между группами и колебалась в пределах от 8 до 24 %.

Обсуждение

Полученные данные о снижении работоспособности и выносливости животных при отравлении ФОС легкой степени тяжести согласуются с литературными [4-10] и подтверждают гипотезу о необходимости исследования актопротекторных свойств известных препаратов с целью сохранения в строю легко пораженных. Влияние всех изученных препаратов как в монотерапии, так и при совместном комбинированном пероральном применении одновременно с ФОС, заключалось в сохранении и повышении работоспособности и выносливости на фоне отравления. По степени увеличения предельного времени плавания с грузом препараты распределились в ряду мельдоний < октодрин < гипоксен.

Результаты исследования подтверждают универсальность гипоксена в качестве средства поддержания работоспособности и выносливости, однако скорость развития его эффекта не так велика, как у октодрина. В основе быстрого увеличения работоспособности под действием стимуляторов моноаминоэргических структур, подобных октодрину, лежит стрессорная активация симпатического отдела вегетативной нервной системы, что особенно важно в условиях накопления ацетилхолина и противоположных эффектов холинэргической стимуляции [14]. Од-

нако, как уже было отмечено, после выраженного стимулирующего эффекта наблюдается довольно резкий спад исследуемого показателя, в отличие от стойких эффектов препаратов с неистощающим типом действия.

Одним из патофизиологических обоснований применения неспецифических средств с антиоксидантными свойствами является сопряженность отравления ФОС с активацией каскадных реакций свободнорадикального окисления биосубстратов, в частности, с перекисным окислением липидов (ПОЛ), формированием свободнорадикального повреждения тканевых структур и с истощением системы антиоксидантной защиты (АОЗ) [11, 18].

Серосодержащему олигохинону – гипоксену присущи свойства антиоксиданта и антигипоксанта. По данным разных авторов, его механизм действия связан со стимуляцией клеточного дыхания, увеличением сопряжения в дыхательной цепи и ускорением окислительного фосфорилирования, а также со способностью нейтрализовать кислородные свободные радикалы, активировать аденозинтрифосфат-чувствительный калиевый канал [19], тормозить выход кальция из митохондрий [20] и ингибировать митохондриальные дегидрогеназы [21]. Множество точек приложения гипоксена на субклеточном уровне обуславливают выраженность и длительность его эффекта, для полной реализации которого в нашем исследовании потребовалось больше часа. Важно отметить, что эффективность гипоксена подтверждалась на фоне влияния различных военно-профессиональных факторов: гипоксии, вы-

сокогорья, температурных воздействий [22]. У лиц, занятых на работах по уничтожению фосфорорганических отравляющих веществ, гипоксен (полидигидроксифенилентисульфат натрия) оказывал положительное влияние на вазомоторную функцию эндотелиоцитов, патофизиологической основой которой является увеличение биологической активности оксида азота на фоне коррекции процессов свободно-радикального окисления. Антиоксидантный эффект гипоксена проявлялся снижением уровня прооксидантной активности и увеличением емкости эндогенной системы АОЗ [23]. С.И. Баулиным с соавт. (2013) [24] установлено снижение ППП в сравнении с исходными показателями при плавании через 40 мин после двух истощающих заплывов с интервалом в 5 мин и перорального введения мельдония (на 37 %) или гипоксена (на 24 %). Прирост ППП у животных опытной группы, несмотря на одновременное введение ФОС, в нашем исследовании объясняется использованием значительно больших доз мельдония (60 против 7, 14 мг/кг) и гипоксена (30 против 7,14 мг/кг), более длительной экспозицией и временными интервалами между заплывами. Данные цитируемой работы [24] свидетельствуют о более выраженной актопротекторной активности мельдония в сравнении с гипоксеном, что, по нашему мнению, связано с недостаточной дозой (7,14 мг/кг) и экспозицией (40 мин от приема до контрольного плавания) последнего.

Мельдоний позволяет увеличить образование энергии в условиях ишемии, способствуя смещению энергетического обмена в сторону окисления глюкозы и, являясь структурным аналогом гамма-бутиробетаина, синтезирующегося в ответ на дефицит карнитина при физической нагрузке, вызывает вазодилатацию и увеличение доставки кислорода к тканям [25]. За счет особенностей механизма действия препарат позиционируется как средство, способствующее быстрому восстановлению энергетических резервов и рекомендуется для курсового приема. Дизайн нашего исследования, по-видимому, не позволил полностью реализовать актопротекторный потенциал препарата, хотя он продемонстрировал достаточно заметный эффект и может использоваться при легких интоксикациях ФОС.

Обсуждая эффекты препаратов, повышающих работоспособность, нельзя не упомянуть

об еще одном из самых ярких представителей группы – биметиле (метапроте), добавление которого в схему лечения отравления карбофосом также предупреждало развитие основных токсических эффектов: активации ПОЛ, изменение активности ферментов АОЗ организма и, соответственно, модификацию важнейших физико-химических свойств мембран – проницаемости, вязкости, фазового состояния. У крыс, леченных метапротом, отмечали восстановление физической работоспособности, переносимости физической нагрузки, замедление процессов ПОЛ [10]. К сожалению, в настоящее время препарат отсутствует на российском рынке.

Совместное пероральное применение исследуемых веществ не сопровождалось потенцированием актопротекторного эффекта, что может быть связано с возможностью вступления их в химические реакции друг с другом в желудке животных при одновременном введении [25]. Фармакологические взаимодействия изучаемых веществ требуют дополнительных исследований, однако рутинное их комбинирование, по нашим данным, не может быть рекомендовано.

Выводы

1. Введение ФОС в субтоксической дозе умеренно (на 28 (20;31) %) снижало работоспособность белых крыс-самцов в пробе принудительного плавания с отягощением.

2. По степени увеличения предельного времени плавания с грузом препараты распределились в ряду мельдоний < октодрин < гипоксен.

3. Комбинированное применение исследованных актопротекторов в отношении увеличения работоспособности и выносливости, по данным пробы с принудительным плаванием, сравнимо с изолированным введением мельдония, не имеет преимуществ перед использованием октодрина, превосходит гипоксен по скорости наступления эффекта, но уступает ему по выраженности и длительности.

4. Полученные факты свидетельствуют о целесообразности применения изучаемых актопротекторов для профилактики снижения боеспособности при угрозе применения ФОС (гипоксен), для ее неотложного повышения у легко пораженных ФОС (октодрин), а также в комплексном лечении отравлений ФОС (мельдоний, гипоксен).

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла двойное рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Ковтун В.А., Колесников Д.П., Супотницкий М.В., Шило Н.И. Сирийская «химическая война» // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 3. С. 7–39.
2. Экстремальная токсикология: руководство для врачей / Под ред. Лужникова Е.А. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2006.
3. Микшта А.Ю., Павлов А.Ю., Макшаков С.В. Последствия воздействия антихолинэстеразных веществ на центральную нервную систему // Современная медицина. Теория и практика. 2003. № 3. С. 21–25.
4. Смирнов В.К., Рустинович А.В., Позамантир К.А. Психические нарушения в остром периоде бытовых отравлений фосфорорганическими соединениями // Воен.-мед. журн. 1988. № 8. С. 38–39.
5. Nieminen S.A., Lecklin A., Heikkinen O., Ylitalo P. Acute behavioral effects of the organophosphates sarin and soman in rats // Pharmacol. Toxicol. 1990. V. 67. № 1. P. 36–40.
6. Sirkka U., Nieminen S.A., Ylitalo P. Neurobehavioral toxicity with low doses of sarin and soman // Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1990. V. 12. № 4. P. 245–250.
7. Микшта А.Ю., Павлов А.Ю., Макшаков С.В. и др. Начальные патофизиологические и биохимические изменения у млекопитающих при воздействии антихолинэстеразных веществ в пороговых дозах // Современная медицина. Теория и практика. 2003. № 3. С. 26–31.
8. Wolthuis O.L., Vanwersch R.A. Behavioral changes in the rat after low doses of cholinesterase inhibitors // Fundam. Appl. Toxicol. 1984. V. 4. P. 195–208.
9. Hata K., Miura Y., Asukai N., Hamabe Y. Amnesia from sarin poisoning // Lancet. 1996. № 9011. P. 1343.
10. Воробьева В.В., Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Защитные эффекты метапрота и этомерзола при отравлении карбофосом // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. Т. 75. № 8. С. 25–30.
11. Гуляева И.Л. Новые подходы к фармакокоррекции неспецифических составляющих патогенеза токсических поражений: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 2009.
12. Гладких В.Д., Белых В.Г., Тимошевский А.А., Чиж И.М. Специальные средства медицинской противохимической и противорадиационной защиты: современное состояние и перспективы развития // Воен.-мед. журн. 2018. Т. 339. № 1. С. 29–36.
13. Методы исследований и фармакологической коррекции физической работоспособности человека / Под ред. Ушакова И.Б. М.: Медицина, 2008.
14. Catalani V., Prilutskaya M., Al-Imam A. et al. Octodrine: New questions and challenges in sport supplements // Brain Sci. 2018. V. 8. № 2. P. E34.
15. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников И.И. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск, 2000.
16. Hestrin S. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine, and its analytical application // J. Biol. Chem. 1949. V. 180. № 1. P. 249–261.
17. Zubov N.N., Kuvaikin V.I. Методы статистического анализа данных в медицине и фармации / Под ред. Зубова Н.Н. СПб., 2017.
18. Мышкин В.А., Савлуков А.И., Гуляева И.Л. Коррекция нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия после тяжелых острых отравлений (экспериментальное исследование) // Общая реаниматология. 2007. Т. 3. № 5–6. С. 69–74.
19. Мурзаева С.В., Абрамова М.Б., Попова И.И. и др. Влияние гипоксена на биоэнергетические процессы в митохондриях и активность АТФ-чувствительного калиевого канала // Биофизика. 2010. Т. 55. № 5. С. 814–821.
20. Гришина Е.В., Хаустова Я.В., Маевский Е.И. Торможение Са-индуцируемого выхода кальция из митохондрий антиоксидантами фенольного ряда, обладающими противоишемическим действием // Биологические мембраны. 2009. Т. 26. № 6. С. 505–513.
21. Косенко Е.А., Абрамова М.Б., Венедиктова Н.И. и др. Медикамент гипоксен – новый ингибитор митохондриального дыхания и митохондриальных дегидрогеназ // Известия РАН. Серия биологическая. 2010. № 4. С. 411–416.
22. Ганопольский В.П., Власов А.А. Применение гипоксена в качестве метеoadаптогена у здоровых добровольцев при восхождении на Эльбрус // Психофармакология и биологическая наркология. 2008. Т. 8. № 3–4. С. 2463–2468.
23. Фомичев А.В., Васильев В.Б., Сосюкин А.Е. Опыт применения препарата «гипоксен» для коррекции функционального состояния эндотелиальных клеток у лиц, занятых на работах с фосфорорганическими соединениями // Medline.ru. 2015. Т. 15. С. 577–586.
24. Баулин С.И., Рогачева С.М., Афанасьева С.В. Изучение влияния фармацевтических препаратов на физическую работоспособность // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т. 155. № 5. С. 586–589.
25. Горбунова А.А., Киреев С.Ю., Рашевская И.В. Мельдоний: связь строения, структуры и свойств // Вестник Пензенского государственного университета. 2017. № 2 (17). С. 92–99.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, 412918, Российская Федерация, Саратовская обл., г. Вольск-18, ул. Краснознаменная, д. 1.

Микишта Александр Юльевич. Ведущий научный сотрудник, д-р мед. наук, старший научный сотрудник.
 Эрдниева Леонид Петрович. Начальник отдела, канд. мед. наук.
 Власов Андрей Александрович. Старший научный сотрудник, канд. мед. наук.
 Леготин Игорь Валентинович. Заместитель начальника отдела, канд. мед. наук.
 Ермолаева Ирина Александровна. Младший научный сотрудник.
 Комиссаренко Сергей Анатольевич. Ведущий научный сотрудник, канд. хим. наук.
 Нельга Игорь Аликович. Начальник управления, канд. хим. наук.

Контактная информация для всех авторов: 33cnii-ito@mil.ru
Контактное лицо: Власов Андрей Александрович; 33cnii-ito@mil.ru

The Possibilities of Working Capacity Maintenance at Organophosphorous Compounds Intoxication

A.Yu. Mikshta, L.P. Erdniev, A.A. Vlasov, I.V. Legotin,
 I.A. Ermolaeva, S.A. Komissarenko, I.A. Nelga

*Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute»
 of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Krasnoznamennaya Street 1, Volsk-18,
 Saratov Region 412918, Russian Federation*

The experience of modern local armed conflicts and the monitoring of terrorist activity in the world indicate the possibility of the affection of people by organophosphorus compounds (OPs) in combat and as a result of industrial accidents and terrorist acts. It can be predicted that in case of timely use of PPE by the personnel, in addition to lethal and severe affections, up to $30 \pm 5\%$ of them will be mild forms of intoxication. It is shown in the article, that the actoprotectors with different mechanism of action (hypoxene, octodrine and meldonium) increase the endurance of experimental animals with mild poisoning of OPs in case of single oral administration. Moreover, the degree of inhibition of peripheral blood acetylcholinesterase of all animals treated with model OPs did not differ between groups and ranged from 8 to 24%. As a result of the experiments on animals, the preparations were distributed in the following order: meldonium < octodrine < hypoxene. Joint oral administration of the test substances was not accompanied by a potentiation of the actoprotective effect. It is established, that the combined use of the studied actoprotectors is comparable with the isolated administration of meldonium, has no advantages over the use of octodrine and surpasses hypoxene in rate of onset of the effect, but is inferior to it in severity and duration. These facts indicate the viability of use of the studied actoprotectors to prevent a decrease in combat readiness in case of the threat of the affection by OPs (hypoxene), for its urgent increase in case of mild affection (octodrine) and for the complex treatment of poisoning due to organophosphates (OPs) (meldonium, hypoxene).

Keywords: actoprotector; hypoxene; meldonium; octodrine; working capacity; organophosphorous compound.

For citation: Mikshta A.Yu., Erdniev L.P., Vlasov A.A., Legotin I.V., Ermolaeva I.A., Komissarenko S.A., Nelga I.A. The Possibilities of Working Capacity Maintenance at Organophosphorous Compounds Intoxication // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 3. № 4. P. 311–318. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-311-318>

References

1. Kovtun V.A., Kolesnikov D.P., Supotnitskiy M.V., Shilo N.I. Syrian «Chemical war» // Journal of NBC Protection Corps. 2018. V.2. № 3. P. 7-39 (in Russian).
2. The extreme toxicology: handbook for doctors / Ed. E.A. Luzhnikov. Moscow: GEOTAR-Media. 2006. 416 p. (in Russian).
3. Mikshta A.Yu., Pavlov A.Yu., Makshakov S.V. The consequences of anticholinesterase drugs effect on the central nervous system // Modern medicine. Theory and practice. 2003. № 3. P. 21-25 (in Russian).
4. Smirnov V.K., Rustinovich A.V., Pozamantir K.A. Mental disorders in the acute period of the domestic organophosphorous compounds intoxication // Military medical journal. 1988. № 8. P. 38-39 (in Russian).

5. Nieminen S.A., Lecklin A., Heikkinen O., Ylitalo P. Acute behavioral effects of the organophosphates sarin and soman in rats // *Pharmacol. and Toxicol.* 1990. Vol. 67. № 1. P. 36–40.
6. Sirkka U., Nieminen S.A., Ylitalo P. Neurobehavioral toxicity with low doses of sarin and soman // *Meth. and Find. Exp. and Clin. Pharmacol.* 1990. Vol. 12. № 4. P. 245–250.
7. Mikshta A.Yu., Pavlov A.Yu., Makshakov S.V., Popovich V.I., Gorbunov D.V., Polyana N.V. The initial pathophysiological and biochemical changes in mammals by anticholinesterase drug's threshold dose effect // *Modern medicine. Theory and practice.* 2003. № 3. P. 26–31 (in Russian).
8. Wolthuis O.L., Vanwersch R.A. Behavioral changes in the rat after low doses of cholinesterase inhibitors // *Fundam. Appl. Toxicol.* 1984. Vol. 4. S. 195–208.
9. Hatta K., Miura Y., Asukai N., Hamabe Y. Amnesia from sarin poisoning // *Lancet.* 1996. № 9011. P. 1343.
10. Vorobyova V.V., Zarubina I.V., Shabanov P.D. The protective effects of metaprote and ethomerzol at karbofos intoxication // *The experimental and clinical pharmacology.* 2012. V. 75. № 8. P. 25–30 (in Russian).
11. Gulyaeva I.L. The new approaches to the pharmacocorrection of the nonspecific components of the toxic injury pathogenesis. abstract of a thesis... doctor of medical science: 14.00.16, 14.00.25. Tomsk, 2009. 50 p. (in Russian).
12. Gladkikh V.D., Belykh V.G., Timoshevskiy A.A., Chizh I.M. The specific chemical and radiological protection agents: the contemporary state and development prospects // *Military medical journal.* 2018. V. 339. № 1. P. 29–36 (in Russian).
13. The methods of research and pharmacological correction of the human physical working capacity // under the editorship of I.B. Ushakov. M.: Medicine, 2008. 104 p. (in Russian).
14. Catalani V., Prilutskaya M., Al-Imam A., Marrinan S., Elgharably Y., Zloh M., Martinotti G., Chilcott R., Corazza O. Octodrine: New Questions and Challenges in Sport Supplements // *Brain Sci.* 2018. Vol. 8. № 2. P. E34.
15. Volchegorskiy I.A., Dolgushin I.I. The experimental simulation and laboratory assessment of the adaptive body reactions. Chelyabinsk, 2000. 167 p. (in Russian).
16. Hestrin S. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine, and its analytical application // *J. Biol. Chem.* 1949. V. 180. № 1. P. 249–61.
17. Zubov N.N., Kuvakin V.I. Statistical data analysis methods in medicine and pharmacy // Ed. N.N. Zubov. St.Petersburg, 2017. 216 p. (in Russian).
18. Myshkin V.A., Savlukov A.I., Gulyaeva I.L. The correction of prooxidant-antioxidant balance disorder after the severe acute poisoning (experimental study) // *General resuscitation science.* 2007. V. 3. № 5–6. P. 69–74 (in Russian).
19. Murzaeva S.V., Abramova M.B., Popova I.I., Gritsenko E.N., Mironova G.D., Lezhnev E.I. The hypoxenium effect on the biological combustion processes in mitochondria and activity of the ATPsensitive potassium channel. // *Biophysics.* 2010. V. 55. № 5–6. P. 814–821 (in Russian).
20. Grishina E.V., Khaustova Ya.V., Maevskiy E.I. The inhibition of Ca-inductible outlet of calcium from mitochondria by the phenolic series antioxidants, capable of anti-ischemic action // *Biologic membranes.* 2009. V. 26. № 6. P. 505–513 (in Russian).
21. Kosenko E.A., Abramova M.B., Venediktova N.I., Popova I.I., Kaminskiy Yu.G. The medicine hypoxen – new inhibitor of mitochondrial breathing and mitochondrial dehydrogenase // *Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological series.* 2010. № 4. P. 411–416 (in Russian).
22. Ganapolskiy V.P., Vlasov A.A. The application of hypoxen as a meteoadaptogen with healthy volunteers during Elbrus ascent // *Psychopharmacology and biological narcology.* 2008. V. 8. № 3–4. P. 2463–2468 (in Russian).
23. Fomichev A.V., Vasilyuk V.B., Sosyukin A.E. The experience of application of drug «hypoxen» for correction of functional state of endotheliocytes with persons employed in works with organophosphorous compounds. *Medline.ru.* 2015. V. 15. P. 577–586 (in Russian).
24. Baulin S.I., Rogacheva S.M., Afanasieva S.V. The researches of pharmaceuticals effect on the physical working capacity // *The bulletin of the experimental biology and medicine.* 2013. V. 155. № 5. P. 586–589 (in Russian).
25. Gorbunova A.A., Kireev S.Yu., Rashevskaya I.V. Meldonium: the relationship of structure, structure and properties // *Bulletin of Penza State University.* 2017. № 2 (17). P. 92–99 (in Russian).

Authors

Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Krasnoznamennaya Street 1, Volsk-18, Saratov Region 412918, Russian Federation.

Alexandr Yulyevich Mikshta. Leading Researcher. Doctor of Medical Sciences, Senior Researcher.

Leonid Petrovich Erdniev. Head of the Department. Candidate of Medical Sciences.

Andrey Alexandrovich Vlasov. Senior Researcher. Candidate of Medical Sciences.

Igor Valentinovich Legotin. Deputy Head of the Department. Candidate of Medical Sciences.

Irina Alexandrovna Ermolaeva. Junior Researcher.

Sergei Anatolyevich Komissarenko. Leading Researcher. Candidate of Chemical Sciences.

Igor Alikovich Nelga. Head of the Directorate. Candidate of Chemical Sciences.

Contact information for all authors: 33cnii-ito@mil.ru

Contact person: Andrey Alexandrovich Vlasov; 33cnii-ito@mil.ru

Обоснование выбора лабораторной модели для доклинической оценки медицинских средств защиты в отношении боливийской геморрагической лихорадки

Т.Е. Сизикова, В.Н. Лебедев, В.Б. Пантюхов, Е.Ю. Вахнов, С.В. Борисевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11

Поступила 12.03.2019 г. Принята к публикации 17.08.2019 г.

В обзоре рассмотрены особенности патогенеза экспериментальной боливийской геморрагической лихорадки (БГЛ) – болезни, вызываемой вирусом Мачупо (семейство *Arenaviridae*). Сделан вывод, что для проведения доклинических исследований медицинских средств защиты (МСЗ) в условиях *in vivo* на мелких лабораторных животных целесообразно использовать морских свинок при инфицировании штаммом *Chicava* или адаптированным для данных животных вариантом штамма *Carvalho*. Использование морских свинок в качестве мелких лабораторных животных при изучении патогенеза заболевания, вызванного вирусом Мачупо, позволяет провести статистически надежное определение количественных показателей экспериментальной инфекции и проводить отбор препаратов для заключительного этапа доклинической оценки. Поскольку аренавирусы блокируют процесс образования интерферона (ИФН) в инфицированном организме, мыши, дефектные по образованию ИФН, являются перспективными животными моделями при изучении патогенеза БГЛ и могут быть использованы для изучения аттенуированных вариантов вируса Мачупо, которые в дальнейшем могут быть рекомендованы для изучения в качестве кандидатов в живые вакцины. Яванские макаки (*Macaca fascicularis*) являются лабораторным животным, моделирующим патогенетические проявления БГЛ у человека. Животные этого вида могут быть использованы при проведении заключительных этапов доклинической оценки МСЗ.

Ключевые слова: аренавирусы; боливийская геморрагическая лихорадка; вирус Мачупо; грызуны; лабораторные животные; морские свинки; мыши; низшие приматы; яванская макака.

Библиографическое описание: Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Пантюхов В.Б., Вахнов Е.Ю., Борисевич С.В. Обоснование выбора лабораторной модели для доклинической оценки медицинских средств защиты в отношении боливийской геморрагической лихорадки // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 4. С. 319–328. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-319-328>

Семейство *Arenaviridae* представляет собой большую группу РНК-содержащих вирусов, генная РНК которых состоит из двух сегментов и обладает амбисенсной стратегией кодирования. Аренавирусы разделяют на аренавирусы Старого Света и Нового Света по географическому положению эндемичных регионов, а также по серологическим и филогенетическим критериям [1, 2] (рисунок 1).

Аренавирусы включают широкий спектр патогенных для человека вирусов (от вируса лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ) до возбудителей особо опасных вирусных геморрагических лихорадок (ВГЛ), таких как вирусы Ласса, Мачупо, Хунин, Луио, Сэбиа, Гуанарито и Чапаре).

Филогенетическое родство не определяет патогенность возбудителя. Так, среди аренавирусов Нового Света, относящихся к клайду В, встречаются и патогенные, и непатогенные для человека аренавирусы [3]. Пять вирусов из клайда В (вирусы Мачупо, Хунин, Сэбиа, Гуанарито и Чапаре) вызывают геморрагические лихорадки [4].

Для аренавирусных геморрагических лихорадок характерны проявления геморрагического синдрома, лейкопения, тромбоцитопения, шок, лихорадка, головные боли, миалгия, тошнота, боли в животе, рвота, диарея, мукозальные и/или конъюнктивальные петехии, тремор, отека легких. Для лихорадки Ласса в тяжелых случаях обычны проявления гепатита, для южноамери-

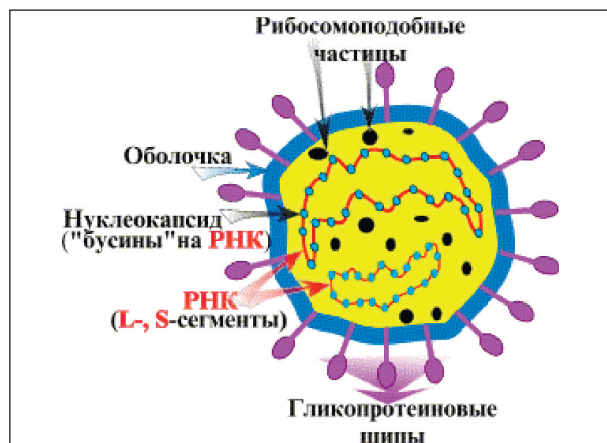


Рисунок 1 – Структура вириона аренавирусов¹

¹ Изображение взято с сайта: <http://medicine-live.ru/atlas/micro/viruses/arenavirus.htm> (дата обращения: 06.02.2019)

канских аренавирусных геморрагических лихорадок проявления гепатита либо отсутствуют, либо проявляются в мягкой форме. В то же время для южноамериканских аренавирусных геморрагических лихорадок более (чем при лихорадке Ласса) выражены неврологическая симптоматика, геморрагии, лейкопения и тромбоцитопения [5].

Патогенные для человека аренавирусы представляют потенциальную угрозу для здравоохранения вследствие возможности их завоза в неэндемичные регионы, поэтому актуальным является вопрос о создании медицинских средств защиты (МСЗ) в отношении вызываемых ими заболеваний. Перечень эффективных МСЗ в отношении аренавирусных инфекций ограничен живой аттенуированной вакциной против аргентинской геморрагической лихорадки (АГЛ), широко используемой для иммунизации населения в эндемичных регионах, а также рибавирином (препарат, относящийся к классу аномальных нуклеозидов, обладающий широким спектром противовирусного действия). При лечении больных описано использование плазмы реконвалесценто- и препаратов гетерологичных иммуноглобулинов с высоким титром вируснейтрализующих антител (ВНА) [6].

Разработка новых эффективных средств профилактики и лечения нового поколения (вирусные рекомбинантные вакцины, препараты на основе вирусспецифических гуманизированных моноклональных антител (МКАт) – антисмысловые олигонуклеотиды) еще далека от завершения. Поэтому исследования по созданию новых эффективных МСЗ в отношении аренавирусных геморрагических лихорадок являются актуальными для здравоохранения.

Обычно используемая схема отбора препаратов для профилактики и лечения вирусных



Рисунок 2 – Большая вечерняя мышь (первичный резервуар вируса Мачупо в природе)¹

¹ Изображение взято с сайта: <http://www.faunaparaguay.com/calomyscallosus.html> (дата обращения: 06.02.2019)

инфекционных заболеваний включает в себя скрининговые испытания *in vitro* и испытания на лабораторных животных (*in vivo*), адекватно моделирующие соответствующие признаки заболевания человека.

Необходимо иметь в виду, что сам факт получения положительных результатов в условиях *in vitro* является необходимым, но еще не достаточным для получения положительных результатов при исследованиях, проводимых в условиях *in vivo*. В этой связи большое значение имеют исследования на мелких лабораторных животных, которые являются важным промежуточным звеном между относительно дешевыми скрининговыми испытаниями *in vitro* и дорогостоящими испытаниями на низших приматах (животных, при экспериментальной инфекции аренавирусами моделирующих соответствующие признаки заболевания человека).

Цель обзора – обоснование выбора лабораторной модели для проведения доклинической оценки медицинских средств защиты в отношении боливийской геморрагической лихорадки (БГЛ).

Вирус Мачупо впервые был выделен в 1963 г. от погибшего человека. Заболевание, вызванное данным вирусом, впервые описано в 1959 г. [7–10]. Прототипным штаммом возбудителя БГЛ считается штамм Carvallo. Впервые он выделен в 1963 г. во время эпидемической вспышки БГЛ [11, 12]. Первичным резервуаром вируса Мачупо в природе является большая вечерняя мышь *Calomys callosus*, рисунок 2.

Вирус передается либо аэрозольно, либо в результате прямого контакта с инфицированной мочой, слюной или кровью грызунов. Вспышка БГЛ обычно связана с ежегодной уборкой зерновых и возникают в апреле–июле в северо-восточных районах Боливии. Их вероятной при-

чиной является аэрогенное инфицирование вследствие вдыхания пыли, контаминированной экскрементами инфицированных вирусом Ма-чупо грызунов [9, 13, 14]. Вирус может также передаваться вследствие контактов больных с медра-

ботниками. Такая передача вируса описана более, чем в одной вспышке БГЛ [15].

Инкубационный период при БГЛ у человека составляет от 5 до 21 сут (обычно 7–14 суток). Первые признаки заболевания включают: ли-

Таблица 1 – Клинические проявления БГЛ у низших приматов и грызунов [21–25]

Группа животных	Вид животных, возраст	Способ инфицирования	Симптомы заболевания	Время жизни до гибели, сутки п.и.	Поздняя неврологическая симптоматика	Летальность, процент	Образование ВНА, +/-
Низшие приматы	Мармозетки (взрослые)	п/к, с/к, и/н, <i>per os</i>	За 1–3 сут до гибели отказ от пищи. Вялость, слабость, гипертермия	11–21	Нет	100	–
	Макаки резус (взрослые)	п/к	Симптомы заболевания развиваются через 7 сут п.и. (петехии, сыпь, лихорадка, анорексия)	13–25	Есть	100	+
	Макаки резус (молодые)		То же	19		50	+
	Яванские макаки (циномолгусы)			17		50	+
	Африканские зеленые мартышки		Лихорадка, анорексия, шок, геморрагии, пневмония	15		100	–
Грызуны	Белые мыши (взрослые)	и/ц, и/п, и/н, <i>per os</i>	Отсутствие признаков заболевания	–	Нет	–	+
	Мыши-сосунки	и/ц, и/р	Тремор, конвульсии	9–16		–	–
	Мыши STAT-1 -/-	и/п, с/к	Летаргическое состояние	7,3 10,5		–	–
	Мыши ИНФ αβ/γ R -/-	и/п	Потеря массы тела, параличи	30	Есть	100	–
	Морские свинки (взрослые) б/п		–	–	Нет	–	+
	Морские свинки (линия C-13)		–	–		–	–
	Морские свинки (молодые)	и/ц, и/п	–	– (87 %)		–	–
	Хомячки (молодые < 5 суток)		Невралгии	–		–	–

Примечание:
 1. Способы заражения: и/н – интраназально, и/ц – интрацеребрально, *per os* – через рот; п/к – подкожно, с/к – скарификационно; и/п – интраперитонеально.
 2. Во всех случаях была использована инфицирующая доза 1×10^3 БОЕ на животное.
 3. п.и. – после инфицирования; «–» – отсутствие; «+» – наличие признака.

Рисунок 3 – Макака резус¹

¹ Изображение взято с сайта: <http://www.poasii.ru> (дата обращения: 06.02.2019)

хорадку, головную боль, головокружение, гипертензию, мышечные боли, боли в спине. У больных часто наблюдают петехиальную сыпь, кровотечения и конъюнктивит. Клинические проявления прогрессируют в течение 3–4 сут, у больных наблюдают рвоту, диарею, боли в животе. Клинические лабораторные анализы указывают на образование лейкопении, тромбоцитопении, протеинурии и гематурии. Во время второй недели заболевания часто проявляются геморрагические и неврологические симптомы. Неврологические симптомы включают тремор, спазматические сокращения мышц, бредовые состояния, конвульсии. Геморрагические проявления включают кровавую рвоту, носовые кровотечения, кровотечения из десен, мелену. В тяжелых случаях больные погибают на 7–12-е сут после проявления признаков заболевания [9, 13, 16–18].

Сведения о лабораторных животных, используемых в исследованиях с вирусом Мачупо, представлены в таблице 1. Они свидетельствуют о том, что в исследованиях с вирусом Мачупо используют различные виды низших приматов и грызунов. Среди животных с полноценным иммунным статусом летальные модели для вируса Мачупо (дикий тип) ограничены низшими приматами и морскими свинками [19–23].

Экспериментальная инфекция, вызываемая вирусом Мачупо, у макаков резусов *Macaca mulata* (рисунок 3) и яванских макаков *Macaca fascicularis* (рисунок 4) характеризовалась тяжелым заболеванием, включающим клинические и неврологические проявления. Летальность во время этих фаз составляла соответственно 80 и 95 %. Попытки изменения процесса патогенеза путем декомплементации и иммуносупрессии приводили лишь к более ранней гибели животных [24].

В дальнейшем в экспериментах использовали 43 макаки резус массой 2,5–4 кг, 4 – массой 5–8 кг и 7 яванских макаков массой 2–3,5 кг. Все

Рисунок 4 – Яванская макака¹

¹ Изображение взято с сайта: <http://www.poasii.ru> (дата обращения: 06.02.2019)

животные были подкожно инфицированы вирусом Мачупо, штамм Carvallo, в дозе 1×10^3 БОЕ. Использовали культуру вируса, прошедшую 3–4 пассажа в головном мозге хомячков-сосунков [24]. У макаков резус наблюдали различные клинические признаки заболевания на 6–7 сутки после инфицирования (п.и.): конъюнктивит, анорексия, лихорадка. Конъюнктивиты наблюдали в течение всего периода заболевания. Депрессия и анорексия прогрессировали по ходу развития болезни. У большинства животных с 14-х сут заболевания наблюдали отказ от пищи. У всех животных наблюдали дегидратацию, которая достигала максимума на 18–19 сут после инфицирования. Эти признаки заболевания проявлялись у всех инфицированных животных. Менее чем у 50 % инфицированных животных наблюдали спазмы мускулатуры на 12–14 сут после инфицирования, имеющие неврологическое происхождение. Примерно у половины животных наблюдали носовые выделения, часто геморрагического характера, они утяжелялись к исходу заболевания. Гибель инфицированных животных наступала на 19-е сут после инфицирования.

Клинические признаки заболевания были более выражены у резусов, чем у яванских макаков. У последних иногда наблюдали гибель без развития предшествующих клинических признаков проявления заболевания. Данные по доле выживших низших приматов после экспериментальной БГЛ при заболевании с первичными признаками и проявлениями энцефалита, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что яванские макаки характеризуются несколько более высокой чувствительностью к вирусу по сравнению с макаками резус.

Результаты определения уровня вирусемии у инфицированных низших приматов, представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что максимальная высота вирусемии (в крови, взятой

Таблица 2 – Показатели выживаемости при экспериментальной инфекции у низших приматов, инфицированных вирусом Мачупо, штамм Carvallo [24]

Вид животных (масса, кг)	Количество, шт.	Доля выживших, процент			Средний срок жизни до гибели, сутки
		всего	с первичными признаками	с энцефалитами	
Макака-резус (2,5–4,0 кг)	43	19	14	5	19,3±5,6
Макака-резус (5–8 кг)	4	50	50	0	30,5±9,4
Яванские макаки (2,0–3,5 кг)	7	43	29	14	17,0±5,0

Таблица 3 – Показатели уровня вирусемии у низших приматов, инфицированных вирусом Мачупо, штамм Carvallo [24]

Вид животных (масса, кг)	Результаты определения уровня вирусемии, lg БОЕ/мл на ... сутки после инфицирования						
	4	5	7	10	14	17	21
Макаки-резус (2,5–4,0 кг)	-	2,0	3,2	3,4	5,0	4,5	3,2
Яванские макаки (2,0–3,5 кг)	-	3,0	3,8	3,3	3,8	3,6	-

на 14-е сут после инфицирования) у резусов более чем на порядок превосходит соответствующий показатель у циномогузов (5,0 и 3,8 lg БОЕ/мл).

Следовательно, имело место дифференциация видов низших приматов по уровню адекватности моделирования соответствующих признаков заболевания человека при экспериментальной инфекции. Не исключено и то, что эти различия можно объяснить за счет неравнозначности использованных количественных выборок.

Т.М. Bell с соавт. [25] провели оценку яванских макаков в качестве модели для изучения инфекции, вызванной вирусом Мачупо, штамм Chica, при внутримышечном и аэрозольном инфицировании. Данный штамм был выделен от человека, заболевание которого завершилось летальным исходом во время вспышки БГЛ в провинции Бени в 1994 г. Используемая в экспериментах культура штамма получена в результате проведения 2 пассажей в монослойной культуре клеток Vero E-6. Инкубационный период у животных составлял от 6 до 10 сут. Первыми признаками заболевания были депрессия, анорексия, умеренная лихорадка и петехиальная сыпь. За этим следовало развитие неврологических признаков, заболевание заканчивалось гибелью в среднем на 18-е сут. Анализ крови выявил лейкопению и выраженную тромбоцитопению. Биохимический анализ крови показал снижение общего белка, значительное увеличение аланин- и аспартатаминотрансфераз, умеренное увеличение щелочной фосфатазы. Спустя 10 сут п.и. выявлена макулярная сыпь, увеличение лимфатических узлов, рыхлость печени и селезенки, спорадические геморрагии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Гистологические изменения проявлялись в дегенерации и некрозах/апоптозах печени, поджелудочной железы, надпочечников, пищевода, слюнных желез, желудка, кишечника (толстого и тонкого.) Прогрессирующее воспаление в центральной нервной системе (ЦНС) гистологически выявлялось на 16-е сут п.и.

Аэрогенное инфицирование животных проведено в соответствие с ранее предложенными разработками [26–28]. Дозы при аэрогенном инфицировании были в диапазоне от 100 до 10 тыс. БОЕ [25]. При использовании инфицирующей дозы 1×10^3 БОЕ в первом опыте 50 % животных (2 из 4) выжили. Во втором опыте при аэрогенном инфицировании были использованы дозы 1×10^2 и 1×10^4 БОЕ. Одновременно было проведено изучение заболевания в группе животных, внутримышечно инфицированных дозой 1×10^3 БОЕ. В данной группе признаки заболевания появились раньше, в частности вирусемия на 3 сут раньше, по сравнению с аэрогенно инфицированными животными. Однако у некоторых аэрогенно инфицированных животных наблюдали признаки заболевания (в частности фотофобию), которые не были отмечены у животных при внутримышечном инфицировании и которые характерны для заболевания человека. Авторы сделали вывод, о том, что яванские макаки адекватно моделируют БГЛ у человека, что подтверждает данные, ранее полученные G.A. Eddy с соавт. [24].

Для вируса Мачупо (как и для других патогенных для человека аренавирусов) характерно отсутствие удобной для проведения экспериментальных исследований мелкой лабораторной модели. В частности, недостаточное изучение

патогенеза БГЛ и отсутствие лицензированных средств лечения связывают с отсутствием адекватных мелких лабораторных животных, которых можно было бы использовать при проведении доклинических исследований [29].

Необходимым условием возможности получения воспроизводимых результатов при использовании мелких лабораторных животных является их чувствительность к возбудителю, позволяющая с высоким уровнем надежности провести определение величины LD_{50} при данном способе инфицирования. В качестве основного критерия эффективности исследуемого МСЗ обычно принимают защиту не менее 70 % экспериментальных объектов, инфицированных заведомо летальной дозой возбудителя. В качестве дополнительных критериев используют такие количественные показатели, как изменение продолжительности срока жизни до гибели инфицированных животных по сравнению с контролем (без введения препарата), изменение массы тела животных (по сравнению с данным показателем как для инфицированных, но нелеченных, так и для не инфицированных животных) [14].

Для проведения скрининга эффективных МСЗ необходим поиск чувствительных к вирусу Мачупо (природным штаммам или генетически измененным вариантам) мелких лабораторных животных. Обычно в качестве таких животных используют представителей различных видов отряда грызунов. Для изучения экспериментальной инфекции, вызванной вирусом Мачупо, из мелких лабораторных животных используют различные линии морских свинок, белых мышей и хомячков.

Т.М. Bell с соавт. [30] провели изучение экспериментальной инфекции, вызванной вирусом Мачупо, у морских свинок. Для аэрогенного инфицирования морских свинок был использован вирус Мачупо, штамм Chicava. Важно отметить, что в отличие от прототипного штамма Carvallo, штамм Chicava является высокопатогенным для морских свинок и не нуждается в адаптации к ним. Исходная культура штамма Carvallo не вызывает 100 % гибель морских свинок, для адаптации необходимо проведение серийных пассажей через селезенку животных.

Установлено, что введение вируса Мачупо, штамм Chicava в дозе 1000 БОЕ при аэрогенном инфицировании морских свинок вызывало гибель 100 % инфицированных животных. В последующих экспериментах использовали инфицирующую дозу 100 БОЕ. Данная доза вызывала гибель примерно 90 % животных. На этом основании можно считать, что величина LD_{50} для морских свинок при аэрогенном инфицировании последних культурой штамма Chicava вируса Мачупо составляет примерно 10 БОЕ. Поэтому автором сделан вывод о том, что морские свинки

могут быть использованы в качестве модельных животных при проведении доклинической оценки МСЗ. Внутривентриальное инфицирование морских свинок адаптированным вирусом Мачупо, штамм Carvallo, вызывало гибель ≈ 60 % животных [17, 31, 32].

J.W. Golden с соавт. [31] получили генетически измененный вариант (ГИВ) вируса Мачупо, штамм Carvallo, (Car^{91}), полностью аттенуированный для морских свинок. В качестве исходного для получения варианта Car^{91} использовали штамм Carvallo данного возбудителя. Геномный анализ исходного штамма Carvallo и варианта Car^{91} позволили определить нуклеотидные вариации, приводящие к аттенуации. Эти вариации сводятся к замене у варианта Car^{91} в гене белка L (при сравнении кДНК геномных РНК): С на Т в позиции 399; делеции в позиции 409–443 в регионе между генами L и Z; замене Т на С в позициях 1683, 2883, 2946. Поскольку изменений в S-сегментах геномных РНК не выявлено, указанные различия в структуре L-сегмента представляют единственные различия между вирулентным штаммом вируса и аттенуированным ГИВ.

Изменения в L-сегменте генома были достаточными для того, чтобы термодинамическая стабильность варианта Car^{91} была в 3,2 раза ниже по сравнению со штаммом Carvallo (значения ΔG соответственно – 16,2 ккал/моль и 51,4 ккал/моль).

Вариант Car^{91} неспособен реплицироваться в культуре клеток так же эффективно, как исходный штамм Carvallo. Исключение составляет культура клеток Vero, где уровень накопления для варианта Car^{91} и штамма Carvallo статистически достоверно не различается (6,2 и 6,5 lg БОЕ соответственно) [31].

J.W. Golden с соавт. [31] проведено сравнение варианта Car^{91} с исходным вирусом Мачупо, штамм Carvallo и штаммом Chicava данного возбудителя. Каждой исследуемой вирусосодержащей культурой внутривентриально инфицировали по 8 морских свинок (заражающая доза 1×10^3 БОЕ). Наблюдали гибель животных, изменение их массы и наличие у них лихорадки. Следует отметить, что по количеству вирионов, стоящих за 1 БОЕ, исследуемые ГИВ и штаммы вируса Мачупо отличались друг от друга. Для штамма Chicava этот показатель составлял 13, для штамма Carvallo – 26, для варианта Car^{91} – 369 (различия по сравнению со штаммом Carvallo примерно в 14 раз).

У всех животных, инфицированных штаммом Chicava, в промежутке между 8 и 20 сутками п.и. отмечена лихорадка, но только у одной была зарегистрирована температура выше 41 °С. Все животные к 24-м сут п.и. погибли. У животных, инфицированных штаммом Carvallo, наблюдали снижение массы тела между 9 и 21 сут, но повышенной температуры (выше 39,5 °С) не было зарегистрировано ни у одной из них. Пять из

8 инфицированных животных погибли (летальность 62,5 %). В отличие от штамма Chicava, у трех морских свинок, инфицированных штаммом Carvallo, развились параличи, животные подверглись эвтаназии на 21-е сут. Трое выживших животных восстановили сниженную на 9–21-е сут п.и. массу тела к 30-м сут п.и. Средний срок жизни до гибели для штаммов Chicava и Carvallo составил 22 и 23,5 сут соответственно.

У животных, инфицированных вирусом Мачупо, вариант Car⁹¹, признаки заболевания отсутствовали. Различия по летальности между штаммами Chicava и Carvallo были статистически недостоверны ($P = 0,1331$), различия по этому показателю между вариантом Car⁹¹ и штаммом Carvallo были статистически достоверны ($P = 0,0082$). Различия по снижению массы тела между всеми исследуемыми в опыте вариантами были статистически недостоверны. Максимальный уровень вирусемии для штамма Chicava составил 1088 БОЕ/мл, для штамма Carvallo – 166 БОЕ/мл (вирусемия выявлена только у одного животного). У животных, инфицированных вариантом Car⁹¹, вирусемия не была выявлена [31].

Анализ сывороток животных, инфицированных вариантом Car⁹¹ вируса Мачупо, взятых на 30-е сут п.и., установил, что у 6 животных из 8 в ИФА были выявлены антитела в титре 1:600. В реакции нейтрализации ВНА были выявлены у всех животных, причем у тех двух животных, у которых в ИФА вирусспецифические антитела не были выявлены, расчетные значения T_{50} и T_{80} (обратные величины титра ВНА, обеспечивающие 50 и 80 % нейтрализацию вируса), составляли 269 и 59,5 соответственно [31].

J.W. Golden с соавт. [31] также изучена возможность использования варианта Car⁹¹ в качестве аттенуированной вакцины, для обеспечения защиты от заболевания, вызванного гетерологичными аренавирусами Нового Света. Была испытана возможность защиты указанным вариантом морских свинок при разрешении иммунитета вирусом Гуанарито (возбудитель Венесуэльской геморрагической лихорадки). Спустя 45 сут после иммунизации вариантом Car⁹¹ в дозе 1×10^3 БОЕ морские свинки были инфицированы вирусом Гуанарито (доза 2×10^3 БОЕ). Оценивали показатели гибели, снижения массы тела и лихорадки в течение 25 сут п.и. У контрольных (неиммунизированных вариантом Car⁹¹) морских свинок снижение массы тела началось с 6-х сут п.и. на фоне лихорадки. Все контрольные животные погибли (средний срок жизни до гибели – 16 сут). В группе иммунизированных морских свинок погибло только одно животное из 8 (на 17-е сут п.и.). У погибшего животного так же наблюдали снижение массы на фоне умеренной лихорадки (40,3 °C).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что иммунизация морских свинок вари-

антом Car⁹¹ вируса Мачупо обеспечивает защиту от гетерологичного вируса Гуанарито, причем эта защита происходит в отсутствие значимых значений титров ВНА к последнему возбудителю [31].

Следовательно, использование морских свинок в качестве лабораторных животных при изучении патогенеза заболевания, вызванного вирусом Мачупо, позволяет провести статистически надежное определение количественных показателей экспериментальной инфекции.

Если одним из основных этапов при использовании морских свинок для изучения патогенеза заболевания, вызванного вирусом Мачупо, как правило, является получение адаптированного для данных животных варианта возбудителя, то при использовании для этой цели белых мышей доминирующим направлением является подбор чувствительных к вирусу Мачупо генетически модифицированных линий животных.

Установлено, что Z-белок аренавирусов Нового Света связывает белок, индуцируемый геном 1 ретиноловой кислоты (RIG1), и, таким образом, блокирует образование интерферона (ИФН) β [33]. Кроме того, нуклеопротеин вируса Мачупо блокирует ядерную транслокацию ИФН-регулирующего фактора-3 (ИРФ-3) и ингибирует активацию промоторов, зависящих от ИРФ-3 и ИФН β [34]. Полученные результаты согласуются с тем, что тип I ИФН-ответа может быть критичным для контроля БГЛ. Таким образом, мыши дефектные по образованию ИФН, являются перспективными мелкими лабораторными животными при изучении патогенеза БГЛ.

S.B. Bradfute с соавт. [29] изучили чувствительность белых мышей STAT-1, дефектных по сигналу трансдукции и активатору транскрипции, к инфицированию вирусом Мачупо, штамм Carvallo (дикий тип). Вирус прошел 3–4 пассажа в головном мозге хомячков-сосунков и затем 2 пассажа в клетках Vero. Мышей инфицировали внутрибрюшинно, подкожно и интраназально.

При внутрибрюшинном инфицировании зарегистрирована 100 % гибель животных. Средний срок гибели п.и. составлял 7,3 сут. При подкожном инфицировании была зарегистрирована 70 % гибель, средний срок гибели п.и. составлял 10,5 сут. При интраназальном инфицировании соответствующие показатели 30 % и 19 сут.

Спустя 3-е сут п.и. вирус в низких титрах (1×10^2 БОЕ/мл) был выявлен в селезенке и почках. К 5–7 сут вирус распространился во все органы, его максимальный титр достигал значений от 1×10^5 до 1×10^7 БОЕ/г (БОЕ/мл для плазмы крови). В плазме крови концентрация вируса на 5-е сут составляла 2×10^6 БОЕ/мл, на 7-е сут – 2×10^7 БОЕ/мл. В ходе развития инфекции было зарегистрировано значительное возрастание уровня белых кровяных телец. Уровень тромбоцитов снизился

к 5-м сут п.и., а к 7-м сут произошло восстановление исходного уровня.

Так же, как и в экспериментах на морских свинках, в опытах на белых мышах установлены детерминанты вирулентности на молекулярном уровне. Показано, что вирус Мачупо с единственной аминокислотной заменой (фенилаланин вместо изолейцина в позиции 438 в трансмембранной области гликопротеина GP2) является аттенуированным для белых мышей, в том числе и для дефектных по образованию α , β , γ ИФН. Однако данный вариант генетически нестабилен, поскольку при проведении дальнейших пассажей в морских свинках происходит возврат к вирусу «дикого типа» [35]. Для родственного вирусу Мачупо вируса Хунин показано, что аналогичная замена в позиции 437 приводит к аттенуации возбудителя для мышей-сосунков. ГИВ вируса Мачупо, экспрессирующий GPC вируса Хунин, штамм Candid 1, был стабильным, высокоаттенуированным и иммуногенным, что доказано в опытах на белых мышах [35].

В дальнейшем было установлено, что данный ГИВ, утративший нейротропизм для экспериментальных лабораторных животных, был авирулентен для низших приматов, морских свинок,

мышей. Использование хомячков-сосунков в исследованиях, проводимых с вирусом Мачупо, ограничено их применением в качестве дополнительной системы накопления возбудителя [29].

Таким образом, по результатам исследований установлено, что яванские макаки являются лабораторным животным, моделирующим патогенетические проявления БГЛ у человека. Животные этого вида могут быть использованы при проведении заключительных этапов доклинической оценки МСЗ.

Для проведения стадии доклинических исследований в условиях *in vivo* на мелких лабораторных животных целесообразно использовать морских свинок при инфицировании штаммом Chica или адаптированным для данных животных вариантом штамма Carvallo. Полученные результаты позволяют проводить отбор препаратов для заключительного этапа доклинической оценки. Генетически модифицированные линии белых мышей могут быть использованы для изучения аттенуированных вариантов вируса Мачупо, которые в дальнейшем могут быть рекомендованы для изучения в качестве кандидатов в живые вакцины.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

- McLay L., Ansary A., Liang Y., Ly H. Targeting virulence mechanisms for the prevention and therapy of arenaviral hemorrhagic fever // *Antiviral Res.* 2013. V. 97. № 2. P. 81–92. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.12.003>
- Radoshitzky S.R., Bao Y., Buchmeier M.J. et al. Past, present and future of arenavirus taxonomy // *Arch. Virol.* 2015. V. 160. № 7. P. 1851–1874. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2418-y>
- Abraham J., Kwong J.A., Albarino C.C. et al. Host-species transferring receptor 1 orthologs are cellular receptors for nonpathogenic New World Clade B arenaviruses // *PLoS Pathog.* 2009. V. 5. № 4. P. 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000358>
- Milazzo M.L., Campbell G.L., Fulhorst C.F. Novel arenavirus infection in humans, US // *Emerg. Infect. Dis.* 2011. V. 17. № 8. P. 1417–1420. <https://doi.org/10.3201/eid1708.110285>
- Shao J., Liang Y., Ly H. Human hemorrhagic fever causing arenaviruses: molecular mechanisms contributing to virus virulence and disease pathogenesis // *Pathogens.* 2015. V. 4. P. 283–306.
- Sayburn A. WHO gives go ahead for experimental treatments to be used in Ebola outbreak // *BMJ.* 2014. V. 349. P. 1.
- Charrel R.N., de Lamballerie X. Arenaviruses other than Lassa virus // *Antiviral Res.* 2003. V. 57. № 1–2. P. 89–100.
- Johnson K.M. Epidemiology of Machupo virus infection. 3. Significance of virological observations in man and animals // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1965. V. 14. № 5. P. 816–818.
- Mackenzie R.B., Beye H.K., Valverde L., Garron H. Epidemic hemorrhagic fever in Bolivia. I. A preliminary report of the epidemiologic and clinical findings in a new epidemic area in South America // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1964. V. 13. P. 620–625.
- Radoshitzky S.R., Jahrling P.B., Bavari S. Bolivian hemorrhagic fever / Eds Singh S.K., Ruzek D. *Viral hemorrhagic fevers*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2014. P. 339–358.
- Golden J.W., Hammerbeck C.D., Mucker E.M., Brocato R.L. Animal models for the study of rodent-borne hemorrhagic fever viruses: Arenaviruses and Hantaviruses // *Biomed. Res. Int.* 2015. V. 2015. P. 793257. <https://doi.org/10.1155/2015/793257>
- Johnson K.M., Wiebenga N.H., Mackenzie R.B. et al. Virus isolations from human cases of hemorrhagic fever in Bolivia // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1965. V. 118. P. 113–118.

<https://doi.org/10.3181/00379727-118-29772>

13. Aguilar P.V., Camargo W., Vargas J. et al. Reemergence of Bolivian hemorrhagic fever, 2007–2008 // *Emerg. Infect. Dis.* 2009. V. 15. № 9. P. 1526–1528. <https://doi.org/10.3201/eid1509.090017>

14. Radoshitzky S.R., Kuhn J.H., de Kok-Mercado F. et al. Drug discovery technologies and strategies for Machupo virus and other New World arenaviruses // *Expert. Opin. Drug Discov.* 2012. V. 7. № 7. P. 613–632. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.687719>

15. Buchmeier M.J., De la Torre J.C., Peters C.J. // In: *Fields Virology*. V. 2. / Eds. Knipe D.M., Howley P.M. Lippencott: Williams and Wilkins, 2013. P. 1283–1303.

16. Centers for Disease Control and Prevention. Bolivian hemorrhagic fever: El Beni Department, Bolivia, 1994 // *JAMA*. 1995. V. 273. № 3. P. 194–196.

17. Peters C.J., Kuehne R.W., Mercado R.R. et al. Hemorrhagic fever in Cochabamba, Bolivia, 1971 // *Am. J. Epidemiol.* 1974. V. 99. № 6. P. 425–433.

18. Tesh R.B. Viral hemorrhagic fevers of South America // *Biomedica*. 2002. V. 22. № 3. P. 287–295.

19. Castello M.D., Eddy G.A., Kuehne R.W. A rhesus monkey model for the study of Bolivian hemorrhagic fever // *J. Infect. Dis.* 1976. V. 133. № 1. P. 57–62.

20. Khmelev A.L., Borisevich I.V., Pantiukhov V.B. et al. Use of guinea pigs to evaluate the efficacy of a heterologous immunoglobulin against Bolivian hemorrhagic fever // *Vopr. Virusol.* 2009. V. 54. № 4. P. 42–44.

21. Terrell T.G., Stookey J.L., Eddy G.A., Castello M.D. Pathology of Bolivian hemorrhagic fever in the rhesus monkey // *Am. J. Pathol.* 1973. V. 73. № 2. P. 477–494.

22. Wagner F.S., Eddy G.A., Brand O.M. The African green monkey as an alternate primate host for studying Machupo virus infection // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1977. V. 26. № 1. P. 159–162. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1977.26.159>

23. Webb P.A., Justines G., Johnson K.M. Infection of wild and laboratory animals with *Machupo* and *Latino viruses* // *Bull. World Health Organ.* 1975. V. 52. № 4–6. P. 493–499.

24. Eddy G.A., Scott S.K., Wagner F.S., Brand O.M. Pathogenesis of *Machupo virus* infection in primates // *Bull. World Health Organ.* 1975. V. 52. № 4–6. P. 517–521.

25. Bell T.M., Shaia C.I., Bunton T.E. et al. Pathology of experimental Machupo virus infection, Chicava strain, in *Cynomolgus macaques* (*Macaca fascicularis*) by intramuscular and aerosol exposure // *Vet. Pathol.* 2015. V. 52. № 1. P. 26–37.

<https://doi.org/10.1177/0300985814540544>

26. Dabisch P.A., Kline J., Lewis C. Characterization of a head-only aerosol exposure system for nonhuman primates // *Inhal. Toxicol.* 2010. V. 22. № 3. P. 224–233. <https://doi.org/10.3109/08958370903191023>

27. Hartings J.M., Roy C.J. The automated bioaerosol exposure system: preclinical platform development and a respiratory dosimetry application with nonhuman primates // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2004. V. 49. № 1. P. 39–55. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2003.07.001>

28. Roy C.J., Reed D.S., Hutt J.A. Aerobiology and inhalation exposure to biological select agents and toxins // *Vet. Pathol.* 2010. V. 47. № 5. P. 779–789. <https://doi.org/10.1177/0300985810378650>

29. Bradfute S.B., Stuthman K.S., Shurtleff A.C., Bavari S. A STAT-1 knockout mouse model for Machupo virus pathogenesis // *Viol. J.* 2011. V. 8. P. 300. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-300>

30. Bell T.M., Bunton T.E., Shaia C.I. et al. Pathogenesis of Bolivian Hemorrhagic fever in Guinea Pigs // *Vet. Pathol.* 2016. V. 53. № 1. P. 190–199. <https://doi.org/10.1177/0300985815588609>

31. Golden J.W., Beitzel B., Ladner J.T. et al. An attenuated Machupo virus with a disrupted L-segment intergenic region protects guinea pigs against lethal Guanarito virus infection // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 4679. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04889-x>

32. Weissenbacher M.C., Coto C.E., Caelelo M.A. Cross-protection between Tacaribe complex viruses. Presence of neutralizing antibodies against Junin virus (Argentine hemorrhagic fever) in guinea pigs infected with *Tacaribe virus* // *Intervirology*. 1975–1976. V. 6. № 1. P. 42–49. <https://doi.org/10.1159/000149452>

33. Fan L., Briesse T., Lipkin W.I. Z proteins of New World arenaviruses bind RIG-I and interfere with type I interferon induction // *J. Virol.* 2010. V. 84. № 4. P. 1785–1791. <https://doi.org/10.1128/JVI.01362-09>

34. Martínez-Sobrido L., Giannakas P., Cubitt B. et al. Differential inhibition of type I interferon induction by arenavirus nucleoproteins // *J. Virol.* 2007. V. 81. № 22. P. 12696–12703. <https://doi.org/10.1128/jvi.00882-07>

35. Koma T., Patterson M., Huang C. et al. Virus Expressing GPC of the Candid#1 Vaccine Strain of *Junin Virus* Is Highly Attenuated and Immunogenic // *J. Virol.* 2015. V. 90. № 3. P. 1290–1297. <https://doi.org/10.1128/jvi.02615-15>

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11.
Сизикова Татьяна Евгеньевна. Научный сотрудник, канд. биол. наук.

Лебедев Виталий Николаевич. Ведущий научный сотрудник, д-р биол. наук, проф.

Пантюхов Владимир Борисович. Начальник научно-исследовательского управления, канд. мед. наук.

Вахнов Евгений Юрьевич. Заместитель начальника отдела биологической защиты управления начальника войск РХБЗ ВС РФ, канд. мед. наук.

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ д-р. биол. наук, проф., чл.-корр. РАН.

Контактная информация для всех авторов: 48cnii@mil.ru

Контактное лицо: Борисевич Сергей Владимирович; 48cnii@mil.ru

Validation of Choice of Laboratory Model for Preclinical Estimation of Medical Protectors Against Bolivian Hemorrhagic Fever

T.E. Sizikova, V.N. Lebedev, V.B. Pantukhov, E.Y. Vakhnov, S.V. Borisevich

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defence of the Russian Federation, Oktyabrskiy Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation

This review is dedicated to the peculiarities of pathogenesis of the experimental Bolivian hemorrhagic fever (BHF) – the disease, caused by *Machupo virus* (Arenaviridae family). The authors come to the conclusion that for carrying out preclinical researches of the medical means of protection (MMP) *in vivo* on small laboratory animals it is expedient to use guinea pigs, infected with a strain of Chicava or with a variant of Carvallo strain, adapted for these animals. The use of guinea pigs as small laboratory animals when studying pathogenesis of the disease caused by *Machupo virus* allows to carry out statistically reliable definition of quantitative indices of an experimental infection and to select medicines for the final stage of preclinical assessment. As arenaviruses block the process of formation of interferon (IFN) in the infected organism, mice, defective by IFN formation, are the perspective animal models for the study of BHF pathogenesis and may be used for the study of attenuated variants of *Machupo virus*. The Javanese macaques (*Macaca fascicularis*) are the laboratory animals, modeling the pathogenetic manifestations of BHF in humans. They can be used when carrying out the final stages of preclinical assessment of means of medical protection.

Keywords: arenaviruses; Bolivian hemorrhagic fever; *Machupo virus*; rodents; laboratory animals; guinea pigs; mice; nonhuman primates; *Macaque fascicularis*.

For citation: Sizikova T.E., Lebedev V.N., Pantukhov V.B., Vakhnov E.Y., Borisevich S.V. Validation of Choice of Laboratory Model for Preclinical Estimation of Medical Protectors Against Bolivian Hemorrhagic Fever // *Journal of NBC Protection Corps*. 2019. V. 3. № 4. P. 319–328. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-319-328>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

See P. 326–327.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defence of the Russian Federation, Oktyabrskiy Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation.

Tatyana Eugenievna Sizikova. Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Vitaly Nikolayevich Lebedev. Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences, Professor.

Vladimir Borisovich Pantukhov. Head of the Scientific Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Eugeny Iurievich Vakhnov. Deputy Head of the Biological Defence Department of the Office of the Head of NBC Protection Troops. Candidate of Medical Sciences.

Sergey Vladimirovich Borisevich. Head of the FSBE «48 Central Scientific Research Institute». Doctor of Biological Sciences, Corresponding Member of RAS.

Contact information for all authors: 48cnii@mail.ru

Contact person: Sergey Vladimirovich Borisevich; 48cnii@mail.ru

Новые представители семейства Filoviridae: распространение, природные резервуары, потенциальная эпидемическая опасность

Т.Е. Сизикова, Н.В. Боярская, А.В. Ковальчук, В.Н. Лебедев, С.В. Борисевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11

Поступила 30.08.2019 г. Принята к публикации 17.10.2019 г.

Цель работы – анализ данных о распространении, природном резервуаре и потенциальной эпидемической опасности новых представителей семейства Filoviridae вирусов Бомбали (род *Ebolavirus*), Ллови (род *Cuevavirus*), Менгла (род *Dianlovirus*), Ксиланг (род *Striavirus*) и Хунгджиао (род *Thamnovirus*). Новые филовирусы выявлены в Африке (вирус Бомбали), Европе (вирус Ллови), Юго-Восточной Азии (вирусы Менгла, Ксиланг и Хунгджиао). Естественным природным резервуаром для всех известных филовирусов являются рукокрылые, что подтверждают сведения о выявлении у них геномной РНК и вирусспецифических антител. Выделение от рукокрылых геномной РНК филовирусов с последующим проведением секвенирования и филогенетического анализа позволило определить вирусы Бомбали, Ллови, Менгла, Ксиланг и Хунгджиао как новых представителей семейства Filoviridae и установить их положение на филогенетическом древе семейства Filoviridae. Несмотря на отсутствие в настоящее время данных о выделении биологически активного вируса от рукокрылых, а также отсутствия установленной связи новых филовирусов с заболеваниями человека, сведения о том, что вновь выявленные филовирусы для входа в чувствительные клетки используют те же рецепторы (белок Неймана-Пика), что и патогенные для человека вирусы Эбола и Марбург, возможный патогенетический потенциал новых филовирусов представляет большую опасность для людей, живущих на территориях обитания рукокрылых. Возможность возникновения новых эмерджентных филовирусных инфекций на территории России обуславливает необходимость углубленного изучения рукокрылых как естественного резервуара филовирусов в природе.

Ключевые слова: вирус Бомбали; вирус Ксиланг; вирус Ллови; вирус Менгла; вирус Хунгджиао; естественный резервуар филовирусов; рукокрылые; секвенирование генома; филовирусы; филогенетический анализ; филогенетическое древо.

Библиографическое описание: Сизикова Т.Е., Боярская Н.В., Ковальчук А.В., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Новые представители семейства Filoviridae: распространение, природные резервуары, потенциальная эпидемическая опасность // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 4. С. 329-336. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-329-336>

Геморрагические лихорадки, этиологическими агентами которых являются вирусы, входящие в семейство Filoviridae, представляют большую угрозу для здравоохранения ввиду высокой летальности заболеваний и практически полного отсутствия средств защиты [1, 2]. До недавнего времени считали, что в семейство Filoviridae входят род Marburgvirus, вклю-

чающий два самостоятельных вируса, вирусы Марбург и Равн и род Ebolavirus, включающий 5 отдельных вирусов: Эбола-Заир, Эбола-Судан, Эбола-Bundibudgio, Эбола-Tai Forest и Ebola-Рестон [3–4]¹.

Все перечисленные возбудители (за исключением вируса Рестон) являются эндемичными для Африканского континента. Вирусы Эбола

¹ International Committee on Taxonomy of Viruses. ICTV virus taxonomy 2013. http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?taxnode_id=20130391 (дата обращения: 28.04.2019).



Рисунок 1 – Ангольский складчатогуб *Mops condylurus* в генетическом материале которого обнаружена РНК вируса Бомбали¹



¹ Фотографии с ресурсов URL: <http://www.eurekalert.org> и URL: <http://www.inaturalist.org> (дата обращения: 11.07.2019)



Рисунок 2 – Карликовый складчатогуб *Chaerephon pumilus* является возможным резервуаром вируса Бомбали в природе¹

¹ Фотография с ресурса URL: <http://www.mammalogy.org> (дата обращения: 11.07.2019)

Bundibugio, Эбола-Судан и Эбола-Заир способны вызывать масштабные вспышки. Последний из перечисленных возбудителей был этиологическим агентом крупнейшей за всю историю наблюдений вспышки геморрагической лихорадки Эбола в Западной Африке в 2013–2016 гг. и постоянно возникающих вспышках в Демократической Республике К (ДРК) [5–7].

Естественным резервуаром филовирусов являются широко распространенные в природе рукокрылые², что подтверждают сведения о выявлении у них вирусспецифических антител [6, 8–13] и геномной РНК филовирусов [9, 10, 14–17].

Цель работы – анализ данных о распространении, природном резервуаре и потенциальной эпидемической опасности новых представителей семейства Filoviridae вирусов Бомбали (род

Ebolavirus), Ллови (род *Cuevavirus*), Менгла (род *Dianlovirus*), Ксиланг (род *Striavirus*) и Хунгджи-ао (род *Thamnovirus*).

Наиболее поздно идентифицированным представителем рода *Ebolavirus* является вирус Бомбали, выделенный в августе 2018 г. от складчатогубых летучих мышей (семейство Molossidae) *Mops condylurus* (рисунок 1) и *Chaerephon pumilus* (рисунок 2) [21] в Сьерра Леоне [22].

Именно с рукокрылыми связывают вспышку геморрагической лихорадки Марбург среди шахтеров в Уганде в 2007 г. [19].

С учетом разнообразия летучих мышей, необходимо наблюдение за их популяциями для лучшего понимания распределения разнообразия и экологии различных филовирусов.

Различные процессы жизнедеятельности в популяциях летучих мышей (спаривание, рождение потомства, миграции) связаны с сезонностью [19–23]. Особую роль играют увеличение числа чувствительных хозяев и частоты контактов во время рождения потомства [24].

Получение в последние годы культур клеток летучих мышей [25], в том числе и клеток летучей мыши *Rousettus aegyptiacus* (одного из наиболее вероятных кандидатов в природные резервуары филовирусов) [26], сделало возможным изучение молекулярных механизмов внедрения вирусов в клетки хозяев и размножения в них.

Данные о распространении и персистенции филовирусов среди летучих мышей свидетельствуют о том, что взаимоотношения возбудителя и хозяев, а также динамика инфекционного процесса соответствуют классической схеме: «чувствительный хозяин – инфицирование – иммунитет» [9, 24, 27, 28].

² International Committee on Taxonomy of Viruses. ICTV virus taxonomy 2013. [http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?taxnode_id=20130391] (дата обращения: 28.04.2019).



**Рисунок 3 – Обыкновенный длиннокрыл
*Miniopterus schreibersii*¹**

¹ Фотография с ресурса URL: <http://www.iucnredlist.org> (дата обращения: 11.07.2019).

Сведения о молекулярной детекции генома или выделении филовирусов от рукокрылых за пределами Африканского континента до недавнего времени отсутствовали. Первой работой, в которой описано выделение филовирусов от рукокрылых за пределами Африканского континента, является статья Taniguchi S. с соавт. о представителе рода *Ebolavirus*, вирусе Рестон выделенном от различных видов летучих мышей на Филиппинах [12] и Бангладеш [6].

Следует отметить, что некоторые виды рукокрылых, например, летучие мыши *Miniopterus schreibersii*, имеют чрезвычайно широкий ареал распространения в Океании, Северной Африке, Юго-Восточной Азии и юге Европы (Испания, Португалия, Франция) (рисунок 3).

В данных летучих мышах впервые был обнаружен вирус Ллови, получивший свое название по месту своего первичного выделения (пещера Ллови, расположенная в автономной области Астурия на севере Испании). Анатомический и микробиологический анализ погибших летучих мышей, в пробах из селезенки и легких которых была обнаружена геномная РНК вируса Ллови, указал на ряд признаков (инфильтраты в легких, лимфоцитарные и лимфоидные фолликулы в селезенке), характерных для перенесенной вирусной инфекции. Вероятным органом-мишенью вируса Ллови в летучих мышах является печень. Максимально выявленное накопление вируса Ллови при использовании ОТ-ПЦР составило $4,0 \cdot 10^6$ геном-эквивалентов на 1 г [16].

Последовательности геномной РНК вируса Ллови (гены NP и GP), выделенного из различных источников, были практически идентичны. По первичной структуре последовательности

геномной РНК вирус Ллови на 57,3–57,7 % отличается от вируса Марбург и на 51,8–52,6 % от вируса Эбола-Заир [16].

Большой практический интерес представляют данные, о выявлении филовирусов на территории КНР. J. Yuan с соавт. [29] выявили специфические антитела к вирусу Эбола у нескольких видов летучих мышей в КНР.

В работе В. Не с соавт. [14] также проведено исследование по определению филовирусов в летучих мышах, обитающих на территории КНР. При проведении работы использованы 29 внешне здоровых крыланов *Rousettus leschenaultia*, пойманных в июне 2013 г. в провинции Юньнань, КНР. Методом метагеномного анализа проведено исследование внутренних органов (кишечник, легкие и мозг) животных.

Среди выявленных последовательностей геномной нуклеиновой кислоты (НК) три были генетически связаны со специфическими для геномной НК филовирусов нуклеотидными последовательностями, соответствующими гену нуклеопротеина вируса Ллови (74 % идентичности по нуклеотидной последовательности), гена VP35 вируса Эбола-Судан (69 % идентичности) и гена РНК-зависимой РНК-полимеразы вируса Эбола-Тай Форест (72 % идентичности). С помощью применения праймеров, специфичных по отношению к наиболее консервативному участку гена белка L всех известных к настоящему времени филовирусов, в ткани одного животного (Bt-DH04) после проведения скрининга выявлены два ОТ-транскрипта, которые показали специфическую амплификацию с пробой, полученной из легких³.

Конечным результатом проведенной работы стала амплификация из легочной ткани двух фрагментов кДНК длиной 2750 (F1) и 2682 (F2) н.о. [14].

Сравнение полученных последовательностей с последовательностями, представляющими 7 различных вирусов, относящихся к 3 родам семейства Filoviridae, показало, что последовательность F1 покрывает 3'-концевую область гена нуклеопротеина и почти полностью последовательность гена белка VP35. Последовательность F2 покрывает участок гена РНК-зависимой РНК-полимеразы (L-белок), соответствующую позициям 12613–15302 генома вируса Эбола-Заир (последовательность GenBank № HQ 613402). Наиболее высокий уровень идентичности фрагмента F1 штамма Bt-DH04 установлен соответствующим фрагментом кДНК геномной РНК вируса Эбола (46 %), затем следует вирус Ллови (44 %) и вирус Марбург менее (40 %). Поскольку L-ген является наиболее консервативным регионом геномной РНК филовирусов,

³ Распространены практически повсеместно, за исключением Антарктиды и некоторых приполярных областей. В фауне России насчитывается 37 видов гладконосых летучих мышей.

Таблица 1 – Таксономия семейства *Filoviridae* [30]

Род	Вирус	Год выявления
Marburgvirus	Марбург	1967
	Ravn	2007
Ebolavirus	Эбола-Заир	1976
	Эбола-Судан	1976
	Эбола-Рестон	1989
	Эбола-Tai Forest	1994
	Эбола-Bundibudgio	2007
	Бомбали	2018
Cuevavirus	Ллови	2003
Dianlovirus	Менгла	2015
Striavirus	Ксиланг	2017
Thamnovirus	Хунгджиао	2017

последовательность F2 имеет более высокий (по сравнению с F1) уровень идентичности (66–68 % для членов рода *Ebolavirus*, 64 % с вирусом Ллови, ≈ 60 % и с вирусом Марбург) [14].

Новый филовирус по месту своего выделения получил название вирус Менгла. Жизнеспособный вирус до настоящего времени не выделен, однако определена полная последовательность его генома, размер которой составляет 18330 н.о. [30].

X.L. Yang с соавт. [31] провели определение полногеномной нуклеотидной последовательности вируса Менгла и показали, что она на 32–54 % идентична таковой для других филовирусов. Филогенетический анализ установил, что на филогенетическом древе филовирусов вирус Менгла занимает промежуточное положение между вирусами Эбола и Марбург и представляет новый род *Dianlovirus* семейства *Filoviridae*.

Так же как представители родов *Cuevavirus*, *Ebolavirus* и *Marburgvirus*, геном вируса Менгла содержит 7 генов 3'-NP-VP35-VP40-GP-VP30-VP24-L-5'. Однако геном вируса Менгла отличается от геномов представителей указанных выше родов семейства *Filoviridae* по количеству перекрывающихся генных последовательностей (4 у вируса Менгла против 5 у представителей рода *Cuevavirus*, 2–3 у представителей рода *Ebolavirus* и 1 у представителей рода *Marburgvirus*) и структуре транскрипционной терминальной последовательности. В противоположность вирусам Эбола и Ллови (но также, как и у вируса Марбург), ген GP кодирует только один белок [30].

В проведенных исследованиях при использовании количественной ПЦР РНК филовирусов была обнаружена в пробах от рукокрылых видов *E. spelaea* и *Rousettus* sp. Филовирусы главным образом выявлены в пробах ткани легких [32].

Секвенирование фрагмента гена L размером 310 нуклеотидных остатков (GenBank KX371873-KX371890) выявило 65–99 % иден-

тичность выделенных последовательностей друг с другом и 61–99 % идентичность с другими филовирусами.

Филогенетический анализ установил, что последовательности геномной нуклеиновой кислоты, выделенные от летучих мышей, формируют три отдельные группы. Группа I включает 6, группа II – 11, группа III – 2 последовательности. Нуклеотидные последовательности, входящие в первую группу, показали наибольший уровень идентичности с вирусом Марбург – 75–78 %, второй группы – с вирусом Ravn. Две последовательности группы III были очень сходны между собой и имели уровень идентичности нуклеотидной последовательности 66–70 % с другими филовирусами. Исследования одного из образцов показали наличие смешанной инфекции 4 различных штаммов с высокой дивергенцией. Одна из последовательностей группы III была аналогична опубликованной ранее для вируса Менгла [14].

Следовательно, по результатам анализа проб внутренних органов от рукокрылых, пойманных в КНР, были определены (кроме вируса Менгла) еще 2 новых рода семейства *Filoviridae* – род *Striavirus* (представитель вирус Ксиланг) и род *Thamnovirus* (представитель – вирус Хунгджиао).

Рассмотренные данные позволяют представить таксономию семейства *Filoviridae* следующим образом (таблица 1).

Филогенетическое древо семейства *Filoviridae*, содержащее новые филовирусы, представлено на рисунке 4 [18].

Несмотря на достаточно низкий уровень гомологии аминокислотной последовательности гликопротеина по отношению к вирусам Марбург и Эбола (22–39 %), вновь выявленные филовирусы (Бомбали, Ллови, Менгла, Ксиланг и Хунгджиао) в качестве основного рецептора для входа в чувствительные клетки также используют белок Неймана-Пика [18, 33, 34].

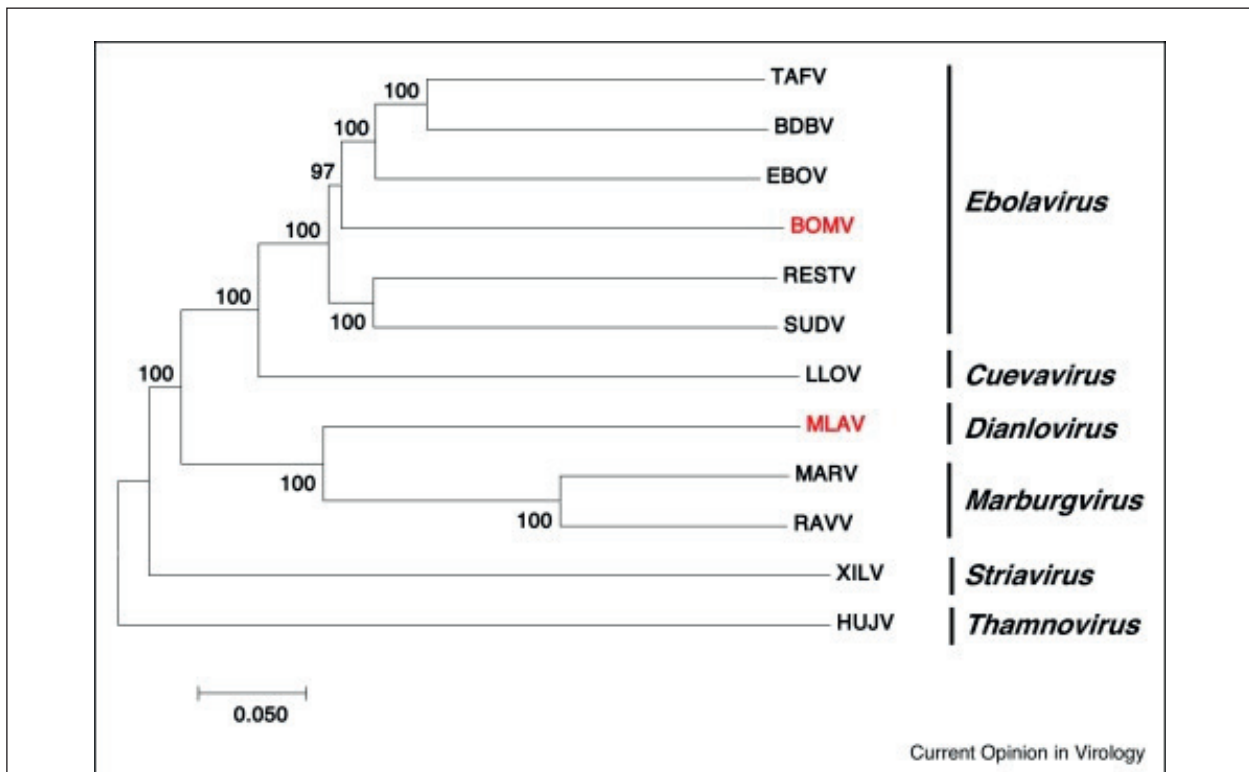


Рисунок 4 – Филогенетическое древо семейства Filoviridae [18]

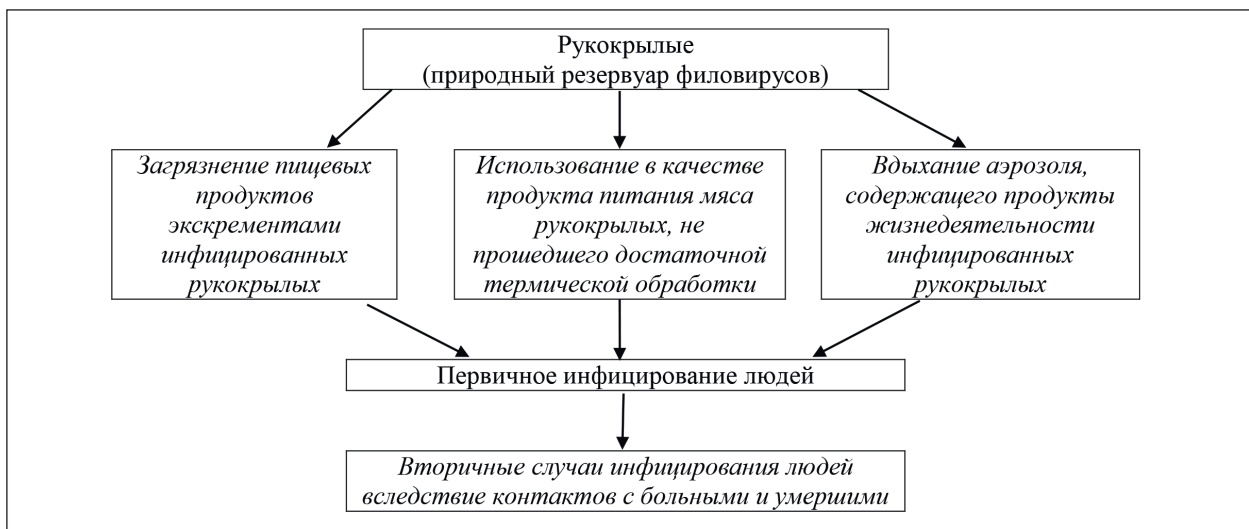


Рисунок 5 – Возможная схема формирования эпидемических вспышек заболевания, вызываемых филловирюсами (составлена авторами)

Возможный механизм возникновения вспышек заболеваний, вызванных филловирюсами среди людей, схематически представлен на рисунке 5.

Представленные выше данные свидетельствуют о том, что новые филловирюсы потенциально способны к преодолению межвидового барьера, что обуславливает их потенциальную опасность для здравоохранения [14].

Выводы:

1. Естественным природным резервуаром для всех известных филловирюсов являются рукокрылые, что подтверждают сведения о выявлении у них геномной РНК и вирусспецифических антител.

2. Выделение от рукокрылых геномной РНК филловирюсов с последующим проведением секвенирования и филогенетического анализа позволило определить вирусы Бомбали,

Ллови, Менгла, Ксиланг и Хунгджиао как новых представителей семейства Filoviridae.

3. Определено положение новых филовиров на филогенетическом древе семейства Filoviridae.

4. Вновь выявленные филовirusы для входа в чувствительные клетки используют те же рецепторы (белок Неймана-Пика), что и патогенные для человека вирусы Эбола и Марбург,

тем самым они определяют возможный патогенетический потенциал рассматриваемых новых филовировусов.

5. Возможность возникновения новых эмерджентных филовirusных инфекций обуславливает необходимость дальнейшего углубленного изучения рукокрылых как естественного резервуара филовirusов в природе.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Radoshitzky S.R., Bavari S., Jahrling P.B., Cuhn J.H. Filoviruses // In: Medical aspects of biological warfare / Ed. Carr J.H. Border Institute, Fort Sam Houston, 2018. P. 569–614.
2. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola viruses // In: Fields Virology. 5th ed. / Eds. Knipe D.M., Howley P.M. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, a Wolters Kluwer Business. 2007. P. 1409–1448.
3. Kuhn J.H., Becker S., Ebihara H. et al. Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations // Arch Virol. 2010. V. 155. № 12. P. 2083–2103. <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0814-x>
4. Towner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L. et al. Newly Discovered Ebola Virus Associated with Hemorrhagic Fever Outbreak in Uganda // PLoS Pathog. 2008. V. 4. № 11. P. 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000212>
5. Nikegasong J.N., Onyebujoh P. Response to the Ebola virus disease outbreak in DRC // Lancet. 2018. V. 391. P. 2395–2398. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31326-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31326-6)
6. Olival K.J., Islam A., Yu M., Anthony S.J. et al. Ebola virus antibodies in fruit bats, Bangladesh // Emerg Infect Dis. 2013. V. 19. P. 270–273. <https://doi.org/10.3201/eid1902.120524>
7. Piot P., Muyembe J.J., Edmunds W.J. Ebola in west Africa: from disease outbreak to humanitarian crisis // Lancet Infect. Dis. 2014. V. 14. № 11. P. 1034–1035. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70956-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70956-9)
8. Kuzmin I.V., Niezgoda M., Franka R. et al. Marburg virus in fruit bat, Kenya // Emerg Infect Dis. 2010. V. 16. № 2. P. 352–354. <https://doi.org/10.3201/eid1602.091269>
9. Leroy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., Rouquet P. et al. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus // Nature. 2005. V. 438. № 7068. P. 575–576. <https://doi.org/10.1038/438575a>
10. Olival K.J., Hayman D.T.S. Filoviruses in Bats: current knowledge and future directions // Viruses. 2014. V. 6. P. 1759–1788. <https://doi.org/10.3390/v6041759>
11. Swanepoel R., Smit S.B., Rollin P.E. et al. Studies of reservoir hosts for Marburg virus // Emerg Infect Dis. 2007. V. 13. № 12. P. 1847–1851. <https://doi.org/10.3201/eid1312.071115>
12. Taniguchi S., Watanabe S., Masangkay J.S. et al. Reston Ebolavirus antibodies in bats, the Philippines // Emerg Infect Dis. 2011. V. 17. № 8. P. 1559–1560. <https://doi.org/10.3201/eid1708.101693>
13. Towner J.S., Pourrut X., Albarrino C.G. et al. Marburg virus infection detected in a common African bat // PLoS One. 2007. V. 2. № 8. P. 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000764>
14. He B., Feng Y., Zhang H. et al. Filovirus RNA in fruit bats, China // Emerg. Infect. Dis. 2015. V. 21. P. 1675–1677. <https://doi.org/10.3201/eid2109.150260>
15. Jayme S.I., Field H.E., de Jong C. et al. Molecular evidence of Ebola Reston virus infection in Philippine bats // J. Virol. 2015. V. 12. № 107. P. 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0331-3>
16. Negredo A., Palacios G., Vazquez-Moron S. et al. Discovery of an Ebola-like filovirus in Europe // PLoS Pathog. 2011. V. 7. № 10. P. 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002304>
17. Towner J.S., Amman B.R., Sealy T.K. et al. Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats // PLoS Pathog. 2009. V. 5. № 7. P. 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000536>
18. Goldstein T., Anthony S.J., Gbakima A. et al. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses // Nat. Microbiol. 2018. V. 3. P. 1084–1089. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0227-2>
19. Amman B.R., Carroll S.A., Reed Z.D. et al. Seasonal pulses of Marburg virus circulation in juvenile Rousettus aegyptiacus bats coincide with periods of increased risk of human infection // PLoS Pathog. 2012. V. 8. № 10. P. 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002877>
20. Hayman D.T.S., Emmerich P., Yu M. et al. Long-Term survival of an urban fruit bat seropositive for Ebola and Lagos bat viruses // PLoS One. 2010. V. 5. № 8. P. 1–3. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011978>
21. Hayman D.T.S., McCrea R., Restif O. et al. Demography of straw-colored fruit bats in Ghana // J.

Mammal. 2012. V. 93. P. 1393–1404. <https://doi.org/10.1644/11-mamm-a-270.1>

22. Mutere F.A. Breeding cycles in tropical bats in Uganda // J. Ecology. 1968. V. 56. № 2. P. 8–9.

23. Thomas D.W. Annual migration of three species of West African fruit bats (Chiroptera: Pteropodidae) // Can. J. Zool. 1983. V. 61. № 10. P. 2266–2272. <https://doi.org/10.1139/z83-299>

24. Anderson R.M., May R.M. Population biology of infectious diseases: Part I // Nature. 1979. V. 280. № 5721. P. 361–367. <https://doi.org/10.1038/280361a0>

25. Crameri G., Todd S., Grimley S. et al. Establishment, immortalisation and characterisation of pteropod bat cell lines // PLoS One. 2009. V. 4. № 12. P. 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008266>

26. Jordan I., Munster V.J., Sandig V. Authentication of the R06E fruit bat cell line // Viruses. 2012. V. 4. № 5. P. 889–900. <https://doi.org/10.3390/v4050889>

27. Paweska J.T., Jansen van Vuren P., Masumu J. et al. Virological and serological findings in *Rousettus aegyptiacus* experimentally inoculated with Vero cells-adapted hogan strain of *Marburg virus* // PLoS One. 2012. V. 7. № 9. P. 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045479>

28. Swanepoel R., Leman P.A., Burt F.J. et al. Experimental inoculation of plants and animals with *Ebola virus* // Emerg. Infect. Dis. 1996. V. 2. № 4. P. 321–325. <https://doi.org/10.3201/eid0204.960407>

doi.org/10.3201/eid0204.960407

29. Yuan J., Zhang Y., Li J. et al. Serological evidence of ebolavirus infection in bats, China // J. Virol. 2012. V. 9. P. 236. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-236>

30. Wang L., Shi Z., Yang X.L., Kuhn J.H. One new genus including one new species in the mononegaviral family Filoviridae // ICTV. 2019. № 2019.011 M. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.17179.11045>

31. Yang X.L., Tan C.W., Anderson D.E. et al. Characterization of filovirus (*Mengla virus*) from *Rousettus bats* in China // Nat. Microbiol. 2019. V. 4. № 3. P. 390–395. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0328-y>

32. Yang X.L., Zhang Y.Z., Jiang R.D. et al. Genetically Diverse Filoviruses in *Rousettus* and *Eonycteris* spp. Bats, China, 2009 and 2015 // Emerg. Infect. Dis. 2017. V. 23. № 3. P. 482–486. <https://doi.org/10.3201/eid2303.161119>

33. Hofmann-Winkler H., Kaup F., Pohlman S. Host cell factors in filovirus entry; novel players, new insights // Viruses. 2012. V. 4. № 12. P. 3336–3362. <https://doi.org/10.3390/v4123336>

34. Miller E.H., Obernosterer G., Raaben M. et al. *Ebola virus* entry requires the host-programmed recognition of an intracellular recognition of an intracellular receptor // EMBO J. 2012. V. 31. № 8. P. 1947–1960. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.53>

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11. Сизикова Татьяна Евгеньевна. Научный сотрудник, канд. биол. наук.

Боярская Наталья Васильевна. Научный сотрудник.

Ковальчук Алексей Валерьевич. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. мед. наук.

Лебедев Виталий Николаевич. Ведущий научный сотрудник, д-р биол. наук, проф.

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ д-р. биол. наук, проф., чл.-корр. РАН.

Контактная информация для всех авторов: 48cnii@mil.ru

Контактное лицо: Борисевич Сергей Владимирович; 48cnii@mil.ru

The New Members of Filoviridae Family: Distribution, Natural Reservoirs, Potential Epidemic Danger

T.E. Sizikova, N.V. Boyarskaya, A.V. Kovalchuk, V.N. Lebedev, S.V. Borisevich

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defence of the Russian Federation, Oktyabrskiy Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation

The purpose of the work is to analyze the distribution, natural reservoirs and potential epidemic hazard of new members of the Filoviridae family – Bombali viruses (genus *Ebolavirus*), Lloviu (genus *Cuevavirus*), Mengla (genus *Dianlovirus*), Xylang (genus *Striavirus*), and Hungjiao (genus *Thamnovirus*). New filoviruses were detected in Africa (Bombali virus), Europe (Llovi virus) and in Southeast Asia (Mengla, Xylang and Hungjiao

viruses). Bats are a natural reservoir for all known filoviruses. This fact is confirmed by the information about the detection of genomic RNA and virus-specific antibodies in them. The isolation of the genomic RNA of filoviruses from bats with the subsequent sequencing and phylogenetic analysis made it possible to identify the Bombali, Lloviu, Mengla, Xylang and Hungjiao viruses as new representatives of the Filoviridae family and to establish their position on the phylogenetic tree of the Filoviridae family. Despite the current lack of information about the isolation of biologically active virus from bats, as well as in spite of lack of established connection between new filoviruses and human diseases, the information that newly identified filoviruses use the same receptors (Neumann-Peak protein) to enter sensitive cells, as the Ebola and Marburg viruses, that are pathogenic for humans, the possible pathogenetic potential of new filoviruses poses a great threat to people living in the territories, inhabited by bats. The possibility of the emergence of new emergent filovirus infections on the territory of Russia necessitates an in-depth study of bats as a natural reservoir of filoviruses in nature.

Keywords: Bombali virus; Xilang virus; Lloviu virus; Mengla virus; Huangjiao virus; filoviruses natural reservoirs; chiroptera; genome sequencing; filoviruses; phylogenetic analysis; phylogenetic tree.

For citation: Sizikova T.E., Boyarskaya N.V., Kovalchuk A.V., Lebedev V.N., Borisevich S.V. The New Members of Filoviridae Family: Distribution, Natural Reservoirs, Potential Epidemic Danger // Journal of NBC Protection Corp. 2019. V. 3. № 4. P. 329-336. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-329-336>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

See P. 334–335

Authors

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defence of the Russian Federation. Oktyabrskiy Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation.

Tatyana Eugenievna Sizikova. Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Natalya Vasilyevna Boyarskaya. Researcher

Alexey Valerievich Kovalchuk. Head of the Scientific Research Department, Candidate of Medical Sciences.

Vitaly Nikolayevich Lebedev. Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences, Professor.

Sergey Vladimirovich Borisevich. Head of the FSBE «48 Central Scientific Research Institute». Doctor of Biological Sciences, Corresponding Member of RAS.

Contact information for all authors: 48cnii@mil.ru

Contact person: Sergey Vladimirovich Borisevich; 48cnii@mil.ru

Вакцинопрофилактика сибирской язвы в Российской Федерации и ее ближайшие перспективы

А.Н. Шевцов, О.В. Коротышев, С.А. Пермяков, И.П. Погорельский

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения
«48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны
Российской Федерации (г. Киров), 610000, Российская Федерация,
г. Киров, Октябрьский проспект, д. 119.

Поступила 09.01.2019 г. Принята к публикации 17.10.2019 г.

Цель работы – показать возможности вакцинопрофилактики сибирской язвы в Российской Федерации и ее ближайшие перспективы. Рассмотрены вакцинные препараты, имеющиеся в арсенале медицинских средств защиты от сибирской язвы в настоящее время в России и за рубежом, история их создания, эффективность применения и основные направления совершенствования вакцинопрофилактики этого заболевания. Показано, что выбранные в 1940–1960-е гг. отечественными учеными направления разработки сибиреязвенных вакцин на основе спор живых бескапсульных штаммов *Bacillus anthracis*, позволили избежать неудач, с которыми столкнулись западные исследователи при разработке вакцин, способных защитить население от природных вспышек сибирской язвы и биологического оружия, использующего в качестве поражающего агента споры возбудителя сибирской язвы. Усилия по разработке вакцин нового поколения направлены, главным образом, на увеличение безопасности вакцин, уменьшение кратности введения и совершенствование технологии производства. Разработанная в СССР комбинированная сибиреязвенная вакцина может использоваться в схеме экстренной профилактики сибирской язвы наряду с антибиотиками. Разработка вакцин на основе иммуногенных антигенов, синтезируемых рекомбинантными продуцентами, в значительной мере решает проблему остаточной вирулентности, реактогенности, повышении стабильности и снижении дозы современных сибиреязвенных вакцин. В ближайшее время необходимо: отработать промышленную технологию получения сибиреязвенных вакцин на основе рекомбинантных штаммов-гиперпродуцентов протективного антигена и включить их в схемы профилактики и лечения сибиреязвенной инфекции; разработать научно-методические подходы и вакцины для массовой ингаляционной и пероральной иммунизации против сибирской язвы; оценить возможность использования новых адъювантов для конструирования сибиреязвенных вакцин, более эффективных и безопасных, чем имеющиеся.

Ключевые слова: антибиотикорезистентный штамм; аппаратурно-технологическая линия; вакцинный препарат; вакцинопрофилактика; живая сибиреязвенная вакцина; иммунитет; комбинированная сибиреязвенная вакцина; массовые методы иммунизации; протективный антиген; сибирская язва; способ введения вакцины; эпидемическая обстановка.

Библиографическое описание: Шевцов А.Н., Коротышев О.В., Пермяков С.А., Погорельский И.П. Вакцинопрофилактика сибирской язвы в Российской Федерации и ее ближайшие перспективы // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 4. С. 337-349. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-337-349>

Сибирская язва – особо опасное инфекционное заболевание людей и животных, известное человечеству более 15 веков. Возможность возникновения вспышки сибирской язвы в России подтвердили события, произошедшие в 2016 г. в Ямало-Ненецком автономном округе Российской Федерации [1]. Для ликвидации ее

последствий потребовались масштабные и дорогостоящие мероприятия, с привлечением специалистов войск РХБ защиты. В рамках проведенных мероприятий химиопрофилактикой было охвачено 946 человек и привито против сибирской язвы более 13 тыс. жителей региона [2].

Современная эпидемическая обстановка по сибирской язве рассматривается отечественными учеными как стабильно неблагополучная. Это объясняется целым рядом причин. Во-первых, сибиреязвенные споры широко распространены в почве и обладают высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды. Только на территории России зарегистрировано 35 тыс. стационарно неблагополучных районов с почвенными очагами и скотомогильниками. Во-вторых, применение *Bacillus anthracis* в качестве средства биотерроризма констатируется как очевидный факт [3]. В-третьих, культурально-морфологическая изменчивость сибиреязвенного микроба затрудняет идентификацию и, соответственно, своевременное и адекватное реагирование на складывающуюся эпидобстановку [4].

В борьбе с сибирской язвой одно из ключевых мест занимает вакцинопрофилактика, история которой насчитывает почти три столетия.

Цель работы – показать возможности вакцинопрофилактики сибирской язвы в Российской Федерации и ее ближайшие перспективы. Для ее достижения мы рассмотрели вакцинные препараты, имеющиеся в арсенале медицинских средств защиты от сибирской язвы в настоящее время в России, краткую историю их создания, эффективность применения и основные направления совершенствования вакцинопрофилактики этого заболевания.

Одними из основных показателей высокой инфекционной эффективности возбудителя сибирской язвы для людей и сельскохозяйственных животных являются относительно короткий инкубационный период и высокая смертность вызываемого им заболевания. При естественных путях заражения инкубационный период в среднем составляет 2–3 сут с колебаниями от нескольких часов до 6–8 сут. Смертность при кожной форме заболевания составляет 10–20 % без лечения и 1 % при интенсивной антибиотикотерапии. Кишечная форма болезни приводит к летальным исходам от 25 до 100 %. В случае запоздалого лечения при легочной форме заболевания летальные исходы у заболевших людей достигают 100 %. Ущерб, наносимый животноводству вспышками сибирской язвы трудно даже оценить [3, 4]. Поэтому сибирская язва была одной из первых инфекций, от которой еще в XIX в. начали с определенным успехом применяться живые вакцины французского бактериолога Луи Пастера (1822–1895), профессора Харьковского университета Л.С. Ценковского (1822–1887), профессора Казанского ветеринарного института И.Н. Ланге (1845–1912) и других ученых. Эффективные, но сохранившие определенную степень вирулентности и поэтому довольно часто вызывавшие сибиреязвенную инфекцию у животных,

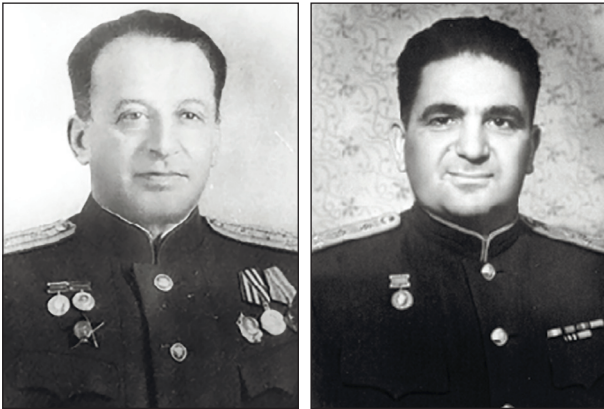
они были совершенно непригодны для вакцинации людей.

Отечественная история вакцинопрофилактики сибирской язвы у людей тесно связана с историей Филиала федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров), далее Филиал. Именно в стенах этого научного учреждения профессором Н.Н. Гинсбургом из вирулентного штамма *Bacillus anthracis* «Красная нива» в мае 1940 г. был выделен бескапсульный мутант, получивший название СТИ-1 (прежнее название Филиала – Санитарно-технический институт Красной армии) [2].

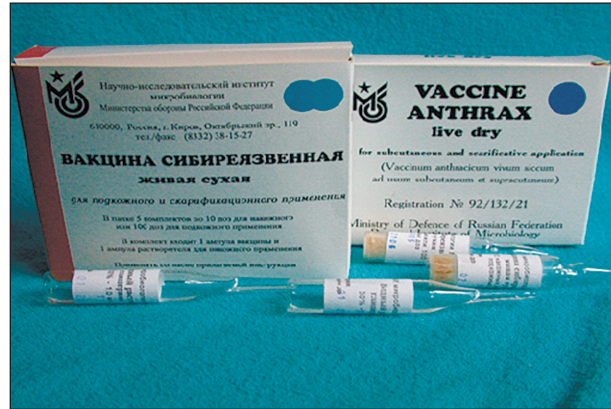
На первом этапе исследований, проводимых под руководством Н.Н. Гинсбурга, на основе штамма СТИ-1 была получена живая сибиреязвенная вакцина для животных и разработана технология ее производства. В конце 1941 г. вакцина СТИ (взвесь спор в 30 % водном растворе глицерина) была представлена в Государственную комиссию для апробации, показавшей ее высокую иммуногенность и безвредность [5]. На втором этапе накопленные экспериментальные материалы и результаты широкой апробации вакцины СТИ в ветеринарной практике позволили перейти к исследованию ее безопасности и эффективности на людях. Первый опыт вакцинации группы добровольцев, показавший достаточную эффективность и безопасность вакцины, был проведен весной 1943 г. В качестве добровольцев выступили сами разработчики вакцины. Во второй половине 1944 г. при подготовке наступательной операции по освобождению Румынии, на территории которой имелось множество очагов сибирской язвы, вакциной СТИ было успешно иммунизировано около 90 тыс. военнослужащих Красной армии [5].

В начале 1950-х гг. производство вакцины СТИ для вакцинации людей было передано в Министерство здравоохранения СССР. С 1953–1954 гг. в Тбилисском научно-исследовательском институте вакцин и сывороток было организовано плановое производство живой сибиреязвенной вакцины для людей, с реализацией разработанной в Филиале (тогда Научно-исследовательский институт эпидемиологии и гигиены Красной армии, НИИЭГ КА) технологии, путем выращивания спор на плотной питательной среде с использованием аппарата А.Ф. Шестеренко [6]. За разработку и внедрение в практику живой сибиреязвенной вакцины СТИ в 1945 г. Н.Н. Гинсбургу и А.Л. Тамарину была присуждена Государственная премия (рисунок 1).

С 50-х гг. XX в. в СССР началась массовая специфическая иммунопрофилактика лиц, в силу особенностей быта или профессиональной деятельности подвергавшихся повышенному



**Рисунок 1 – Лауреаты
Государственной премии 1945 г.
Н.Н. Гинсбург и А.Л. Тамарин**



**Рисунок 2 – Вакцина
сибиреязвенная живая сухая**

риску заражения от животных и продуктов животноводства [4]. Сравнительное изучение многолетней динамики заболеваемости людей и объемов противосибиреязвенной иммунизации показало, что в период с 1955 г. по 1970 г. на фоне 24-кратного увеличения объема иммунизации было достигнуто снижение заболеваемости сибирской язвой в три раза [4]. В СССР только в 1980 г. было привито живой сибиреязвенной вакциной СТИ более 2,5 млн человек [5].

После распада СССР Россия осталась без производства сибиреязвенной вакцины, так как до 1989 г. живую сибиреязвенную вакцину производили только в Тбилисском научно-исследовательском институте вакцин и сывороток [2]. Прекращение производства сибиреязвенной вакцины, а также угроза актов биотерроризма с использованием возбудителя сибирской язвы сделали необходимым принятие решения Правительством Российской Федерации и Министром обороны по созданию производственных мощностей и запасов живой сибиреязвенной вакцины, включенной в «Перечень жизненно необходимых лекарственных препаратов».

Созданная в Филиале (г. Киров) в 1992–1994 гг. экспериментальная аппаратурно-технологическая линия производства единичных партий вакцины не могла удовлетворить потребности страны. Серийное производство сдерживалось рядом объективных причин, к числу которых следовало отнести высокую гетерогенность популяции эталонного и тест-инфицирующих штаммов и истечение сроков их хранения. В связи с этим разработка ресурсосберегающей технологии серийного производства живой сибиреязвенной вакцины, в том числе на основе штаммов нового поколения, считалась весьма актуальной и имела важное народно-хозяйственное и оборонное значение.

В 1992–1995 гг. в Филиале на базе лабораторного корпуса № 1 были созданы производственные мощности по выпуску живой, а в дальнейшем комбинированной сибиреязвенной вакцины и разработаны научно-методические основы технологии их серийного производства. Вакцина сибиреязвенная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения выпускается в ампулах с растворителем (рисунок 2).

Решение этой проблемы позволило в короткие сроки обеспечить Российскую Федерацию собственными средствами вакцинопрофилактики сибирской язвы, что внесло существенный вклад в ее биобезопасность. За первые три года было произведено более 16 млн подкожных доз живой сибиреязвенной вакцины. В настоящее время Филиалом выпускается ежегодно порядка 150–200 тыс. подкожных доз вакцины, в том числе для обеспечения потребностей Росрезерва.

За разработку данной технологии сотрудникам ФГБУ «48 ЦНИИ Минобороны России» и Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича Е.В. Пименову, Н.Т. Васильеву, Т.И. Анисимовой, В.И. Климову, В.В. Кожухову, Н.В. Садовому, А.Н. Шевцову и И.Д. Кравцу постановлением Правительства Российской Федерации от 17.03.1999 г. присуждена Премия Правительства Российской Федерации.

В настоящее время в мире для вакцинопрофилактики сибирской язвы используется три вида вакцин: вакцина сибиреязвенная живая, которая представляет собой лиофилизированную взвесь живых спор вакцинного штамма; вакцина сибиреязвенная комбинированная, состоящая из живых спор сибиреязвенного микроба вакцинного штамма СТИ-1 и сибиреязвенного протективного антигена (ПА); химическая вакцина, со-

данная на основе сорбированного протективного антигена¹ [7].

В Российской Федерации для профилактики сибирской язвы используется в основном живая и реже – комбинированная вакцина [2]. На обе вакцины, кроме промышленного регламента и фармакопейной статьи, главным санитарным врачом были утверждены инструкции по применению².

Среди широко применяющихся за рубежом вакцин наиболее известны сорбированная на геле гидроокиси алюминия американская химическая вакцина AVA (Anthrax Vaccine Absorbed), получена из ПА штамма *B. anthracis* (V 770-NP-1-R); и британская вакцина AVP (Anthrax Vaccine Precipitated), сорбированная на квасцах (ПА из *B. anthracis* штамма Sterne 34 F2) с большим, чем в AVA количеством летального фактора (более 30 %)³ [2, 7]. Американская схема применения вакцины (подкожно на 1, 2, 4 неделе, 6, 12 и 18 месяце) отличается от британской (внутримышечно на 1, 2, 4 неделе, 6 и 12 месяце) способом и сроками иммунизации [4]. Химическая вакцина вызывает высокий иммунный ответ уже на 7–10 сут, однако гуморальная защита быстро угасает. В СССР химическая вакцина впервые была получена Н.И. Александровым (1908–1972) с соавт. в 60-х гг. прошлого века и с тех пор это направление в нашей стране не развивается по вполне понятным причинам. Создание антитоксического иммунитета защищает от клинических проявлений заболевания, однако не исключает развития начальных стадий инфекционного процесса – колонизации *B. anthracis* в области входных ворот и инвазии во внутреннюю среду организма. Кроме того, по мнению некоторых исследователей, массовая вакцинация американских военнослужащих в начале 1990-х гг. химической вакциной на основе ПА, стала причиной развития у них болезни, названной «синдром войны в Персидском заливе». Дискуссия о причинах болезни продолжается до настоящего времени [7]. Наличие такого количества противоречивых данных по эффективности химической вакцины на основе ПА подтверждает правильность выбранного советскими микробиологами еще в 1940-е гг. курса

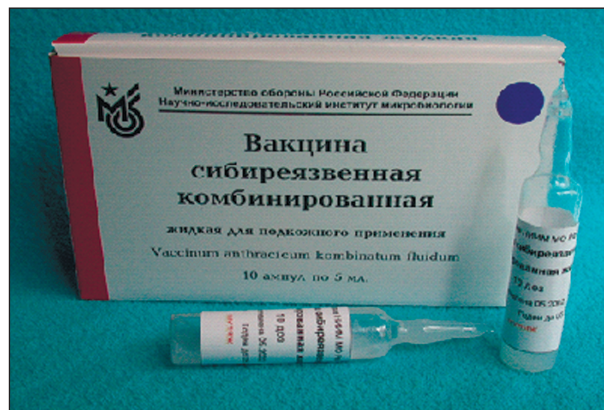


Рисунок 3 – Вакцина сибиреязвенная комбинированная жидкая

на использование живых вакцин на основе бескапсульных штаммов *B. anthracis*.

Существенный вклад в практическую реализацию результатов научных исследований был внесен учеными и специалистами (в то время) Центра военно-технических проблем биологической защиты (г. Екатеринбург) Минобороны России. В 80-е гг. прошлого столетия Центром был разработан уникальный препарат, не имеющий аналогов в мире – вакцина сибиреязвенная комбинированная жидкая⁴ (рисунок 3) [8, 9, 10].

В дальнейшем, в Филиале (г. Киров) была разработана сухая форма этой вакцины, которую запатентовали в 1999 г. (рисунок 4).

Данная вакцина использовалась для разработки новых схем экстренной профилактики и лечения сибиреязвенной инфекции [4].

За разработку и внедрение в медицинскую практику новых средств специфической профилактики, диагностики и лечения сибирской язвы указом Президента Российской Федерации в 2003 г. Государственная премия была присуждена сотрудникам Филиала Е.В. Пименову, И.В. Дармову, Г.В. Комоско и В.В. Кожухову.

Эффективность комбинированной вакцины по сравнению с вакцинами-прототипами была оценена в экспериментах на лабораторных животных при их подкожном заражении спорами вирулентного штамма. Результаты этих исследований показали, что

¹ В западных странах исследования ПА проводились в военных НИИ: United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID) и в U.K. Ministry of Defence's Microbiological Research Establishment.

² Инструкция по применению вакцины сибиреязвенной живой, лиофилизата для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения: утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 04.07.2007. № 01-11/121-2007. Инструкция по применению вакцины сибиреязвенной комбинированной, лиофилизата для приготовления суспензии для подкожного введения: утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 04.07.2007. № 01-11/126-2007.

³ Так же см. Anthrax vaccines to humans. https://www.who.int/vaccine_safety/initiative/tools/Anthrax_Vaccine_rates_information_sheet.pdf (дата обращения: 30.12.2018).

⁴ На разработанную в ФГБУ 48 ЦНИИ МО РФ вакцину выдан патент Российской Федерации № 2115433. Авторы изобретения Садовая Н.В., Кравец И.Д., Селиваненко Г.М., Харченко А.Т., Садовая Е.А., Васильев П.Г., Литусов Н.В., Елагин Г.Д., Супотницкий М.В. (дата приоритета изобретения 28.08.1992; дата публикации 20.07.1998).



Рисунок 4 – Патент на способ получения сухой комбинированной сибирезвеной вакцины



Рисунок 5 – Патенты Российской Федерации на основные технологические стадии производства сибирезвеной вакцин

комбинированная вакцина в равнозначных дозах обеспечивает формирование в 7–28 раз более напряженного иммунитета по сравнению с вакцинами-прототипами (живой и химической). Наибольшей эффективностью обладал препарат комбинированной вакцины, содержащий в своем составе 50 млн живых спор и 35 ИД₅₀ ПА (для белых мышей) [10, 11].

Дальнейшие исследования, результаты которых представлены в таблице 1, показали, что уже на 10 сут после однократной иммунизации комбинированной вакциной защищенными от заражения возбудителем сибирской язвы было 94 % обезьян.

Высокий уровень специфической резистентности, обеспечивающий выживаемость после заражения 85 % обезьян, сохранялся в течение 6 мес., а через год после вакцинации напряженный иммунитет выявлялся у 57 % животных [4].

До внедрения в практику комбинированной вакцины были проведены ее клинические исследования на большом количестве добровольцев [2, 4]. Сопоставляя значения показателей кожных тестов и уровни защищенности против подкожного и аэрогенного заражения вирулентными культурами сибирезвеного микроба, определенные

Таблица 1 – Динамика иммунитета у обезьян, однократно привитых комбинированной вакциной и вакцинами-прототипами [2]

Вакцина	Время заражения после вакцинации, сут	Среднегрупповые показатели кожных тестов иммунитета		Доля выживших животных, процент (n=3, X±I ₉₅)
		Превентивные свойства сывороток, индекс (X±m)	Иммуноферментный анализ, обратный титр (min–max)	
Комбинированная	10	0,32±0,07	1,18 (1,12–1,26)	94
	30	0,74±0,11	3,64 (3,40–3,90)	100
	90	0,39±0,07	1,95 (1,73–2,19)	100
	180	0,21±0,05	1,17 (1,07–1,29)	85
	360	0,11±0,02	0,0–1,0	57
Живая	10	0,19±0,05	0,0–1,0	39
	30	0,29±0,06	1,98 (1,77–2,23)	83
	90	0,16±0,04	1,42 (1,29–1,57)	50
	180	0,12±0,03	0,0–1,0	33
	360	0,0	0,0	8
Адсорбированная химическая	10	0,36±0,06	1,12 (1,08–1,17)	84
	30	0,62±0,10	2,17(1,94–2,42)	100
	90	0,14±0,03	0,0–1,0	25
	180	0,0	0,0	0

на экспериментальных животных, с динамикой клеточных и гуморальных показателей специфической резистентности у людей можно констатировать, что напряженный иммунитет после однократного применения комбинированной сибиреязвенной вакцины наблюдается не менее, чем у 90 % привитых. Стойкий иммунитет формируется к 7–10 сут и сохраняется в течение 6 мес., а через 9–12 мес. определяется примерно у 50–70 % вакцинированных. В то же время, высокий уровень специфической резистентности после применения живой вакцины развивается лишь к 21 сут у 55–65 %, сохраняется до 4 мес. у 30–40 %, до 6 месяцев – у 15–20 % и до 9–12 мес. – лишь у 5–10 % привитых [2]. После аппликации химической адсорбированной вакцины иммунитет формируется к 7–10 сут у 70–80 % и сохраняется до 4 мес. только у 10–15 % вакцинированных [4].

Таким образом, на основании вышеизложенного, наиболее эффективным препаратом для вакцинопрофилактики сибирской язвы не только в Российской Федерации, но и в мире на сегодняшний день является сухая комбинированная вакцина.

Основные этапы технологии получения сибиреязвенных вакцин были запатентованы, что гарантирует Российскую Федерацию от патентной экспансии разработчиков аналогичных вакцин других стран (рисунок 5).

Усилиями ученых Филиала, а также специалистов НИУ департамента Госсанэпиднадзора в 1994 г. аппаратно-технологическая линия (АТЛ) производства сибиреязвенных вакцин была аттестована, вакцина лицензирована и внесена в Государственный реестр медицинских иммунобиологических препаратов. АТЛ включает участки культивирования, концентрирования, получения готовой формы препарата, вспомогательные помещения и оборудование, а также боксы, санпропускники, фильтро-вентиляционные, холодильные установки, проходной автоклав, станцию термической обработки (обезвреживания) стоков, системы подачи дезинфицирующих растворов и контрольно-измерительные приборы в соответствии с требованиями нормативных документов.

Технические и технологические решения, касающиеся защиты персонала и окружающей среды, обеспечивают экологическую чистоту производства. Основное технологическое оборудование серийно выпускается отечественной промышленностью и в полной мере дает возмож-

ность регламентированно вести процесс производства вакцин. Особенностью АТЛ является ее универсальность, что позволяет отнести ее к гибким технологическим линиям.

По нашему мнению, совершенствование вакцинопрофилактики сибирской язвы необходимо осуществлять по трем основным направлениям. Первое – совершенствование самого препарата, второе – совершенствование технологии его приготовления, третье – совершенствование метода введения вакцины в организм. Первое направление предполагает, в основном, увеличение иммуногенности и длительности поствакцинального иммунитета. Второе направление – уменьшение реактогенности, увеличение количества препарата и обеспечение его стандартности, а третье – упрощение процедуры введения вакцины в организм и повышение производительности метода.

В 2001 г. американские исследователи, учитывая угрозу биодиверсий, сформулировали новые требования для существующих сибиреязвенных вакцин: ареактогенность и снижение числа прививок с шести до двух, длительность защиты до одного года, продолжительность хранения, достаточная для накопления резервов. Для вакцин «будущего»: однократное введение, 100 % защита от легочной формы, пероральный или интраназальный способ введения [4, 12–14].

В комплексе мероприятий, направленных на борьбу с сибирской язвой, особенно развивающейся в результате биотеррористического акта, существенная роль принадлежит вакцинопрофилактике в сочетании с химиотерапевтическими средствами. Однако одновременное использование живой вакцины и антибиотиков малоэффективно, так как антибиотики, воздействуя на клетки *B. anthracis*, приводят к их гибели, что снижает формирование напряженного иммунитета. Поэтому для этих целей целесообразно использовать химические вакцины или более иммуногенные живые вакцины на основе антибиотикоустойчивых штаммов. Получением таких притивосибиреязвенных вакцинных препаратов уже более трех десятков лет занимаются в России специалисты Ставропольского НИПЧИ⁵ и Оболенского ГНЦ ПМБ⁶, которым удалось получить антибиотикоустойчивые штаммы возбудителя сибирской язвы [15]. Были показаны перспективы использования и проведены исследования на людях антибиотикоустойчивой вакцины СТИ-ПР, доказавшее ее эффективность на фоне

⁵ Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Ставропольский край, г. Ставрополь.

⁶ Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» входит в состав Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск.

экстренной профилактики рифампицином, ампициллином и доксицилином [16, 17].

На основании данных литературы [2–5, 18–21] можно утверждать, что к настоящему времени за рубежом создан и апробирован применительно к сибиреязвенному микробу обширный арсенал методических подходов, позволяющих получать, в том числе, варианты с широким спектром устойчивости к антибактериальным препаратам.

Специалистами Филиала в конце 1990-х гг. был получен и запатентован антибиотикорезистентный штамм *B. anthracis* СТИ-ПР-4, устойчивый к нескольким антибиотикам. Уровни устойчивости этого штамма обеспечивают возможность его использования на фоне применения антибиотиков с профилактической целью. При этом его остальные биологические свойства практически не отличаются от исходного штамма.

В рамках Федеральной целевой научно-технической программы и тематики научно-исследовательских работ у нас в Филиале на основе штамма СТИ-ПР-4 были получены экспериментальные образцы живой и комбинированной сибиреязвенных вакцин. Результаты оценки иммуногенности этих вакцин на основе штамма СТИ-ПР-4 на фоне антибиотикопрофилактики табельным средством показали, что антибиотик практически не снизил их иммуногенность.

Разработка новых средств иммунопрофилактики сибирской язвы крайне необходима, несмотря на эффективность существующих вакцин. Основная цель этих поисков – увеличение длительности и напряженности иммунитета, повышение уровня продукции протективного антигена, снижение количества и выраженности общих и местных реакций.

В ближайших планах соответствующих ведомств США стоит задача по разработке и внедрению в практику усовершенствованной химической сибиреязвенной вакцины на основе рекомбинантного протективного антигена, которая будет надежно защищать от легочной формы сибирской язвы [4]. Не менее важной является информация о создаваемой американскими учеными вакцине для перорального применения на основе аттенуированного аденовируса, синтезирующего рекомбинантный протективный антиген [2]. Британские ученые из лаборатории Porton Down⁷ продемонстрировали

высокую защитную эффективность рекомбинантного ПА, полученного из штаммов-продуцентов *E. coli* и *B. subtilis* [13]. Рекомбинантные вакцины содержат минимальное количество очищенных протективных антигенов, необходимое для эффективной иммунологической защиты [2]. Специалистами Университета Корнелля заявлено о планах создания пассивной внутриклеточной вакцины, способной доставлять такие антигенные конструкции к Т- и В-клеткам и стимулировать быстрый иммунный ответ [4].

Разрабатываемые сейчас направления по созданию сибиреязвенных вакцин нового поколения в основном связаны с получением рекомбинантных штаммов-гиперпродуцентов протективного антигена и ареактогенных, но высокоиммуногенных вакцин, обеспечивающих формирование более длительного иммунитета [3, 4, 22, 23]. Последние достижения в области молекулярной биологии дали возможность применить для этого новые научно-методические подходы. Например, введение детерминант протективного антигена в персистирующие формы бактерий и беспротеазные штаммы рода *Bacillus*. Кроме этого, успехи адъювантной технологии способствуют получению более эффективных вакцинных препаратов. В 2002 г. за рубежом, проанализировав результаты исследования иммунологической активности ряда вакцин, пришли к заключению о том, что обязательным компонентом этих препаратов должны быть адъюванты, а разработка их нового поколения является важнейшим элементом развития вакцинологии [24]. Применение современных адъювантов в составе вакцин решает задачу оптимального представления антигенов иммунной системе, способствует формированию выраженного иммунного ответа с развитием гуморальных и клеточных иммунных реакций [2].

В более отдаленной перспективе решению задач обеспечения эффективной защиты от абберантных штаммов будут посвящены новые направления исследований, связанные с созданием вакцин на основе конструирования белковых молекул с высокими иммуногенными свойствами [25]. Не менее интенсивно разрабатывается направление, связанное с созданием «идеальных» ареактогенных сибиреязвенных вакцин. Для этой цели исследователи используют нетрадиционные научно-методические подходы, обеспечивающие получение генетически моди-

⁷ Портон-Даун (Porton Down) – военно-научный объект в Великобритании с высоким режимом секретности. В целях сокрытия основной деятельности объекта британские власти представляют его технопарком. Расположен к северо-востоку от небольшого населенного пункта Портон рядом с городом Солсбери в графстве Уилтшир. Во время Второй Мировой войны там проводились исследования по химическому и биологическому оружию. После окончания войны осваивались передовые германские технологии в области синтеза ФОВ, таких как зарин, табун, зоман. В 1952 г. в Портон-Дауне был синтезирован VX. В настоящее время в лаборатории продолжают работы с ФОВ и возбудителями опасных инфекционных болезней, включая возбудители лихорадки Эбола, сибирской язвы и чумы.

фицированных вариантов вакцинных штаммов возбудителя сибирской язвы со структурно измененными тох-детерминантами [26]. Экспериментально показана возможность повышения эффективности живых вакцин за счет вторичной иммунизации ПА и введением препаратов, усиливающих иммунный ответ организма [27–29]. В качестве одного из направлений повышения эффективности сибиреязвенных вакцин можно назвать разработку конъюгированных вакцин, обладающих быстрым иммунным ответом и одновременно терапевтической эффективностью [20, 30–35].

В настоящее время все сибиреязвенные вакцины вводятся людям накожно, подкожно или внутримышечно. Необходимость разработки и внедрения альтернативных методов иммунизации обусловлена стремлением повысить эффективность вакцинации доставкой антигена в сенсорные зоны клеток, исключением болевого стресса, снижением затрат при массовой вакцинации, а также возникающей потребностью вакцинации многочисленных контингентов в ограниченные сроки (эпидемия, биотеррористический акт). Исходя из этого, одним из направлений разработки и совершенствования существующих иммунобиологических средств профилактики сибирской язвы является создание препаратов, пригодных для осуществления эффективной вакцинации малозатратными и высокопроизводительными, т.е. массовыми методами. Наиболее близкими к реализации методами массовой экспрессной иммунизации являются аэрогенный (ингаляционный), пероральный и безыгольный [36–38].

Ингаляционный метод считается наиболее перспективным для экспрессной вакцинации. Он позволяет в кратчайшие сроки и при небольшой затрате труда охватить вакцинацией большие контингенты людей [36, 38]. Вследствие огромной поверхности слизистой дыхательного тракта у человека ($60\text{--}120\text{ м}^2$) и физиологических особенностей этот метод уже давно стали использовать для введения в организм различных медикаментозных средств. За рубежом разработка ингаляционных методов началась с того времени, когда было установлено, что наиболее вероятным и эффективным способом применения биологического оружия является аэрозольный путь [38]. Недостатками аэрозольной вакцинации являются небольшой процент «усвояемости» распыленной вакцины при групповом способе вакцинации, сложность технологии изготовления вакцин, использование наполнителей, стабилизирующих добавок, необходимость применения специ-

ального оборудования и приспособлений для распыления вакцин.

Безыгольный способ, обладая высокой производительностью, имеет такие недостатки как возможность появления точечных кровотечений, выраженные реакции на введение препарата за счет задержки в верхних слоях кожи. Кроме этого, Минздрав России в настоящее время ограничил его использование, из-за передачи ряда «шприцевых инфекций», в частности, при проведении противотуберкулезных прививок⁸.

Перечисленных выше недостатков лишен пероральный способ введения вакцин в организм [36, 38]. Данный способ обладает высокой производительностью (количество вакцинируемых может превышать 1 тыс. человек/ч на одну бригаду вакцинаторов), не предъявляет высоких требований к квалификации лиц, проводящих вакцинацию (возможна вакцинация бригадами без медицинского образования), позволяет проводить вакцинацию в любых условиях. Этот метод вакцинации несмотря на то, что иммунизирующая доза иногда в сотни раз превышает аналогичную при подкожном методе, обладает низкой реактогенностью и слабой аллергенностью, хорошо переносим, его иммунологическая и эпидемиологическая эффективность не уступает другим способам иммунизации. При данном способе вакцинации отсутствует опасность передачи «шприцевых инфекций», так как не происходит повреждения кожных покровов прививаемого [38]. Вышесказанное указывает на то, что иммунизация через пищеварительный тракт является физиологическим способом приобретения специфической устойчивости к инфекционным заболеваниям. Все эти особенности и преимущества перорального метода вакцинации делают актуальными исследования по его внедрению в вакцинопрофилактику сибирской язвы.

Таким образом, можно констатировать, что все широко применяемые сегодня сибиреязвенные вакцины наряду с достоинствами не лишены определенных недостатков. Усилия по разработке вакцин нового поколения направлены, главным образом, на увеличение безопасности, уменьшение кратности введения и совершенствование технологии производства. Комбинированную вакцину в отличие от живой можно и нужно включать в схему экстренной профилактики наряду с антибиотиками. Применение современных адъювантов в составе вакцин способствует формированию более выраженного иммунного ответа. Проблематично создание новых вакцинных штаммов, устойчивых к антимикробным препаратам, так как они не в состоянии охватить довольно быстро изменяющийся

⁸ Приказ Минздрава Российской Федерации от 21.03.2003 г. № 109 (Ред. 29.10.2009 г.) «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации».

спектр используемых средств химиопрофилактики [2]. Разработка препаратов на основе иммуногенных антигенов, синтезируемых рекомбинантными продуцентами, в значительной мере решает проблему остаточной вирулентности, реактогенности, повышении стабильности и снижении дозы вводимой вакцины.

При том, что в деле вакцинопрофилактики сибирской язвы у нас в Российской Федерации сделано немало, но есть научно-технические задачи, которые необходимо решать уже в ближайшее время:

1. Отработать промышленную технологию получения сибирезавенных вакцин на основе ре-

комбинантных штаммов-гиперпродуцентов протективного антигена и включить их в схемы профилактики и лечения сибирезавенной инфекции.

2. Разработать научно-методические подходы и вакцины для массовой ингаляционной иммунизации против сибирской язвы.

3. Изучить возможность применения самого простого и щадящего метода массовой иммунизации против сибирской язвы – пероральной вакцинации.

4. С целью получения более эффективных вакцинных препаратов оценить возможность использования новых адъювантов для конструирования сибирезавенных вакцин.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Павлов Д.Л., Онучина Н.В., Кузнецовский А.В. и др. Результаты исследования биологических свойств сибирезавенных изолятов эпизоотии 2016 года в Ямало-Ненецком автономном округе // Вестник войск РХБ защиты. 2017. Т. 1. № 1. С. 23–32.
2. Микшис Н.И., Попова П.Ю., Семакова А.П., Кутырев В.В. Лицензированные сибирезавенные вакцины и экспериментальные препараты на стадии клинических исследований // Журн. эпидемиол., микробиол., иммунобиологии. 2017. № 4. С. 112–126.
3. Черкасский Б.Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы. М.: «ИНТЕРСЭН». 2002. 384 с.
4. Сибирская язва: актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты / Под ред. Онищенко Г.Г., Дармова В.В., Борисевича С.В. Сергиев Посад. 2018. 591 с.
5. Онищенко Г.Г., Васильев Н.Т., Литусов Н.В. и др. Сибирская язва: актуальные аспекты микробиологии, эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики. М.: ВУНМЦ МЗ РФ, 1999. 448 с.
6. Салтыков Р.А. Вакцинопрофилактика сибирской язвы у людей // Проблемы особо опасных инфекций. 1971. № 1 (17). С. 173–176.
7. Artenstein A.W. Vaccines: a biography. New York. London. 2010.
8. Бургасов П.Н., Рожков Г.И. Сибирская язва. М., 1984.
9. Патент РФ № 2115433 (1998).
10. Садовой Н.В., Садовая Е.А., Саяпина Л.В. и др. Конструирование и изучение иммуногенных свойств комбинированной вакцины против сибирской язвы // Актуальные проблемы биологической защиты войск и населения. Диагностика, лечение и профилактика

опасных инфекционных заболеваний. Эпидемиология и эпизоотология. Микробиология. Биотехнология. Экология: матер. Всерос. науч.-практич. конф. посв. 60-летию филиала ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России – ЦВТП БЗ». Екатеринбург. 2009. С. 121–122.

11. Сероглазов В.В., Кожухов В.В., Кравец И.Д. и др. Сравнительная оценка эффективности комбинированной сибирезавенной вакцины на лабораторных и сельскохозяйственных животных // Иммунология и специфическая профилактика ООИ: матер. Российск. науч. конф. (21–23 сентября 1993 г.). Саратов. 1993. С. 195.

12. Bailie L. Anthrax vaccine development work at CBD Porton Down // 4th International Conference on Anthrax, 10–13 June, 2001, Annapolis, Maryland, USA, 2001.

13. Bailie L. Flick-Smith H.C., Eyles J.E. et al. Immunization with microencapsulated PA // 4th International Conference on Anthrax, 10–3 June, 2001, Annapolis, Maryland, USA, 2001.

14. Williamson E.D., Hodgson I., Walker N.J. et al. Immunogenicity of recombinant protective antigen and efficacy against aerosol challenge with anthrax // Infect. Immun. 2005. V. 73, № 9. P. 5978–5987.

15. Патент РФ № 263502 (1987).

16. Буравцева Н.П., Коготкова О.И., Цыганкова О.И. и др. Комиссионные испытания сибирезавенных вакцин на людях // Диагностика, лечение и профилактика опасных и особо опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология: Матер. Всероссийск. науч. конф., посвящ. 80-летию со дня основания ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России». Киров. 2008. Вып. 1. С. 53–58.

17. Буравцева Н.П., Еременко Е.И., Аксенова Л.Ю. Перспективы использования сибирезавенной вакцины СТИ-ПР // Актуальные проблемы эпидемиологи-

ческой безопасности: Мат. Юбил. науч. практ. конф., посвящ. 50-летию Ставропольского научно-исследовательского противочумного института. (15–16 октября 2002 г.). Ставрополь. 2002. С. 52–53.

18. Jackson P.J., Hill K.K., Laker M.T., Tickn L.O. Comparison of *B. anthracis* an fragment length polymorphism and polymerase chain in PCR // J. Appl. Microbiol. 1997. V. 87. P. 263–269.

19. Kenney R.T., Yu J., Guebre-Xabier M. et al. Induction of protective immunity against lethal anthrax challenge with a patch // J. Infect. Dis. 2004. V. 190. P. 774–782.

20. Кокушкин А.М., Величко Л.Н., Князева Т.В. и др. Изучение роли собственных плазмид и признака пигментосорбции в способности бактерий чумы инфицировать блох и вызывать у них блокообразование // Природно-очаговые инфекции и их профилактика. Саратов, 1991. С. 110–118.

21. Супотницкий М.В. Биологическая война. Введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов. М.: «Кафедра, «Русская панорама», 2013. 1136 с.

22. Xie H., Gursel I., Ivins B.E. et al. GPG Oligodeoxynucleotides absorbed on to polylactide-co-glycolide microparticles improve the licensed anthrax vaccine // Infect. Immun. 2003. V. 73, № 2. P. 828–833.

23. Riviere G., Choumet V., Salion S. et al. Absorption and elimination of viper venoms after antivenom administration // Pharmacol. Exp. Ther. 1998. V. 285. P. 490–495.

24. Jordan Report 20th Anniversary. Accelerated development of vaccines / Ed. Hilleman J. Washington, 2002.

25. Воробьев А.А., Семенов Б.Ф., Егорова Н.Б. Ожидаемые перспективы вакцинологии до 2020 г. // Фундаментальные направления молекулярной медицины. СПб., 2005. С. 328–392.

26. Семенов Б.Ф., Зверев В.В., Хаитов Р.М. Вакцинопрофилактика в XXI веке: настоящее и будущее // Иммунология. 2009. № 6. С. 324–335.

27. Коготкова О.П., Аксенова Л.Ю., Буравцева Н.П. и др. Сочетанное применение в эксперименте сибиреязвенной вакцины СТИ-ПР с липидом. Медицинская микробиология – XXI век // Мат. Всероссийск. науч.-практической конф. (28–30 сентября 2004 г.). Саратов. 2004. С. 119–120.

28. Коготкова О.П., Буравцева Н.П. Повышение эффективности неспецифической и специфической защиты при сибиреязвенной инфекции с помощью иммуномодуляторов. // Мат. Юбил. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию образования Противочумной службы России. (16–18 сентября 1997) г. Саратов. 1997. Т. 1. С. 220.

29. Пименов Е.В., Дармов И.В., Васильев Н.Т. и др. Состояние вопроса и перспективы разработки вакцин против сибирской язвы // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2002. № 5. С. 42–46.

30. Патент США № 441711 (1974).

31. Alinger B.A., Roehrl M.H., Mekalonos J.J. et al. Combining anthrax vaccine and therapy a dominant-negative inhibitor of anthrax toxin is also a potent and safe immunogen for vaccines // Infect. Immun. 2005. V. 73, № 6. P. 3408–3414.

32. Bever W. Vaccination strategies for anthrax prevention // Ber. Münch. Tierärztl. Wschr. 2004. V. 11, № 2. P. 237–244.

33. Scobie H.M., Wigelsworth D.J., Marlett J.M. et al. Anthrax toxin receptor 2-de-terminants of Lethal toxin killing in vivo // Plos Pathogens. 2006. V. 2. Issue 10. e111. URL: <http://www.plospatho-gens.org>.

34. Kasuva K., Bover J.L. Passive immunization for anthrax toxin mediated by an adenovirus expressing an antiprotective antigen single chain antibody // Molec. Ther. 2005. V. 11, № 2. P. 237–244.

35. Miksata J.A., Sullivan V.J., Dean C. et al. Protective immunization against inhalation anthrax: a comparison of minimally invasive delivery platforms // J. Infect. Dis. 2005. V. 191. P. 278–288.

36. Воробьев А.А. Физиологические пути введения антигенов и других биологически активных веществ в организм // Иммунология. 1996. № 5. С. 4–8.

37. Локтев Н.А. О механизмах формирования резистентности к чуме, туляремии, и сибирской язвы при ассоциированной безыгольной вакцинации // Актуальные вопросы профилактики опасных инфекционных заболеваний. Киров, 1991. С. 144–145.

38. Воробьев А.А., Лебединский В.А. Массовые способы иммунизации. М.: Медицина, 1977. 256 с.

Об авторах

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров), 610000, Российская Федерация, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 119.

Шевцов Александр Николаевич. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, д-р биол. наук, проф.

Коротышев Олег Васильевич. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.

Пермяков Сергей Александрович. Младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Погорельский Иван Петрович. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, д-р мед. наук, проф.

Контактная информация для всех авторов: 23527@mil.ru
Контактное лицо: Шевцов Александр Николаевич; 23527@mil.ru

Vaccinal Prevention of Anthrax in the Russian Federation and Its Immediate Prospects

A.N. Shevtsov, O.V. Korotyshev, S.A. Permyakov, I.P. Pogorelsky

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation

The purpose of the work is to show the possibilities of vaccine prophylaxis of anthrax in the Russian Federation and its immediate prospects. The article is dedicated to the vaccine preparations, available in Russia and abroad in the arsenal of medical remedies at present, to the history of their creation, to the effectiveness of their use and to the main directions of the improving of the vaccine prevention. The efforts to develop a new generation of vaccines are aimed mainly at the increasing of the safety of vaccines, reducing the frequency of their administration and improving their production technologies. The combined anthrax vaccine developed in the USSR can be used in the emergency prophylaxis of anthrax along with antibiotics. The development of vaccines based on immunogenic antigens synthesized by recombinant producers solves the problem of residual virulence and reactogenicity, as well as the problem of increasing stability and reduction of doses of modern anthrax vaccines. In the nearest future it is necessary: to develop an industrial technology of the production of anthrax vaccines based on recombinant strains – hyperproducers of protective antigen and include them in the prophylaxis and treatment regimens of anthrax infection; to develop scientific and methodological approaches and vaccines for mass immunization against anthrax; to evaluate the possibility of using new adjuvants for the construction of anthrax vaccines, more effective and safer than the existing ones.

Keywords: antibiotic-resistant strain; technological line; vaccinal preparation; vaccinal prevention; live anthrax vaccine; immunity; multivalent anthrax vaccine; mass immunization methods; protective antigen; *Bacillus anthracis*; vaccine application procedure; epidemic situation.

For citation: Shevtsov A.N., Korotyshev O.V., Permyakov S.A., Pogorelsky I.P. Vaccinal Prevention of Anthrax in the Russian Federation and Its Immediate Prospects // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 3. № 4. P. 337-349. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-337-349>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Pavlov D.L., Onuchina N.V., Kuznetsovskiy A.V. et al. Results of study of the biological properties of anthrax isolates of the 2016 epizootic episode in the Yamalo-Nenets Autonomous District // Journal of NBC protection corps. 2017. V. 1. № 1. P. 23–32 (in Russian).
2. Mikshis N.I., Popova P.Yu., Semakova A.P., Kuttyrev V.V. Licensed Anthrax Vaccines and Experimental Preparations at the Stage of Clinical Trials // Journal of Microbiology, epidemiology, immunobiology. 2017. № 4. P. 112–126 (in Russian).
3. Cherkassky B.L. Epidemiology and prevention of anthrax. M.: «INTERSEN», 2002. 382 p (in Russian).
4. Anthrax: actual problems of elaboration and introduction in practice of medical defense means // Eds. Onishchenko G.G., Darmov V.V., Borisevich S.V. Sergiev Posad. 2018. 591 p. (in Russian).
5. Onishchenko G.G., Vasilyev N.T., Litsov N.V. Anthrax: actual aspects of microbiology, epidemiology, clinical picture, diagnosis, treatment and prevention. M.: VUNMTS Ministry of Health of Russian Federation, 1999.

448 p (in Russian).

6. Saltykov R.A. Vaccinal prophylaxis of anthrax in humans // Problems of especially dangerous infections. 1971. V. 1(17). P. 173–176 (in Russian).

7. Artenstein A.W. Vaccines: a biography. New York. London. 2010.

8. Burgasov P.N., Rozhkov G.I. Anthrax. Moscow; 1984 (in Russian).

9. Patent RF № 2115433 (1998) (in Russian).

10. Sadovoy N.V., Sadovaya E.A., Sayapina L.V., et al. Designing and studying the immunogenic properties of a combined anthrax vaccine // Actual problems of biological protection of troops and the population. Diagnosis, treatment and prevention of dangerous infectious diseases. Epidemiology and epizootology. Microbiology. Biotechnology. Ecology: mater. All-Russia. Scientific practical conf. dedicated The 60th anniversary of the branch of the FSI «48 Central Research Institute of the Ministry of Defense of Russia TsVTP BZ». Yekaterinburg. 2009. P. 121–122 (in Russian).

11. Seroglazov V.V., Kozhukhov V.V., Kravets I.D., et al. Comparative evaluation of the effectiveness of the combined anthrax vaccine in laboratory and farm animals // Immunology and specific prevention of the PED. mater. Russian scientific conf. (September 21–23, 1993). Saratov. 1993. P. 195 (in Russian).

12. Bailie L. Anthrax vaccine development work at CBD Porton Down // 4th International Conference on Anthrax, 10–13 June, 2001, Anapolis, Maryland, USA, 2001.

13. Bailie L. Flick-Smith H.C., Eyles J.E. et al. Immunization with microencapsulated PA // 4th International Conference on Anthrax, 10–13 June, 2001, Anapolis, Maryland, USA, 2001.

14. Willamson E.D., Hodgson I., Walker N.J. et al. Immunogenicity of recombinant protective antigen and efficacy against aerosol challenge with anthrax // Infect. Immun. 2005. V. 73, № 9. P. 5978–5987.

15. Patent RF № 263502 (1987) (in Russian).

16. Buravtseva N.P., Kogotkova O.P., Tsygankova O.I. et al. Commissioning testing of anthrax vaccines in humans // Diagnostics, treatment and prevention of the dangerous and especially dangerous infectious diseases. Biotechnology: mater. All-Russia scientific practical conf. dedicated The 80th anniversary of the founding of the branch of the FSI «48 Central Research Institute of the Ministry of Defense of Russia». Kirov. 2008. P. 53–58 (in Russian).

17. Buravtseva N.P., Eremenko E.L., Aksenova L. Yu. Prospects for the use of anthrax vaccine STI-PR // Actual problems of epidemiology safety: mater. anniversary scientific practical conf. dedicated The 50th anniversary of the Stavropol Research Anti-Plague Institute (October 1516, 2002). Stavropol. 2002. P. 52–53 (in Russian).

18. Jackson P.J., Hill K.K., Laker M.T., Tickn L.O. Comparison of B.anthraxis an fragment length polymorphism and polymerase chain in PCR // J. Appl. Microbiol. 1997. V. 87. P. 263–269.

19. Kenney R.T., Yu J., Guebre-Xabier M. et al. Induction

of Protective Immunity against Lethal Anthrax Challenge with a Patch // J. Infect. Dis. 2004. V. 190. P. 774–782.

20. Kokushkin A.M., Velichko L.N., Knyazeva T.V. et al. Studying the role of one's own plasmids and the sign of pigment sorption in the ability of plague bacteria to infect fleas and cause block formation in them // Natural focal infections and their prevention. Saratov. 1991. P. 110–118 (in Russian).

21. Supotnitsky M.V. Biological war. Introduction to the epidemiology of artificial epidemic process. M.: «The Department», Russian Panorama», 2013. 1136 p. (in Russian).

22. Xic H., Gursel I., Ivins B.E et al. GPG Oligodeoxynucleotides absorbed on to polylactide-coglycolide microparticles improve the licensed anthrax vaccine// Infect and Immun. 2003. V. 73. № 2. P. 828–833.

23. Riviere G., Choumet V., Salion S. et al. Absorption and elimination of viper venoms after antivenom administration // Pharmacol. exp. Ther. 1998. V. 285. P. 490–495.

24. Jordan Report 20th Anniversary. Accelerated Development of Vaccines. Ed. Hilleman J. Washington, 2002.

25. Vorobyev A.A., Semenov B.F., Egorova N.B. The expected prospects of vaccinology until 2020 // Fundamental directions of molecular medicine. Spb., 2005. P. 328–392 (in Russian).

26. Semenov B.F., Zverev V.V., Khaitov R.M. Vaccine prophylaxis in the 21st century: present and future // Immunology. №6. 2009. P. 324–335 (in Russian).

27. Kogotkova O.P., Aksenova L.Yu., Buravtseva N.P. et al. Combined use in the experiment anthrax vaccine STIPR with licopidum. Medical Microbiokogy – XXI century // mat. All-Russia. scientific practical. conf. (September 2830, 2004). Saratov. 2004. P. 119–120 (in Russian).

28. Kogotkova O.P., Buravtseva N.P. Improving the effectiveness of non-specific and specific protection for anthrax infection with immunomodulators // Mat. anniversary scientific practical conf. dedicated The 100th anniversary of the formation Anti-Plague Service of Russia (September 16–18, 1997). Saratov. 1997. V. 1. P. 220 (in Russian).

29. Pimenov E.V., Darmov I.V., Vasilyev I.T. et al. The state of the issue and prospects for the development of vaccines against anthrax // Epidemiology and vaccination. 2002. № 5. P. 42–46 (in Russian).

30. US Patent № 441711 (1974).

31. Alinger B.A., Roehrl M.H., Mekalonos J.J et al. Combining anthrax vaccine and therapy a dominantNegative Inhibitor of anthrax toxin is also a potent and safe immunogen for vaccines // Infect. Immun. 2005. V. 73. № 6. P. 3408–3414.

32. Bever W. Vaccination strategies for anthrax prevention // Ber. Münch. Tierärztl. Wschr. 2004. V. 11. № 2. P. 237–244.

33. Scobie H.M., Wigelsworth D.J., Marlett J.M et al. Anthrax toxin receptor 2-de-terminants of Lethal toxin killing in vivo // PloS Pathogens. 2006. V. 2. Issue 10. e111.

<http://www.plospatho-gens.org>.

34. Kasuva K., Bover J.L. Passive immunization for anthrax toxin mediated by an adenovirus expressing an antiprotective antigen single chain antibody // *Molec. Ther.* 2005. V. 11. № 2. P. 237–244.

35. Moksata J.A., Sullivan V.J., Dean C. et al. Protective immunization against inhalation anthrax: a comparison of minimally invasive delivery platforms // *J. Infect. Dis.* 2005. V. 191. P. 278–288.

36. Vorobyev A.A. Physiological routes of

administration of antigens and other biologically active substances into the body // *Immunology*. 1996. № 5. P. 4–8 (in Russian).

37. Loktev N.A. On the mechanisms of formation of resistance to plague, tularemia and anthrax with associated needleless vaccination. Actual issues of prevention of dangerous infectious diseases. Kirov. 1991. P. 144–145 (in Russian).

38. Vorobyev A.A., Lebedinsky V.A. Mass ways of immunization. M.: «Medicine». 1977. 256 p. (in Russian).

Authors

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of Ministry of Defense of Russian Federation (Kirov), Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation.

Shevtsov Aleksandr Nikolaevich. Leading Researcher, Doctor of Biological Sciences, Professor.

Korotishov Oleg Vasilyevich. Начальник научно-исследовательского отдела, Candidate of Biological Sciences.

Permyakov Sergey Aleksandrovich. Junior Researcher.

Pogorelskii Ivan Petrovich. Leading Researcher, Doctor of Medical Sciences, Professor.

Contact information for all authors: 23527@mil.ru

Contact person: Shevtsov Aleksandr Nikolaevich; 23527@mil.ru

Иммунотропные и иммуногенные свойства неспецифических поринов иерсиний

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

УДК 579.842.23:577.112'314.6

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-350-372>О.Д. Новикова¹, О.Ю. Портнягина¹, О.П. Вострикова¹, В.А. Иванис²

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (ТИБОХ ДВО РАН), Проспект 100 лет Владивостоку, д. 159, г. Владивосток, 690022, Российская федерация

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России), Проспект Острякова, д. 2, г. Владивосток, 690002, Российская Федерация

Поступила 01.10.2019. Принята к публикации 17.10.2019 г.

Цель исследования – обобщение собственных данных и данных литературы по значению неспецифических порообразующих белков наружной мембраны (поринов) иерсиний как факторов патогенности, диагностических и протективных антигенов, и их роли в патологических процессах, считающихся неинфекционными. В последние десятилетия прошлого века значительно увеличилась эпидемическая значимость кишечных иерсиниозов, вызываемых бактериями *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica* из рода *Yersinia*, являющихся по генетическим, культурально-биохимическим и другим свойствам «двойниками» возбудителя чумы (*Yersinia pestis*). Установлено, что острые иерсиниозные инфекции без эффективного лечения могут переходить во вторично-очаговые формы, приводящие к развитию системных заболеваний, ранее инфекционными не считавшимися (например, болезнь Грейвса). Для них характерны полиорганность поражений, нарушения функции сердечно-сосудистой и нервной систем, опорно-двигательного аппарата, мочевыделительной системы и желудочно-кишечного тракта, что является следствием аутоиммунных процессов, основанных на способности иерсиний к молекулярной мимикрии. В работе так же показано, что порины – это созданные природой наномеханизмы, играющие ключевую роль в развитии инфекционного процесса. Их можно рассматривать как факторы патогенности рода *Yersinia* и других грамотрицательных бактерий. Они обеспечивают адгезию, инвазию и колонизацию бактериями клеток организма-хозяина. Порины влияют на ряд функций эукариотических клеток, включая экспрессию цитокинов, активацию рецепторов, индукцию апоптоза и регуляцию деятельности актинового цитоскелета. Установлено, что порообразующие белки являются видоспецифическими протективными антигенами грамотрицательных бактерий, индуцирующие иммунный ответ, защищающий от ингаляционного заражения, что позволяет их рекомендовать в качестве компонентов химических и генно-инженерных вакцин. Порины перспективны для разработки ИФА тест-систем для диагностики псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, а также иммунопатологий, обусловленных иерсиниями. Учитывая высокую степень подобия первичных структур поринов иерсиний, можно предполагать, что протективные препараты, созданные на их основе, будут защищать одновременно от инфекций, вызываемых возбудителями кишечного иерсиниоза, псевдотуберкулеза и чумы.

Ключевые слова: болезнь Грейвса; диагностический антиген; иммунотропные свойства; кишечный иерсиниоз; молекулярная мимикрия; наномеханизмы; порины иерсиний; протективный антиген; псевдотуберкулез; рекомбинантные порины; тиреотоксикоз; химическая вакцина; чума.

Библиографическое описание: Новикова О.Д., Портнягина О.Ю., Вострикова О.П., Иванис В.А. Иммунотропные и иммуногенные свойства неспецифических поринов иерсиний // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 4. С. 350-378. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-350-372>

Успехи, достигнутые в глобальной борьбе с инфекционными болезнями, не уменьшили их значимость в общей патологии населения [1–3]. В структуре причин смертности в мире они по-прежнему занимают 3-е место, уступая лишь болезням органов кровообращения и онкологическим заболеваниям [4]. Экономический ущерб, наносимый инфекционными болезнями Российской Федерации, составляет свыше 18 млрд. рублей в год, что наряду с риском возникновения чрезвычайных ситуаций вследствие стихийных бедствий и техногенных катастроф, а также актов биологической агрессии угрожает безопасности России.

По данным Федерального центра Госсанэпиднадзора в Российской Федерации в 1991–1996 гг. ежегодно регистрировалось около 1 млн заболеваний кишечными инфекциями [5]. Возрастающая актуальность проблемы особо опасных инфекционных болезней в современных условиях обусловлена и неуклонной тенденцией появления новых и возвращения старых нозологических форм [6]. Так, к концу двадцатого столетия в стране по не совсем понятным причинам в два раза возросла заболеваемость острыми кишечными диарейными инфекциями нехарактерной этиологии [7]. Среди последних значимую роль играют кишечные иерсиниозы, вызванные бактериями рода *Yersinia* (*Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*), по генетическим, культурально-биохимическим и другим свойствам являющимися «двойниками» возбудителя чумы (*Yersinia pestis*). Кроме того, все больше появляется фактов, говорящих о том, что в основе тех болезней, которые мы привыкли считать соматическими, лежит хронический инфекционный процесс [8].

Цель исследования – обобщение собственных данных и данных литературы по значению порообразующих белков наружной мембраны иерсиний как факторов их патогенности и как диагностических и протективных антигенов, и их роли в патологических процессах, считающихся неинфекционными.

Иерсиниозы и особенности их патогенеза. Дальневосточный регион занимает одно из первых мест в Российской Федерации (РФ) по наличию стойких природных очагов особо опасных инфекций [9]. При этом возбудители псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза имеют особую эпидемиологическую значимость на территории Приморского края [10].

В соответствии с Международной классификацией болезней (МКБ-10) иерсиниозы регистрируются как 1) энтерит, вызываемый *Y. enterocolitica* (A04.6), и 2) экстраинтестинальный иерсиниоз, или псевдотуберкулез (A28.2), вызываемый *Y. pseudotuberculosis* (рисунок 1).

В естественных экосистемах резервуаром иерсиний является почва и почвенные простейшие. Иерсинии устойчивы к действию низких температур, и не только длительно сохраняют жизнеспособность при отрицательных температурах, но и усиливают свой патогенетический потенциал. Резервуаром иерсиний, из которого заражаются люди, являются грызуны (мыши и крысы), дикие и домашние животные (свиньи, зайцы и кролики, морские свинки, кошки и собаки) [11].

Возбудитель псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*) открыт в 1883 г. французскими бактериологами Р. Малассе (R. Malassez) и В. Виньялем (W. Vignal). Его так и называли – бацилла Малассе-Виньяля

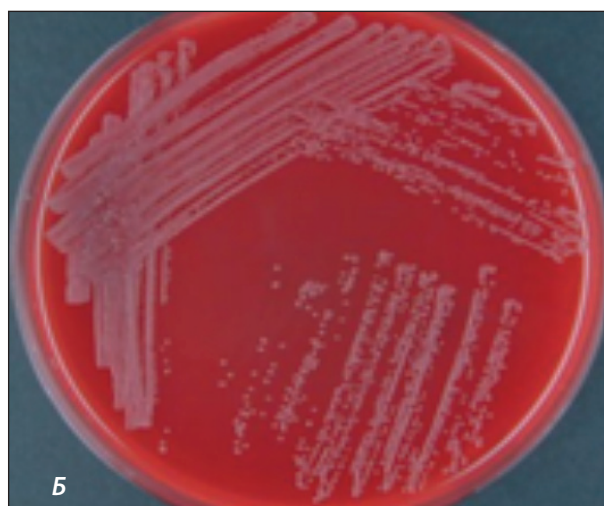


Рисунок 1 – Бактерии *Y. pseudotuberculosis*

(А – электронная фотография (фотография с ресурса <https://www.pnas.org/content/108/4.cover-expansion>; дата обращения: 10.08.2019); Б – колонии *Y. pseudotuberculosis* (фотография с ресурса <https://alchetron.com/Yersinia-pseudotuberculosis>; дата обращения: 10.08.2019)

(фр. Le bacille de Malassez et Vignal). Возбудитель кишечного иерсиниоза (*Y. enterocolitica*) открыт в 1939 г. Д. Шляйфстейном (D. Schleistein) и М. Колеманом (M. Coleman). Своё родовое название бактерии получили в честь швейцарского бактериолога А. Иерсена (A. Yersin), открывшего возбудителя чумы (1894). Все упомянутые бактерии вошли в состав рода *Yersinia* семейства *Enterobacteriaceae* постановлением Международного комитета по систематике бактерий (1972). Первые случаи псевдотуберкулёза у человека в виде абсцедирующих мезаденитов¹ описали В. Массхоф (W. Masshof) и В. Кнапп (W. Knapp) (1953). В 1959 г. на Дальнем Востоке СССР наблюдали эпидемию псевдотуберкулёза, получившего в то время название дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки. Позднее, в 1955 г. В.А. Знаменский и А.К. Вишняков из фекалий больных дальневосточной скарлатиноподобной лихорадкой выделили палочки псевдотуберкулёза (1965). Этиологическую роль возбудителя в возникновении дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки доказал В.А. Знаменский в опыте по самозаражению. Первые заболевания людей, вызванные *Y. enterocolitica*, зарегистрированы в 1962–1963 гг. во Франции, Бельгии, а также Швеции и других скандинавских странах.

До середины XX в. на Дальнем Востоке псевдотуберкулез регистрировался относительно редко, чего не скажешь о вспышках чумы. В дальнейшем на Дальнем Востоке стали возникать крупные эпидемические вспышки «дальневосточной скарлатиноподобной лихорадкой» [12], но чума утратила свою эпидемическую значимость. В настоящее время на Дальнем Востоке псевдотуберкулез повсеместно наблюдается в виде спорадических случаев и ограниченных эпидемических вспышек.

Иерсиниозы отличаются от других острых кишечных инфекций полиморфизмом проявления клинических признаков, поэтому их достоверная клиническая диагностика сложна. Бактериологический посев различных биологических материалов считается «золотым стандартом» микробиологической диагностики, однако энтеропатогенные иерсинии сложно отличить от других кишечных микроорганизмов по культурально-морфологическим и биохимическим признакам. Проблема усугубляется и недостаточной специфичностью коммерческих тест-систем, доступных в настоящее время практическому здравоохранению, что затрудняет верификацию забо-

левания и, как следствие, своевременное и эффективное проведение лечебных мероприятий [13].

В настоящее время острые кишечные инфекции, вызываемые патогенными для человека иерсиниями (*Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*) вышли за рамки инфекционной патологии и стали терапевтической проблемой [14]. Это связано с развитием так называемых вторично-очаговых форм этих заболеваний, которые не являются самостоятельными, а могут стать следствием любой из описанных форм иерсиниозов (рисунок 2).

Вторично-очаговые формы иерсиниозов проявляются у людей рецидивирующими и хроническими формами течения болезни и часто сопровождаются развитием системных заболеваний. Последние отличаются полиорганностью поражений и сопровождаются нарушениями функции сердечно-сосудистой и нервной систем, опорно-двигательного аппарата, мочевыделительной системы и желудочно-кишечного тракта [15]. Системные патологические процессы, развивающиеся после иерсиниозной инфекции, рассматриваются как аутоиммунные, поскольку в основе их лежит способность иерсиний к молекулярной мимикрии [16]. Решающую роль в определении характера течения и исходов иерсиниозов играют нарушения специфической и неспецифической защиты макроорганизма. Характерными признаками дезорганизации иммунных процессов при псевдотуберкулезе являются: нарушения клеточного, гуморального и цитокинового звеньев иммунитета [17–19].

Иммуногенез вторичных иммунодефицитов, обусловленных иерсиниями, до сих пор плохо изучен. Методы достоверной диагностики вторично-очаговых форм иерсиниозов в настоящее время отсутствуют, соответственно больному не может быть назначена этиотропная терапия. В этой связи ранняя верификация вторичных иммунодефицитов, причиной развития которых является иерсиниоз/псевдотуберкулез, на основании результатов клинико-лабораторного и иммунологического обследований, а также анализ данных анамнеза текущего заболевания приобретают особую значимость.

Структура и свойства неспецифических поринов наружной мембраны грамотрицательных бактерий. Основными (general) белками наружной мембраны (НМ) грамотрицательных бактерий и вторыми по значимости после липополисахарида (ЛПС) антигенами, определяющими иммунный ответ хозяина на эти бактерии, являются неспецифические (nonspecific)

¹ Мезаденит (лимфаденит мезентериальный) – воспаление лимфоузлов, расположенных в складке брюшины, основной функцией которой является подвешивание и прикрепление тонкого кишечника к задней стенке живота.

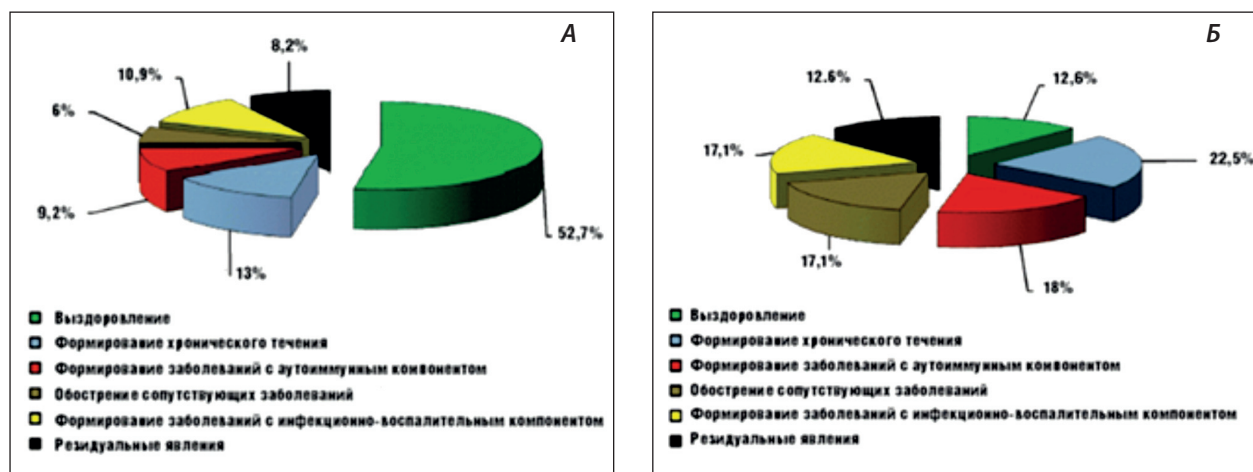


Рисунок 2 – Отдаленные исходы смешанной (А) и вторично-очаговой (Б) форм псевдотуберкулезной инфекции (изображение с ресурса <https://www.lvrach.ru/2009/11/11184197/>; дата обращения: 10.08.2019)

порообразующие белки². Каналы, образованные поринами, обеспечивают обмен низкомолекулярными гидрофильными веществами между бактериальной клеткой и окружающей средой.

Структурным элементом поринов является эллипсообразный в сечении β -складчатый цилиндр (баррель), состоящий из антипараллельных β -тяжей (или стрэндов), соединенных так называемыми петлями, участками полипептидной цепи белка с неупорядоченной и/или α -спиральной структурой. В нативной мембране неспецифические порины существуют в виде тримеров, в стабилизации пространственной структуры которых помимо гидрофобных взаимодействий существенную роль играют водородные и ионные связи. Этим объясняется необычайная устойчивость этих белков по отношению к протеазам, повышенной температуре и другим денатурирующим факторам. Водонаполненные каналы, образуемые поринами, образуют трансмембранную систему, проницаемую для гидрофильных молекул с молекулярной массой не более 600 дальтон (Да). И это не статические постоянно открытые каналы, а более сложные комплексы с динамическим поведением, состояние которых напрямую зависит от условий окружающей среды. Таким образом, порины выполняют в клетке основополагающую функцию, обеспечивающую жизнедеятельность бактерий [20].

С другой стороны, благодаря тому, что неупорядоченные (или α -спирализованные) элементы структуры поринов, соединяющие β -тяжи, выходят на поверхность бактериальной клетки, они играют заметную роль в развитии инфекционного процесса. В этом качестве они

выступают как эффекторы патогенеза, подавляя отдельные стадии иммунной защиты хозяина и обеспечивая выживание патогенного микроорганизма в его организме. В то же время, порины представляют собой молекулы-мишени для системы врожденного иммунитета хозяина. Они активируют факторы немедленной защиты макроорганизма и включаются в формирование специфического иммунного ответа [21].

На сегодняшний день не существует единого мнения о том, какой тип антигенных (АГ) детерминант, характерных для белковых молекул, наиболее часто встречается у порообразующих белков. Тем не менее, существование у поринов двух типов АГ детерминант подтверждается в экспериментах многих исследователей: *линейных*, обусловленных аминокислотной (АК) последовательностью белка, и *конформационных* (прерывистых, или составных), формирующихся на более высоких уровнях структурной организации белковой молекулы. Некоторые авторы считают, что большая часть АГ детерминант поринов является «прерывистыми» и приходится преимущественно на участки наружных петель. Основные различия, возникшие в аминокислотной последовательности поринов в результате эволюции, локализованы преимущественно во внешних петлях [22].

Поэтому, идентификация поверхностных и трансмембранных АГ эпитопов поринов чрезвычайно важна. В зависимости от того, каким участкам аминокислотной последовательности поринов соответствуют синтетические пептиды, они могут быть использованы для целей диагностики, вакцинопрофилактики или структурно-функциональных исследований. Напри-

² Белки наружной бактериальной мембраны, предназначенные для пассивной диффузии гидрофильных молекул с молекулярной массой не более 600 Да и не имеющие специфических сайтов связывания с диффундирующими через пору лигандами.

мер, участки, соответствующие консервативным эпитопам могут быть использованы для создания вакцин, защищающих от родственных инфекций, в то время как *вариабельные участки* могут обеспечивать видо- и штаммоспецифическую защиту.

Неспецифические порины наружной мембраны грамотрицательных бактерий относятся к высокоиммуногенным антигенам, и иммунный ответ на них имеет ряд особенностей. *Во-первых*, высокий уровень антител к поринам ряда грамотрицательных бактерий обнаруживается у людей как при естественном течении инфекции, так и при вакцинации. *Во-вторых*, наблюдается длительная продолжительность циркуляции специфических антител в крови животных, как в результате иммунизации, так и при развитии заболевания, то есть иммунная система реагирует формированием В- и Т-клеток памяти в ответ на контакт с пориновыми белками грамотрицательных бактерий. Антитела к поринам обнаруживаются в сыворотках крови экспериментальных животных (мышей, кроликов, крыс, обезьян) вне зависимости от формы вводимого антигена: при иммунизации целыми клетками, фрагментами клеточной стенки бактерий, изолированными белками [21]. Эти два обстоятельства также должны приниматься разработчиками химических и генно-инженерных вакцин при выборе перспективных антигенов.

На современном этапе развития иммунологии и вакцинопрофилактики основным критерием при выборе антигена для вакцинации стало обеспечение возможности получения видоспецифического иммунитета, а также эффективной защиты от аэрогенного (ингаляционного) инфицирования [23]. Как правило, выбор антигенов для вакцин ограничен отдельными поверхностными белками микроорганизмов. В связи с вышесказанным, наибольший интерес представляют комбинированные вакцины, включающие основные иммунодоминантные эпитопы антигенов различных возбудителей, иммобилизованные на единой матрице. В качестве платформы, в частности, могут быть использованы порины НМ грамотрицательных бактерий. Создание химерных белков, включающих модельные (маркерные) пептиды и изучение их иммунохимических свойств послужит основой для разработки подходов к созданию высокоэффективных и специфичных препаратов нового поколения для диагностики и профилактики заболеваний, в том числе обусловленных иерсиниями.

Порины, в качестве антигенных компонентов вакцин, имеют значительные преимущества по сравнению с липополисахаридами (ЛПС), индуцирующего штаммоспецифический им-

мунитет. *Во-первых*, порины менее токсичны, *во-вторых*, как правило, они являются видоспецифическими антигенами, поэтому могут защищать от инфекции, вызываемой всеми серотипами данного вида микроорганизма.

Порины могут рассматриваться как факторы патогенности бактерий. Совместно с другими компонентами НМ они обеспечивают адгезию, инвазию и колонизацию бактериями клеток организма-хозяина. Порины могут влиять на ряд функций нормальных эукариотических клеток, включая экспрессию цитокинов, активацию рецепторов, индукцию апоптоза и регуляцию деятельности актинового цитоскелета [22].

Структура и функция поринов иерсиний.

Главным объектом наших исследований стал один из неспецифических порообразующих белков, OmpF порин из НМ псевдотуберкулезного микроба *Y. pseudotuberculosis*. Кроме того, был также выделен и охарактеризован ряд белков из патогенных и непатогенных для человека видов иерсиний, в частности из НМ *Y. enterocolitica* и несколько поринов из группы так называемых энтероколитокоподобных видов иерсиний (*Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*) [26] и порин из *Y. ruckeri* [27], являющейся патогеном для рыб, а также порины другого типа (OmpC) из НМ *Y. pseudotuberculosis* [28] и *Y. enterocolitica* [29]. Все выделенные белки отличались большим содержанием суммарной β -структуры (60–80 %) и высокой степенью пластичности на уровне третичной структуры белка [26, 27, 30, 31].

Изученные порины являются термозависимыми белками. В диапазоне температур 50–70 °C они претерпевают необратимый конформационный переход, сопровождающийся диссоциацией тримеров на мономеры. OmpF порины энтероколитокоподобных видов иерсиний оказались менее устойчивыми по отношению к температуре по сравнению с порином из псевдотуберкулезного микроба [26]. Необычно термоустойчивый OmpF порин был выделен из *Y. ruckeri*, температура его необратимого термоперехода была на 20 °C выше таковой, наблюдаемой для OmpF белков иерсиний и других энтеробактерий [32].

Порообразующие свойства поринов иерсиний были исследованы с помощью техники бислойных липидных мембран (БЛМ). Каналы, образуемые поринами патогенных видов иерсиний в искусственной мембране, были, как правило, однородны. Величины их наиболее вероятных уровней проводимости составляли 180–240 пСм³. В случае поринов непатогенных видов иерсиний наблюдался значительно больший разброс этих величин (от 180 до 400 пСм), что, вероятно, вызвано большим разнообразием условий обитания

³ пСм – пикосименс (10^{-12} См, сименса – единицы измерения электрической проводимости).

Таблица 1 – Аминокислотный состав OmpF-подобных поринов рода *Yersinia*

Название АК остатка	Фактическое и процентное содержание аминокислотных остатков (в расчете на мономер порина)					
	<i>Y. pseudotuberculosis</i>		<i>Y. pestis</i>		<i>Y. enterocolitica</i>	
Ala (A)	24	7,10	26	7,69	24	6,72
Arg (R)	11	3,25	10	2,69	12	3,36
Asn (N)	33	9,76	34	10,06	35	9,80
Asp (D)	32	9,47	32	9,47	34	9,52
Cys (C)	0	0	0	0	0	0
Glu (E)	11	3,25	12	3,55	12	3,36
Gln (Q)	15	4,44	15	4,44	19	5,32
Gly (G)	38	11,24	39	11,54	43	12,04
His (H)	2	0,59	2	0,59	2	0,56
Ile (I)	12	3,55	13	3,85	10	2,80
Leu (L)	21	6,21	22	6,51	23	6,44
Lys (K)	19	5,62	18	5,33	18	5,04
Met (M)	6	1,78	4	1,18	5	1,40
Phe (F)	22	6,51	21	6,21	19	5,32
Pro (P)	3	0,89	3	0,89	3	0,84
Ser (S)	19	5,62	20	5,92	3	0,84
Thr (T)	20	5,92	20	5,92	25	7,00
Trp (W)	3	0,89	3	0,89	3	0,84
Tyr (Y)	26	7,69	25	7,40	27	7,56
Val (V)	21	6,21	19	5,62	22	6,16
Заряженные	188		188		205	
Незаряженные	150		150		152	
M (Да)	37724,4		37424,9		39507,3	
Общее число АК остатков	338		338		357	

этих микроорганизмов в окружающей среде [26]. Потенциал закрытия порина из *Y. ruckeri* имеет аномально высокую величину по сравнению с таковой классического порина из *E. coli* [33].

В последнее время появились работы о влиянии липидного состава мембраны на структуру и свойства ее компонентов, в том числе поринов [34–36]. Исследования с использованием штаммов *E. coli* с регулируемым составом мембранных липидов в сочетании с методами определения топологии белка показали, что липидные молекулы – важнейший фактор, определяющий ориентацию трансмембранного домена белка по отношению к плоскости бислойа [37]. *Y. pseudotuberculosis* может изменять свой липидный профиль в зависимости от температуры, способа культивирования, фазы роста и источника углерода [38, 39]. Такие различия в термозависимости, ориентации трансмембранного домена, потенциала закрытия, открывает пориновым белкам дорогу для использования в качестве наномеханизмов различного назначения.

Анализ аминокислотных последовательностей OmpF поринов патогенных видов бактерий рода *Yersinia*. При множественном вы-

равнивании АК последовательностей зрелых OmpF-подобных белков патогенных иерсиний были обнаружены следующие закономерности. Во-первых, наблюдается наличие протяженных областей высокой и низкой гомологии, при этом консервативные участки приходятся на трансмембранные домены, а высоковариабельными участками, подобно OmpF *E. coli*, являются «внешние» петли. Во-вторых, выявлена очевидная закономерность в распределении гидрофобных аминокислот и консервативных АК остатков, в первую очередь, глициновых, тирозиновых и фенилаланиновых (вышеупомянутые АК остатки выделены в таблице 1 жирным шрифтом). Образование двух так называемых «ароматических поясов» – структурная особенность пориновых белков. Одна из этих «ароматических гирлянд» находится на границе мембраны и периплазматического пространства, а вторая – на границе мембраны и внеклеточного пространства. Их функция заключается в удержании гомотримера⁴ в липидном слое мембраны.

Результаты сравнительного анализа АК последовательностей OmpF-подобных пори-

⁴ Гомотример – тример из одинаковых белковых мономеров.

Таблица 2 – Гомология АК последовательностей OmpF поринов из *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* (в %)

Название АК остатка	<i>Y. pseudotuberculosis</i>		<i>Y. pestis</i>	
	Yps_3260 (1B)	Yps_32953 (1B)	Yp_C092 Yp_KIM (orientalis)	Yp_91001 (mediaevalis)
Yps_3260	100	98,6	95,0	94,8
Yps_32953	-	100	93,6	93,4
Yp_C092	-	-	100	99,2
Yp_91001	-	-	-	100

Примечание:

Y. pestis (Yp_91001, Yp_C092, Yp_KIM), *Y. pseudotuberculosis* (Yps_3260, Yps_32953).

Жирным шрифтом выделены наибольшие значения степени гомологии проанализированных АК последовательностей.

Таблица 3 – Гомология АК последовательностей OmpF поринов *Y. enterocolitica* и других энтероколитикоподобных видов иерсиний (в %)

Штамм	<i>Y. enterocolitica</i>		<i>Y. ntermedia</i>	<i>Y. kristensenii</i>	<i>Y. frederiksenii</i>
	Ye_164	Ye_8081	Yi_253	Yk_991	Yf_4849
Ye_164	100	93,2	84,1	84,5	85,7
Ye_8081	-	100	80,6	82,1	82,4
Yi_253	-	-	100	88,3	84,6
Yk_991	-	-	-	100	84,6
Yf_4849	-	-	-	-	100

Примечание:

Y. enterocolitica (Ye_164, Ye_8081); *Y. intermedia* (Yi_253); *Y. kristensenii* (Yk_991) *Y. frederiksenii* (Yf_4849).

нов иерсиний, в том числе взятых из GeneBank (NCBI), представлены в виде таблиц, отдельно для поринов из *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* (таблица 2) и для поринов из *Y. enterocolitica* и других энтероколитикоподобных видов иерсиний (таблица 3).

При сравнении поринов второй группы бактерий (таблица 3) было обнаружено, что высокая степень гомологии первичной структуры белков наблюдалась для поринов из разных штаммов *Y. enterocolitica* (93,2 %). Для представителей других видов энтероколитикоподобных иерсиний процент гомологии АК последовательности исследуемых белков составил 80,6–88,3 %, что укладывается в допустимый интервал значений межвидового подобия.

Как видно из таблиц 2 и 3, наиболее близкими видами по аминокислотному составу OmpF-подобных поринов между собой являются *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis*. Степень гомологии внутри вида составляет 98,8–100 % для серотипов *Y. pseudotuberculosis* и 99,2–100 % для сероваров *Y. pestis*. Эти данные свидетельствуют о близком эволюционном родстве этих двух видов иерсиний и подтверждают гипотезу появления *Y. pestis* в результате мутаций *Y. pseudotuberculosis* [40].

Теоретическая модель пространственной структуры поринов иерсиний. Среди белковых

структур, представленных в банках данных, структуры мембранных белков составляют лишь малую часть, менее 1 % [41]. Однако, именно эти белки играют чрезвычайно важную роль в самых разнообразных биологических процессах, в том числе и проявлении вирулентности бактерий и протективных свойства вакцин. На основании высокой степени гомологии АК последовательностей между OmpF порином *E. coli* и поринами патогенных видов иерсиний (56–61 %), а также с учетом практически полной идентичности первичной структуры OmpF порина из *Y. pseudotuberculosis* и порина из *Y. pestis*, для поринов патогенных видов иерсиний (*Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*) методом гомологичного моделирования с использованием Swiss-PDB Viewer 3.7 (SPD-BV) и Swiss-Mode Server (www.expasy.org/spdbv/; www.expasy.org/swissmod/) были построены модели пространственной структуры мономеров (1HXX) (рисунок 3А и 3Б). В качестве прототипа для мономеров была использована 3-D структура порина Pho E из *E. coli*. Модель тримера OmpF *Y. pseudotuberculosis* (рисунок 3А) была построена с использованием в качестве матрицы пространственной структуры тримера порина OmpF *E. coli* (3HXX).

Обнаружено, что порины иерсиний по пространственной организации их молекул очень похожи на таковую неспецифических поринов других энтеробактерий. Они имеют те же самые

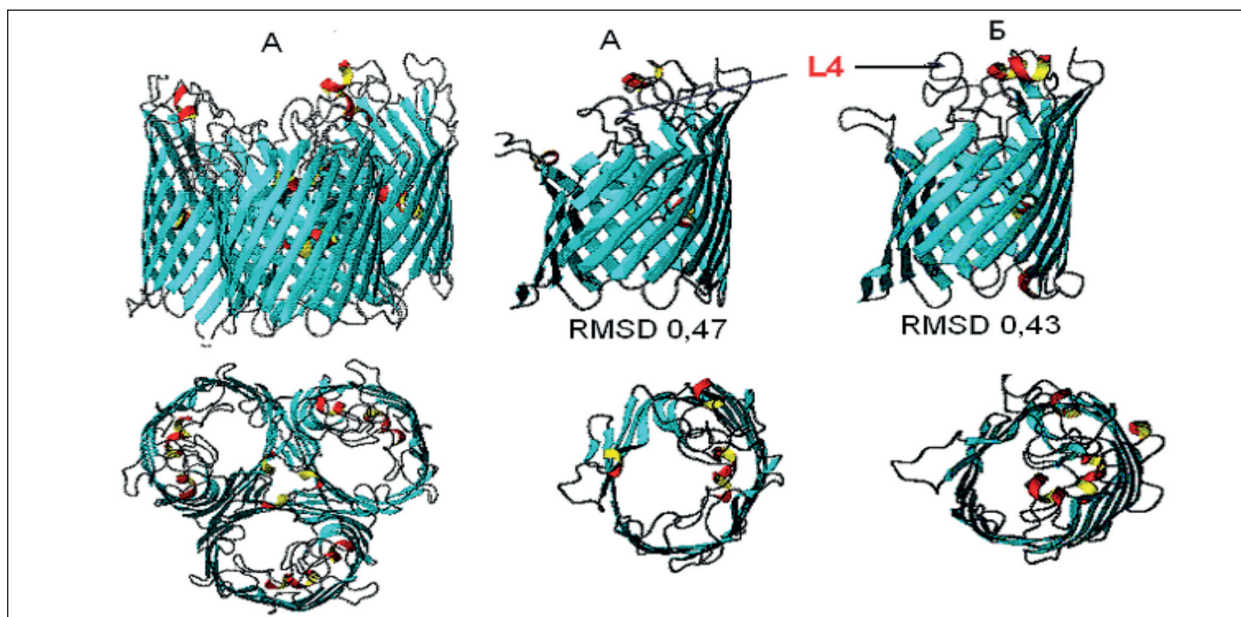


Рисунок 3 – Теоретическая модель пространственной структуры тримера порина из *Y. pseudotuberculosis* (А) и *Y. enterocolitica* (Б). (Данные авторов)

особенности структуры: как в общей укладке β -тяжей, так и в расположении петель, в частности, функционально значимой петли L3 и петли L2, которая направлена в сторону от «своего» мономера, частично закрывая вход в пору соседнего мономера. [42]. Самая длинная петля L3, в отличие от остальных, выходящих за пределы барреля, погружена в полость поры до середины, ограничивая, тем самым, ее размер и образуя сужение, так называемую «зону констрикции, или «глазок поры». Заряженные остатки, локализованные в области «глазка», значительно влияют на ионоселективность и проницаемость канала. Взаимодействия АК остатков петли L2 с таковыми, локализованными в основании петли L3 соседнего мономера, обеспечивают высокую стабильность тримерной структуры порина.

Верификация острых форм иерсиниозов с помощью ИФА тест-системы на основе поринов иерсиний. Диагностика острых кишечных инфекций, обусловленных иерсиниями, характеризуется низкой эффективностью средств и способов их верификации. Только комплексная клиничко-лабораторная диагностика с использованием специфических методов позволяет установить истинную природу болезни. Авторами были разработаны и успешно апробированы две ИФА тест-системы на основе поринов из *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* для определения уровня антител в сыворотках больных [43–45]. Эффективность разработанных тест-систем оказалась почти в два раза выше таковой реакции непрямой геммагглютинации (РНГА) на основе коммерческого типоспецифического диагностикума. Так с помощью РНГА положитель-

ная реакция отмечена в 52 % исследованных образцов крови людей с бактериологически подтвержденным диагнозом, а с помощью ИФА – в 98 % случаев. Показано, что использование этих тест-систем обеспечивает не только высокий уровень дифференциальной диагностики иерсиниозов и других кишечных инфекций со сходными клиническими признаками, но и позволяет выявлять заболевание на ранних стадиях независимо от сероварианта возбудителя. Для расширения сферы применения ИФА тест-систем на основе поринов иерсиний мы провели их апробацию в целях установления этиологии ряда иммунопатологических состояний.

Использование ИФА тест-системы на основе поринов иерсиний для диагностики вторично-очаговых форм иерсиниозов. Согласно современным представлениям, аутоиммунные проявления при иерсиниозах, они относятся к вторичным (приобретенным) иммунодефицитным состояниям, и сопровождаются поражением функций практических всех органов и систем человека (сердечно-сосудистой и нервной систем, опорно-двигательного аппарата, мочевыводящей системы и желудочно-кишечного тракта). В случае иерсиниозной инфекции иммунодефицит обусловлен не только антигенной мимикрией, но и способностью иерсиний к длительной персистенции в организме, в результате чего нарушается функция либо отдельных компонентов иммунной системы, либо всей системы в целом. Например, нарушается иммунореактивность, развивается повышенная сенсибилизация по отношению к различным антигенам микробов, приводящая к токсико-инфек-

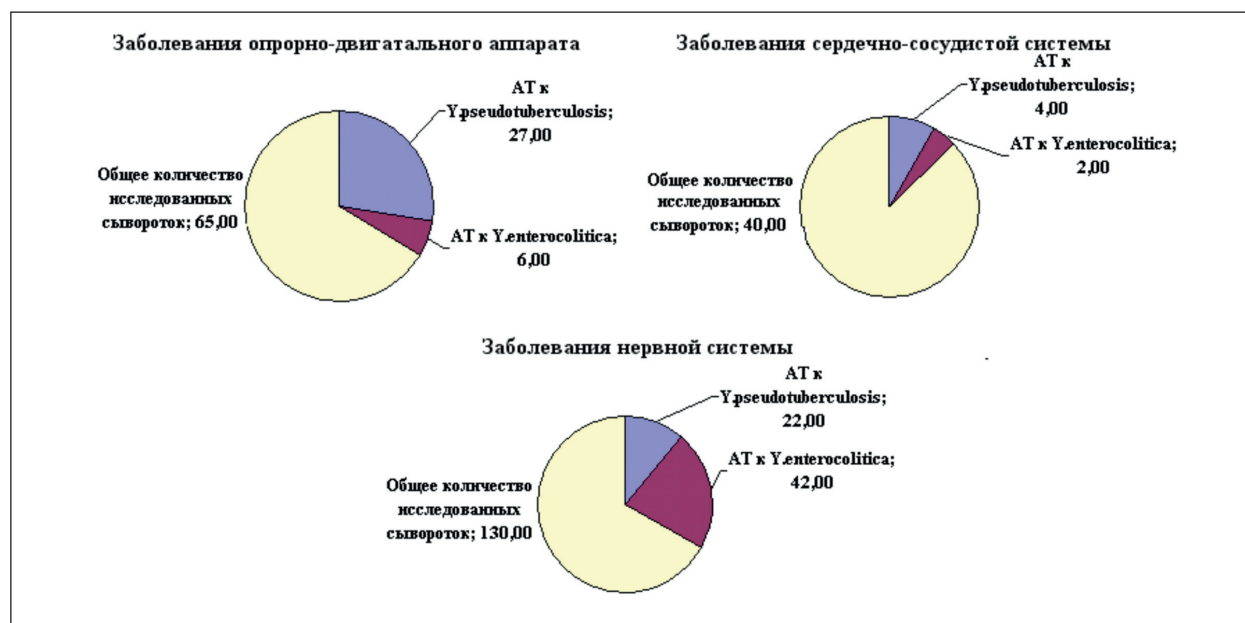


Рисунок 4 – Определение антител к поринам иерсиний в сыворотках крови больных с заболеваниями опорно-двигательного аппарата, поражениями периферической нервной системы, сердечно-сосудистой системы. (Данные авторов)

ционным перегрузкам, наблюдается истощение компонентов системы комплемента, нарушение в синтезе иммуноглобулинов, а также снижение функциональной активности фагоцитирующих клеток. При этом вероятность развития иммунодефицитного заболевания при иерсиниозах определяется не только патогенным потенциалом самого возбудителя, но и особенностями иммунной системы организма и эпигенетическими факторами (возраст, пол, сопутствующие заболевания, анамнез жизни).

Диагностика вторично-очаговых форм иерсиниозов и сопутствующих им вторичных иммунодефицитов представляет собой сложную задачу: во-первых, ввиду того, что появление симптоматики соматического заболевания является, как правило, отсроченным и обусловлено осложнением инфекционного процесса и, во-вторых, ввиду отсутствия эффективных и специфичных методов диагностики.

Разработанные нами тест-системы на основе неспецифических поринов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* были использованы для обследования больных с различными заболеваниями опорно-двигательного аппарата (ревматоидный артрит), периферической нервной системы (вертебральная люмбагия, дискогенный радикулит) и сердечно-сосудистой системы (кардиопатия). В результате анализа сывороток крови больных специфические антитела к поринам иерсиний были обнаружены в 51, 49 и 15 % случаев соответственно (рисунок 4) [46].

Полученные данные могут свидетельствовать о формировании системных заболеваний в

результате перенесенного иерсиниоза. Использование рекомбинантного порина вместо нативного белка в тест-системе для диагностики острых и вторично-очаговых форм псевдотуберкулеза не снижает эффективности обнаружения антител в сыворотке крови больных людей [47].

ИФА тест-системы на основе поринов *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* также использованы для подтверждения возможного участия иерсиниозной инфекции в индукции диффузного узлового нетоксического зоба [48]. В результате анализа индивидуальных сывороток крови 59 пациентов специфические антитела к поринам *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* обнаружены в диагностическом титре (1:800–1:1600) в 73 % случаев: в 58,4 % – к порину *Y. enterocolitica* и 14,6 % – к порину *Y. pseudotuberculosis*. В контрольной группе здоровых доноров специфических антител к поринам иерсиний мы не обнаружили (рисунок 5).

Анализ специфического гуморального иммунного ответа больных с различными нозологическими формами заболеваний иерсиниозной этиологии показал высокий уровень специфических иммуноглобулинов (Ig) класса G и в 3–5 раз более низкий уровень IgM к поринам *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* [49]. Этот результат может свидетельствовать о постоянной антигенной стимуляции иммунной системы, вызванной длительной персистенцией возбудителя, что, как было указано выше, характерно для иерсиниозов. Иммунологический анализ крови обследованных пациентов показал, что иммунодефициты иерсиниозной этиологии

сопровождается нарушениями регуляции звеньев молекулярно-клеточного гомеостаза, развитие их происходит по типу аутоиммунного заболевания, характеризующегося длительной иммуноактивацией или иммуносупрессией [50, 51]. У больных обнаружено также снижение фагоцитарной активности, свидетельствующее о хронизации воспалительного процесса. У пациентов с различными нозологическими формами заболеваний иерсиниозной этиологии выявлены также изменения в цитокиновом статусе. При развитии постиерсиниозных патологических процессов (вторично-очаговых форм иерсиниозов) происходят изменения уровней как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов [48]. Это происходит, вероятно, в результате постоянной антигенной стимуляции иммунной системы, вызванной персистенцией возбудителя и, как следствие, инициации существенных иммунопатологических изменений в организме обследованных больных. Развивающееся в результате этих процессов системное заболевание может не напоминать инфекционный процесс, если не знать о его первопрочине.

Протективная активность поринов иерсиний. Одним из критериев при выборе антигена для включения в вакцину является возможность получения протективного иммунного ответа, обеспечивающего одновременную защиту макроорганизма против нескольких видов возбудителей инфекционных заболеваний, принадлежащих к одному роду. Один из подходов, который широко применяется для достижения такого результата, связан с поиском в первичной структуре белка антигенных эпитопов и синтез соответствующих этим участкам пептидов, способных без конъюгации с инертным белковым носителем стимулировать образование в макроорганизме антител определенной специфичности. Иммунизация порином НМ *Y. pseudotuberculosis* обеспечивает защиту экспериментальных животных при заражении их летальными дозами различных сероваров псевдотуберкулезного микроба. Учитывая высокую степень подобия первичных структур поринов иерсиний, можно предполагать, что протективные препараты, созданные на их основе, будут защищать от инфекций, вызываемых всеми видами патогенных иерсиний [52].

Иммунохимические свойства синтетических антигенных пептидов. В соответствии с представлениями современной иммунологии, необходимым условием образования антител к искусственным пептидным антигенам является наличие в их первичной структуре не только В-, но и Т-клеточных эпитопов, которые участвуют в образовании тройного комплекса между антигеном, молекулой главного комплекса гистосовместимости II типа (МНС II) и Т-клеточным

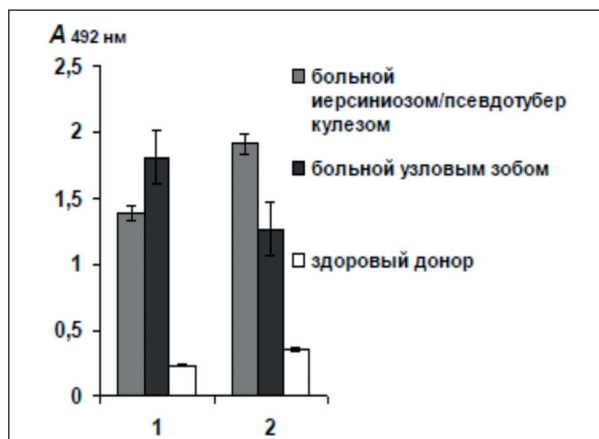


Рисунок 5 – Определение специфических антител к поринам из *Y. enterocolitica* (1) и *Y. pseudotuberculosis* (2) в сыворотках крови больных с диффузным узловым нетоксическим зубом с помощью ИФА тест-систем на основе поринов иерсиний. В качестве положительного контроля использовались сыворотки крови больных иерсиниозом/псевдотуберкулезом, в качестве отрицательного контроля – сыворотки крови здоровых доноров

рецептором. Образовавшийся комплекс стимулирует Т-хелперные клетки и одновременно активирует В-клетки. Поиск консервативных участков, включающих Т- и В-клеточные эпитопы, и соответственно пригодных для создания мультивалентных протективных препаратов для защиты от иерсиниозных инфекций, проводился по АК последовательностям поринов патогенных видов иерсиний с помощью компьютерных программ. Для расчетов Т-эпитопов использовали программы ProPred, SYFPEITHI, RANKPEP, особое внимание уделяли консервативным пептидам, обладающим широким спектром специфичности по отношению к различным аллельным вариантам лимфоцитарных антигенов человека [53]. Сайты связывания с В-клетками для неспецифических поринов *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* и *Y. pestis* были рассчитаны с помощью программы ADEPT [54].

В результате проведенных расчетов были выбраны 4 пептида, каждый из которых состоял из 20-ти АК остатков и имел различную степень гомологии с соответствующими фрагментами молекул OmpC и OmpF поринов патогенных иерсиний (таблица 4). Предсказанные пептиды были синтезированы в формате мультивалентных антигенных пептидов (МАП 1-4). Для подтверждения того, что в состав МАП включены участки, соответствующие В-эпитопам, была изучена способность этих пептидов к взаимодействию со специфическими антителами в сыворотках крови кроликов, иммунизированных тримерами поринов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, и с анти-

Таблица 4 – Степень гомологии (в %) антигенных пептидов с фрагментами молекул поринов трех видов иерсиний по АК последовательности

МАП*	Структура пептида	<i>Y. pseudotuberculosis</i>		<i>Y. enterocolitica</i>		<i>Y. pestis</i>	
		OmpF	OmpC	OmpF	OmpC	OmpF	OmpC
1	WEYQVNLNKAENEDGNHDSF	45	100	45	75	45	100
2	YTQTYNLTRFGDFSNRSSDA	45	100	40	85	35	100
3	LQYQGKNDRSEVKEANGDGF	100	90	85	65	100	35
4	RTLQDKYGSTAEGDKAQAWN	100	40	80	35	100	30

* Мультивалентный антигенный пептид.

телями в сыворотках крови людей, переболевших псевдотуберкулезом или кишечным иерсиниозом. Полученные результаты показали, что наиболее полно В-эпитопы представлены в МАП-1 (петля L2, 3-4 β -стрэнды) [53]. Участки, соответствующие петле L2, по-видимому, включают в себя «универсальный» для поринов обоих видов иерсиний фрагмент последовательности, на который в теплокровном организме вырабатываются антитела, как при иммунизации, так и при естественном течении инфекции (рисунок 6А).

Интересно также отметить существование определенной взаимосвязи между конформацией порина, к которому были получены антитела и эффективностью взаимодействия этих антител с синтетическими пептидами. Обнаружено, что МАП-1 по-разному реагирует с антителами, полученными к комплексу пептидогликан-белок (ПГ-б) *Y. pseudotuberculosis*, в состав которого входит порин в нативной тримерной форме, к изолированному тримеру (ИТ) и к термоденатурированному мономеру порина (ТМ). Как показали результаты ИФА, эффективность взаимодействия МАП с раз-

личными антителами уменьшается в ряду ПГ-б $\rightarrow$ ИТ $\rightarrow$ ТМ (рисунок 6Б) [53].

Поскольку в состав МАП-1 включены антигенные детерминанты петли L2, играющей важную роль в стабилизации пространственной структуры тримера порина в НМ бактерий, полученные результаты подтверждают литературные данные о том, что четвертичная структура порина и стабильность его β -барреля важны для полноценной презентации антигенных эпитопов на поверхности молекулы [53].

Наличие в последовательности синтезированных МАП участков, соответствующих Т-клеточным эпитопам, определяли по способности пептидов индуцировать образование антител у экспериментальных животных. Показано, что все синтетические пептиды стимулируют развитие гуморального иммунного ответа. Однако наиболее иммуногенными оказались пептиды МАП-2 (петля L6, 11 β -стрэнд) и МАП-4 (петля L5, 10 β -стрэнд), в состав которых входят участки полипептидной цепи, расположенные на внешней стороне β -барреля, и, возможно, более доступные

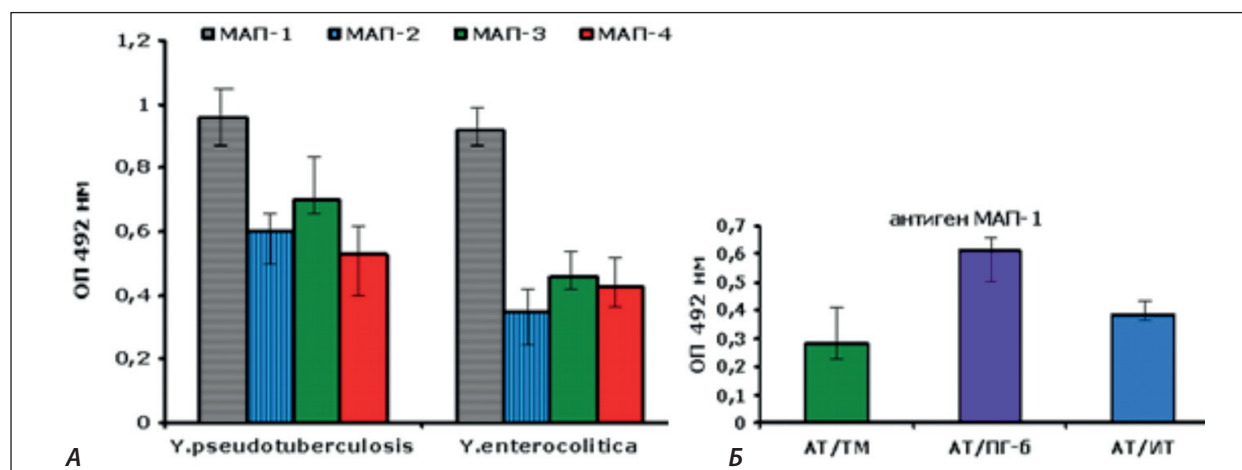


Рисунок 6 – ИФА взаимодействия МАП: А – с антителами в сыворотках крови больных кишечным иерсиниозом (*Y. enterocolitica*), псевдотуберкулезом (*Y. pseudotuberculosis*); Б – кроликов, иммунизированных различными образцами поринов *Y. pseudotuberculosis*: мономером (АТ/ТМ), комплексом пептидогликан-белок (АТ/ПГ-б), изолированным тримером (АТ/ИТ). (Данные авторов)

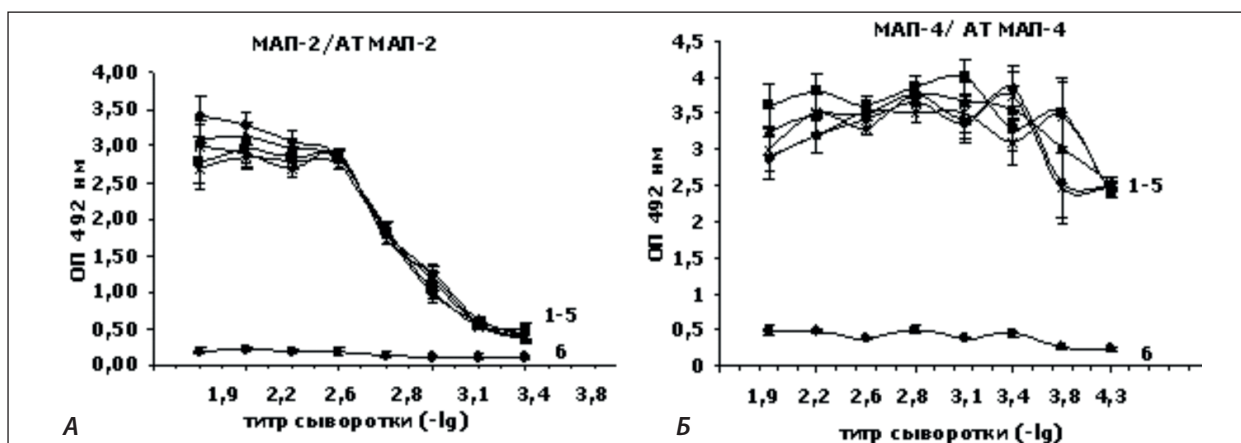


Рисунок 7 – Определение титра индивидуальных сывороток крови мышей, иммунизированных синтетическими пептидами МАП-2 (А) и МАП-4 (Б). Иммунные сыворотки (1-5), нормальная сыворотка (6)

для взаимодействия с антигенпрезентирующими клетками макроорганизма (рисунок 7).

В настоящее время не существует средств и способов специфической защиты от иерсиниозов. В связи с этим, полученные результаты можно рассматривать как один из этапов разработки поливалентных вакцинных препаратов для защиты от инфекций, вызываемых возбудителями кишечного иерсиниоза, псевдотуберкулеза и чумы.

Порины иерсиний как эффекторы патогенеза иерсиниозной инфекции. Порины, участвующие в развитии инфекционного процесса, способны встраиваться в мембрану эукариотических клеток и проявлять по отношению к ним цитолитическое действие. Изучение взаимодействия бактерий псевдотуберкулеза с перитонеальными макрофагами показало, что предварительная иммунизация белых беспородных мышей порином из НМ *Y. pseudotuberculosis* приводит к значительному увеличению фагоцитарного показателя (ФП), то есть количества макрофагов, участвующих в фагоцитозе. На плазмалемме макрофагов иммунных животных адсорбировалось больше бактерий, чем на клетках неиммунизированных мышей, усиливалась погложительная и переваривающая активность макрофагов. Фагоцитарное число (ФЧ), то есть количество бактерий, обнаруженных в одном макрофаге мышей, иммунизированных порином из псевдотуберкулезного микроба, было почти в три раза больше по сравнению с ФЧ неиммунных животных [55].

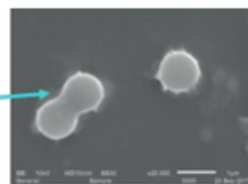
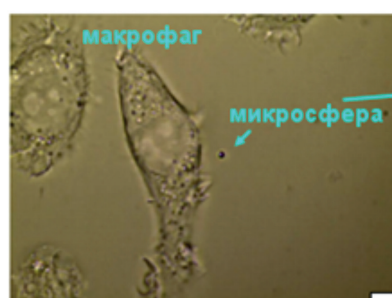
Предварительная обработка эпителиальных клеток Rh₉₂₉ нативной (тримерной) формой порина НМ *Y. pseudotuberculosis* приводила к проникновению в монослой на 2 порядка большего числа клеток псевдотуберкулезного микроба по сравнению с контролем. Таким образом, впервые было экспериментально продемонстрировано влияние изолированного порообразующего белка на бактериальную инвазию [56].

Методом оптической ловушки оценена участие поринов OmpF и OmpC *Y. pseudotuberculosis*

в адгезии микробных клеток к макрофагам J774 (рисунок 8).

С использованием набора микросфер, функционализированных OmpF и OmpC поринами, показано, что OmpF белок, продуцируемый в НМ при пониженной температуре культивирования, участвует в адгезии бактерий *Y. pseudotuberculosis* на поверхности макрофагов, в то время, как порин OmpC, синтезируемый при температуре тела теплокровного организма, указанным свойством не обладает. Эти результаты могут объясняться термоиндуцибельными различиями в первичной структуре пориновых белков и конформационными особенностями наружных петель молекул OmpF и OmpC. Высказано предположение о значимости выявленных различий для эффективной циркуляции в природе и проявления инвазивных свойств *Y. pseudotuberculosis* как возбудителя сапрозоонозной инфекции [57].

Изучение влияния компонентов НМ бактерий, в том числе бактерий рода *Yersinia*, на иммунный ответ макроорганизма с помощью модели *in vivo* в настоящее время используется достаточно редко. Тем не менее, считают, что экспериментальная инфекция у грызунов (мышей, крыс) и кроликов в общих чертах воспроизводит патогенез иерсиниозов у человека. Определение уровней различных цитокинов в сыворотке крови иммунизированных животных позволяют судить об особенностях развития защитных реакций организма, в отличие от экспериментов *in vitro* с использованием клеточных линий, которые показывают функциональное состояние только соответствующих клеток. Мы исследовали действие OmpF порина НМ *Y. pseudotuberculosis*, на синтез цитокинов и хемокинов у мышей после однократной иммунизации. В качестве антигена был использован рекомбинантный порин (rOmpF). Мышей иммунизировали однократно 100 мкг rOmpF или rOmpF, обработан-



Силу разорвавшейся связи между двумя объектами оценивается по амплитуде резкого скачка сигнала при отведении макрофага и, после пересчета, выражали в пиконьютонах (пН)

Тип микросфер	Число отрывов	F max
"OmpF"	457	54.73
"OmpC"	104	36.51

Рисунок 8 – Оценка силы адгезии функционализированных поринами микросфер к макрофагам J774 методом «оптической ловушки». (Данные авторов)

ным полимиксином В (rOmpF/ПМВ). Сравнение стимулирующей активности двух образцов рекомбинантного белка: rOmpF, содержащего примесь эндотоксина, и rOmpF/ПМВ, обрабо-

танного полимиксином В, позволило выявить действие собственно порина.

Обнаружено, что повышение уровня экспрессии провоспалительных эндогенных меди-

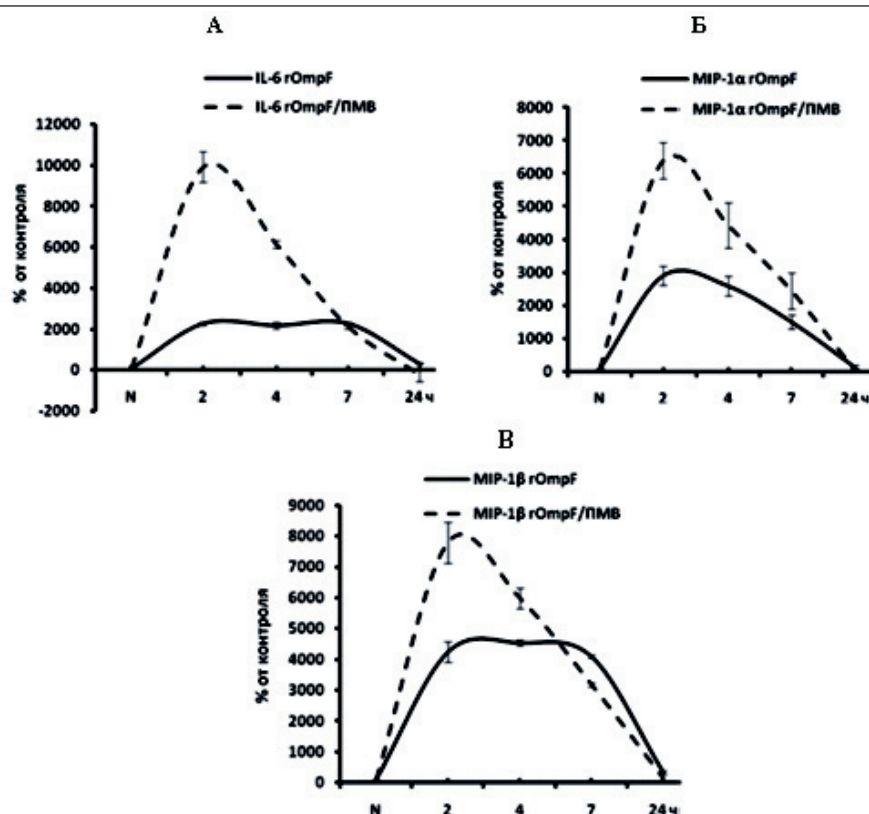


Рисунок 9 – Синергический эффект порина. Изменение содержания цитокина IL-6 (А) и хемокинов MIP-1α (Б), MIP-1β (В) (% контроля) в сыворотке крови мышей BALB/c после однократного введения rOmpF и rOmpF/ПМВ, 100 мкг / мышь. Для получения иммунной сыворотки отбор проб крови проводился через 2, 4, 6 и 24 часа. Первая точка на графике соответствует уровню цитокинов в неиммунной сыворотке, который принимается за 100 %. Данные приведены как средние значения трех независимых экспериментов с учетом стандартного отклонения. * - Достоверные различия по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$). (Данные авторов)

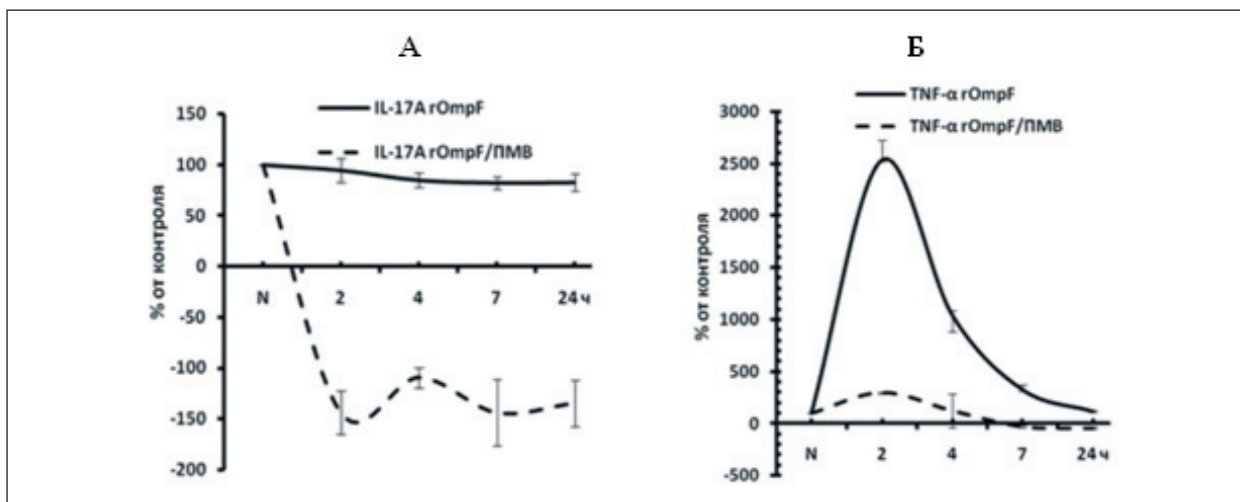


Рисунок 10 – Ингибирующий эффект порина. Изменение содержания цитокина IL-17A (А) и фактора некроза опухоли TNFα (Б) в сыворотке крови мышей BALB/c после однократного введения rOmpF и rOmpF/ПМВ, 100 мкг / мышь. Для получения иммунной сыворотки отбор проб крови проводился через 2, 4, 6 и 24 часа. Первая точка на графике соответствует уровню цитокинов в неиммунной сыворотке, которая принимается за 100 %. Данные приведены как средние значения трех независимых экспериментов с учетом стандартного отклонения. * - Достоверные различия по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$)

аторов у мышей, иммунизированных порином rOmpF, обусловлено, в основном, примесью ЛПС. Порин, в свою очередь, проявляет либо синергический (рисунок 9), либо ингибирующий эффект (рисунок 10) по отношению к действию ЛПС, высоко эффективного иммуномодулирующего компонента НМ бактерий.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли поринов на ранних этапах развития инфекции [58].

Порин OmpF из *Y. pseudotuberculosis* и рецептор тиреотропного гормона человека являются перекрестными антигенами. В последние 20 лет во всем мире наблюдается рост аутоиммунных заболеваний. Собранные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что на неспособность иммунной системы отличить чужеродные антигены от собственных негативно влияют генетические факторы и экологические триггеры. Определение конкретных триггеров аутоиммунных расстройств необходимо для разработки новых методов лечения аутоиммунных заболеваний. На современном этапе развития представлений об аутоиммунных процессах все возрастающее внимание уделяется не только их участию в физиологической регуляции жизнедеятельности организма, но и выяснению их роли в патогенезе различных заболеваний [59].

Хотя генетический фон хозяина и дает определенный вклад в характер иммунного ответа, основной экологической причиной, ответственной за возникновение аутоиммунных заболеваний,

считаются инфекционные агенты вирусной и бактериальной природы. Об этом свидетельствуют многочисленные данные эпидемиологических и молекулярных исследований [60]. Предполагают, что существуют разнообразные механизмы, с помощью которых инфекции могут инициировать и/или усугубить аутоиммунные заболевания. Одним из них является перекрестная специфичность, или молекулярная мимикрия. Термин «молекулярная мимикрия» был введен в 1964 г. R.T. Damian [61], предположившим, что чужеродные антигены инфекционных агентов могут обладать сходством с белками макроорганизма, и это структурное подобие служит в качестве защитного механизма микроорганизма от иммунной системы хозяина⁵. Сходство может быть выражено как общей АК последовательностью (линейными или составными эпитопами), так и подобием конформации молекул возбудителя и хозяина. Позднее было высказано предположение о том, что молекулярная мимикрия антигенных детерминант микроорганизмов может вызвать аутоиммунные реакции, вредные для организма-хозяина [62].

Одним из самых распространенных аутоиммунных заболеваний, является диффузный токсический зоб (ДТЗ), или болезнь Грейвса. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы (ЩЖ) часто сопровождаются тиреотоксикозом. Парадоксальность этой ситуации заключается в том, что в качестве этиологической причины развития ДТЗ может выступать перенесенная ранее бактериальная инфекция, в том числе

⁵ Такая гомология может быть вызвана сходно направленным действием естественного отбора на структуры, выполняющие сходные функции, т.е. эволюционной конвергенцией (примечание редакции).

иерсиниозная, но сам ДТЗ к инфекционным болезням не относится [63, 64].

Причиной развития подобных заболеваний может быть длительная персистенция иерсиний в организме, а также возможная молекулярная мимикрия бактериальных антигенов и антигенов тканей ЩЖ человека. Так, подобное явление описано для OmpF порина НМ возбудителя кишечного иерсиниоза (*Y. enterocolitica*) и рецептора тиреотропного гормона человека (рТТГ), локализованного на поверхности фолликулярных клеток ЩЖ [65]. В пользу этого предположения также говорит тот факт, что у части пациентов с поражением ЩЖ в сыворотках крови обнаруживаются антитела к клеткам иерсиний [66, 67]. В этих же сыворотках определяется высокое содержание аутоантител к антигенам тканей ЩЖ, а именно к тиреоглобулину и рТТГ [67]. Кроме того, у пациентов с диагностированной болезнью Грейвса выявляется высокий уровень специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) и низкий уровень иммуноглобулинов класса M (IgM) к поринам *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* [67]. Высокий уровень IgG является косвенным признаком того, что в организме сохраняется персистенция иерсиний и, следовательно, осуществляется постоянная антигенная стимуляция иммунной системы. Таким образом, можно предположить наличие причинно-следственной связи между кишечной иерсиниозной инфекцией и формированием аутоиммунного заболевания ЩЖ [66, 67].

Принимая во внимание эти наблюдения, некоторые исследователи считают [68], что антитела к порообразующим белкам, иммунодоминантным антигенам НМ иерсиний, могут взаимодействовать с рецептором тиреотропного гормона, вызывая избыточную стимуляцию щитовидной железы и, тем самым, провоцируя развитие аутоиммунного состояния организма с симптомами тиреотоксикоза. Однако подобная взаимосвязь описана только для поринов *Y. enterocolitica*, возбудителя кишечного иерсиниоза.

Нами было проведено специальное исследование для выявления серологической перекрестной реактивности между порином OmpF из *Y. pseudotuberculosis* и рТТГ [69]. В ходе работы из хирургической ткани ЩЖ пациентов с клиническими и диагностическими признаками ДТЗ были получены экстракты, содержащие рТТГ. Было показано, что моноклональные антитела к рТТГ (мАТ) взаимодействуют как с антигенами в экстрактах ткани щитовидной железы, так и с OmpF порином. Однако по данным иммуноблоттинга тримерная форма белка не выявлялась этими антителами (рисунок 11).

Для объяснения полученных экспериментальных данных нами были построены теоретические модели пространственных структур мономерных и тримерных комплексов порина

с антителами к рТТГ (рисунок 12). Согласно результатам молекулярного моделирования, порин, будучи в мономерной форме, может, подобно рецептору, свободно взаимодействовать с мАТ. Но когда образуется тример порина, гидрофобная область, которая находится в зоне взаимодействия порина с антителом, закрывается. Это обстоятельство, а также другие пространственные перегруппировки АК остатков, которые определяют эффективность связывания, предотвращают взаимодействие между тримером YrOmpF и мАТ к рТТГ. Данные результаты, полученные *in vitro* и *in silico*, подтвердили существование феномена молекулярной мимикрии. Таким образом, аутоиммунное заболевание ЩЖ (болезнь Грейвса), которое иногда возникает после перенесенного псевдотуберкулеза, может быть следствием структурного и антигенного сходства между иммунодоминантным белком НМ и рТТГ человека. Следует отметить, что такое антигенное подобие с рецептором до сих пор было известно только для OmpF порина из *Y. enterocolitica* [68], для порина из псевдотуберкулезного микроба это показано впервые [69].

Помимо самого факта экспериментального и теоретического доказательства существования явления молекулярной мимикрии, по результатам этого исследования можно сделать еще один интересный вывод. Поскольку в АК последовательности порина и рецептора не обнаружено одинаковых достаточно протяженных участков, причиной АГ подобия является, скорее всего, подобие конформации отдельных участков их пространственной структуры. В связи с этим конформационная пластичность третичной структуры поринов, о которой упоминалось ранее, приобретает особую роль в проявлении этими белками различных видов биологической активности.

На модели *in vivo* продемонстрирована способность антител к OmpC и OmpF поринам НМ *Y. pseudotuberculosis* инициировать повышение уровня тироксина (Т4) в крови экспериментальных животных [70].

BALB/c мыши были иммунизированы различными антигенами: рекомбинантным OmpF порином в растворимой мономерной форме (РБ), изолированными тримерами поринов или антителами к ним. Обнаружено, что после иммунизации животных уровень Т4 в крови повышался соответственно в 5,47 и 22,3 раза в случае OmpF и OmpC поринов, а также в 9,28 и 14,29 раза в случае антител к этим белкам (рисунок 13). Иммунизация порином РБ не вызвала достоверного увеличения содержания Т4. Возможно, это объясняется тем, что антисыворотка к этому образцу порина не содержит антител, специфичных к конформационным антигенным детерминантам нативных белков.

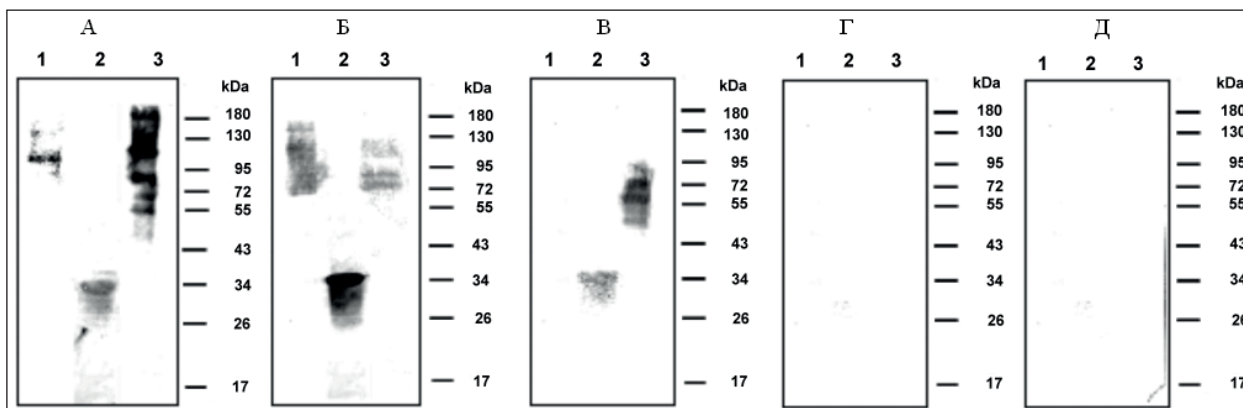


Рисунок 11 – Иммуноблоттинг взаимодействия порина *OmpF* из *Y. pseudotuberculosis* (тримера (*YpOmpFt*) – 1, мономера (*YpOmpFm*) – 2, и комбинированного PBS-экстракта из тканей пациентов с болезнью Грейвса – 3 с: (А) пуловая сыворотка крови пациентов (разведение 1/200); (Б) сыворотка крови мыши, иммунизированной *YpOmpFt* (разведение 1/2000); (В) МАТ 3В12 к рТТГ (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, США, разведение 1/500); (Г) неиммунная мышиная сыворотка (разведение 1/2000); (Д) сыворотка крови здорового донора (разведение 1/200). (Данные авторов)

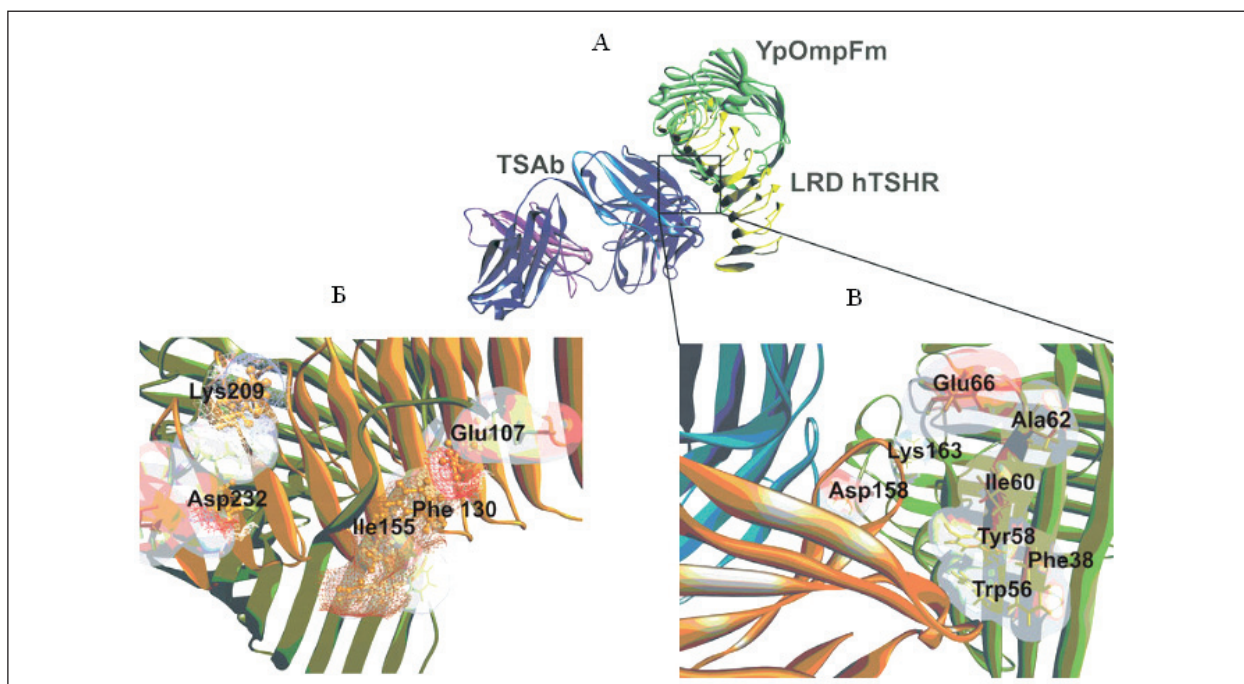


Рисунок 12 – Диаграмма суперпозиции интерфейсов мономера *OmpF* и рТТГ взаимодействующих со стимулирующим антителом к рТТГ (*OmpF* – зеленый, рТТГ – коричневый, антитело – синий) (А).

Участки со сходными характеристиками показаны как сплошные и пунктирные области (Б). АК остатки мономера *OmpF*, которые формируют конформационные антигенные эпитопы, комплекментарные антителу крТТГ, обозначены разными цветами, соответственно заряду (положительные – синие, отрицательные – красные) (В). (Данные авторов)

Заключение

Неспецифические порины клеточной стенки грамотрицательных бактерий детально изучены с помощью различных подходов, включающих кристаллографический анализ, атомно-силовую микроскопию, компьютерное моделирование, а также методы электрофизиологии и биохимии. Это привело к хорошему пониманию процесса

транспортировки низкомолекулярных веществ через клеточную стенку бактерий. Пориновые белки являются отличной моделью для расширения знаний о полном «жизненном цикле» сложных мембранных белков в клетке: от фолдинга до спонтанного разворачивания и/или протеолитического расщепления, и их работы как наномеханизмов. Отдельные аспекты

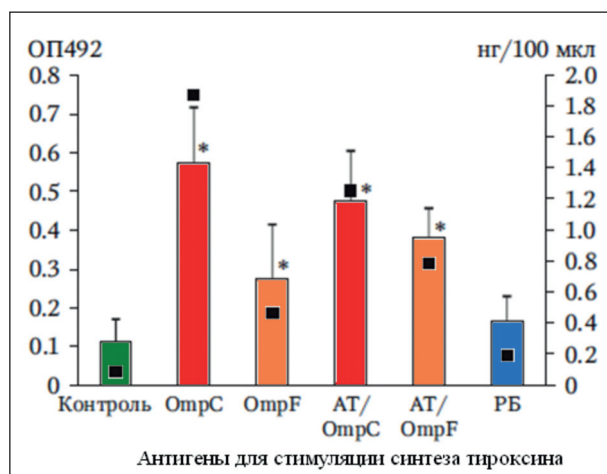


Рисунок 13 – Определение Т4 в сыворотках крови иммунизированных мышей с помощью ИФА, белые столбики – значения оптической плотности (ОП 492 нм) реакции при взаимодействии моноклональных антител к Т4 с тироксином, черные квадраты – содержание Т4 в 100 мкл сыворотки (Т4, нг/100 мкл). Символом * отмечены значения, достоверно отличные от контроля ($p < 0,05$) [70]

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Онищенко Г.Г. Эпидемиологическая обстановка и основные направления борьбы с инфекционными болезнями в Российской Федерации за период 1991–1996 гг // Эпидемиология и инфекц. болезни. 1997. № 3. С. 4–13.
2. Покровский В.М., Онищенко Г.Г., Черкасский Б.Л. Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. М.: Медицина: 2003.
3. Онищенко Г.Г. О государственных мерах по предупреждению распространения в Российской Федерации заболеваемости инфекционными гепатитами // Эпидемиология и инфекц. болезни. 2002. №3. С.4–8.
4. Покровский В.М., Малеев В.В. Актуальные проблемы инфекционной патологии // Эпидемиология и инфекц. болезни. 1999. № 2. С. 17–20.
5. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за январь - сентябрь 1996 года: Официальная информация // Эпидемиология и инфекц. болезни / Госкомсанэпиднадзор России, Российский информационно-аналитический центр. 1997. № 1. С. 64.
6. Чеснокова М.В., Климов В.Т., Никитин А.Я. и др. Анализ эпидемиологической ситуации по псевдотуберкулезу и кишечному иерсиниозу в России и прогноз заболеваемости на среднесрочную перспекти-

функционирования пориновых белков, такие как молекулярные основы и физиологическая подоплека регуляторных процессов, еще предстоит изучить. Практическая сторона исследования пориновых белков бактерий заключается в возможности использования их консервативных трансмембранных эпитопов в качестве видоспецифических антигенов химических и генно-инженерных вакцин, способных обеспечивать протективный иммунитет против грамотрицательных возбудителей опасных инфекций (псевдотуберкулез, легионеллез, чума, сеп, мелиоидоз и др.), в том числе и при ингаляционном заражении. Порины перспективны для разработки ИФА тест-систем для диагностики псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, а также иммунопатологий, обусловленных иерсиниями. Учитывая высокую степень подобия первичных структур поринов иерсиний, можно предполагать, что протективные препараты, созданные на их основе, будут защищать одновременно от инфекций, вызываемых возбудителями кишечного иерсиниоза, псевдотуберкулеза и чумы.

ву // ЗНиСО 2018. № 9. С. 59–64.

7. Черкасский Б.Л. Актуальные проблемы эпидемиологии в конце XX – начале XXI веков. М.: ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, 2004. 50 с.

8. Кутырев В.В. Актуальные проблемы особо опасных инфекционных болезней и санитарная охрана территории в современных условиях // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2008. № 1. С. 17–23.

9. Косилко С.А., Балахонов С.В., Бренёва Н.В. и др. Эпидемиологическая ситуация по зоонозным, природно-очаговым инфекционным болезням в Сибири и на Дальнем востоке в 2013 г. и прогноз на 2014 г. // Проблемы особо опасных инфекц. 2014. Вып. 2. С. 53–57.

10. Сомов Г.П. Иерсиниозная инфекция на современном этапе // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1997. № 5. С. 7–11.

11. Ценева Г.Я., Солодовникова Н.Ю., Воскресенская Е.А. Молекулярные аспекты вирулентности иерсиний // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2002. Т. 4, № 3. С. 248–266.

12. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н., Антоненко Ф.Ф. Псевдотуберкулез. М. Медицина: 2001.

13. Ценева Г.Я., Воскресенская Е.А., Солодовникова Н.Ю. и др. Биологические свойства иерсиний и лабо-

раторная диагностика псевдотуберкулеза и иерсиниоза. Пособие для врачей. СПб.: НИИЭМ им. Пастера. 2001.

14. Сидельникова С. М., Ющенко Г. В., Асеева Э. И. Иерсиниозы как терапевтическая проблема // Терапевт. арх. 2000. № 11. С. 27–30.

15. Ценева Г.Я. Иерсинии и иерсиниозы. СПб. Медмассмедиа, 2006.

16. Granfors K., Merilahti-Palo R., Luukkainen R. et al. Persistence of *Yersinia antigens* in peripheral blood cells from patients with *Yersinia enterocolitica* O:3 infection with or without reactive arthritis // *Arthritis & Rheum.* 1998. V. 41. P. 855–862.

17. Оберт А.С., Хильчук В.П., Гончаренко А.И. Прогностическое значение иммунологической реактивности у детей, больных псевдотуберкулезом // Педиатрия. Журн. им. Г.Н. Сперанского. 1996. № 2. С. 35–38.

18. Воскресенская Е.А., Ценева Г.Я. Иммунологические показатели при патологии, обусловленной иерсиниозами // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1996. № 5. С. 68–73.

19. Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Монахова Н.Е. Варианты иммунопатогенеза острых инфекций у детей. СПб. 2007.

20. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003. V. 67, № 4. P. 593–656.

21. Achouak W., Heulin T., Pages J.P. Multiple facets of bacterial porins // *FEMS Microbiol. Lett.* 2001. V. 199, № 1. P. 1–7.

22. Rawling E.G., Martin N.L., Hancock R.E.W. Epitope mapping of the *Pseudomonas aeruginosa* major outer membrane porin protein OprF // *Infect. Immun.* 1995. V. 63, № 1. P. 38–42.

23. Супотницкий М.В. Эффективное патентование средств специфической профилактики инфекционных заболеваний // Биотехнология. 1997. № 9–10. С. 56–79.

24. Новикова О.Д., Соловьева Т.Ф. Неспецифические порины наружной мембраны грамотрицательных бактерий: структура и свойства // Биол. мембраны. 2009. Т. 26, № 1. С. 6–20.

25. Портнягина О.Ю., Новикова О.Д., Соловьева Т.Ф. Иммунологические свойства неспецифических поринов наружной мембраны грамотрицательных бактерий // Биол. мембраны. 2005. Т. 22, № 5. С. 357–365.

26. Вострикова О.П., Ким Н.Ю., Лихацкая Г.Н. и др. Структура и функция порообразующих белков бактерий рода *Yersinia*. 1. Выделение и сравнительная характеристика физико-химических свойств и функциональной активности поринов иерсиний // Биоорган. химия. 2006. Т. 32, № 4. С. 371–383.

27. Чистюлин Д. К., Новикова О. Д., Портнягина О. Ю. и др. Выделение и характеристика OmpF-подобного порина наружной мембраны *Yersinia ruckeri* // Биол. мембраны. 2012. Т. 29, № 3. С. 1–9.

28. Новикова О.Д., Хоменко В.А., Емельяненко В.И. и др. OmpC-подобный порин из *Yersinia pseudotuberculosis*: молекулярная характеристика, физико-химические и функциональные свойства // Биол. мембраны. 2011. Т. 28, № 1. С. 1–16.

29. Вострикова О.П., Исаева М.П., Лихац-

кая Г.Н. и др. OmpC –подобный порин наружной мембраны *Yersinia enterocolitica*: молекулярная структура и функциональная активность // Биохимия. 2013. Т. 78, № 5. С. 550–560.

30. Новикова О.Д., Федорева Л.И., Хоменко В.А. и др. Влияние способа экстракции порообразующего белка из *Yersinia pseudotuberculosis* на его макромолекулярную организацию // Биоорган. химия. 1993. Т. 19, № 5. С. 536–547.

31. Хоменко В.А., Новикова О.Д., Федорева Л.И. и др. Порин из *Yersinia enterocolitica* O:3. Выделение и характеристика // Биол. мембраны. 1994. Т. 11, № 1. С. 68–79.

32. Novikova O.D., Chistyulin D.K., Khomenko V.A. et al. Peculiarities of thermal denaturation of OmpF porin from *Yersinia ruckeri* // *Molecular BioSystems.* 2017. V. 13. P. 1854–1862.

33. Чистюлин Д.К., Новикова О.Д., Зелепуга Е.А. и др. Аномально высокий потенциал закрытия канала порина OmpF из *Yersinia ruckeri*: роль заряженных остатков и внутримолекулярных связей // *Acta Naturae.* 2019. Т. 11, № 3. С. 42.

34. Bystritskaya E., Stenkova A., Chistuylin D. et al. Adaptive responses of outer membrane porin balance of *Yersinia ruckeri* under different incubation temperature, osmolarity, and oxygen availability // *Microbiology Open.* 2016. V. 5, № 4. P. 597–603.

35. Selinsky B.S. Protein-lipid interactions and membrane function // In: The structure of biological membranes. Yeagle P., ed. Boca Raton: CRC Press. 1992. P. 603–651.

36. Новикова О.Д., Вакорина Т.И., Хоменко В.А. и др. Влияние условий культивирования на пространственную структуру OmpF-подобного порина из наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis* // Биохимия. 2008. Т. 73. С. 173–184.

37. Bogdanov M., Dowhan W., Vitrac H. Lipids and topological rules governing membrane protein assembly // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1843, № 8. P. 1475–1488.

38. Красикова И.Н., Бахолдина С.И., Соловьева Т.Ф. Глюкоза как фактор среды роста, регулирующий липидный состав *Yersinia pseudotuberculosis* // Биохимия. 2001. Т. 66, Вып. 8. С. 1122–1127.

39. Быстрицкая Е.П., Стенкова А.М., Портнягина О.Ю. и др. Регуляция экспрессии главного порина *Yersinia pseudotuberculosis* в условиях антибиотикового стресса // Мол. генетика, микробиол., вирусол. 2014. № 2. С. 17–21.

40. Achtman M., Zurth K., Morelli G. et al. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999. V. 96. P. 14043–14048.

41. Kleinschmidt J.H. Membrane proteins – Introduction // *Cell Mol. Life Sci.* 2003. V. 60, № 8. P. 1527–1528.

42. Likhatskaya G.N., Solov'eva T.F., Novikova O.D. et al. Homology models of the *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis* general porins and comparative analysis of their functional and antigenic regions // *J. Biomol. Struct. Dyn.* V. 23, № 2. P. 163–174.

43. Гордеев А.В., Портнягина О.Ю., Вострико-

ва О.П. и др. патент РФ № 98122085/14, опубл. 20.07.2000, Бюл. № 20.

44. Вострикова О.П., Портнягина О.Ю., Малашенкова В.Г. и др. патент РФ № 98122085/14, опубл. 27.11.2008, Бюл. № 20.

45. Портнягина О.Ю., Вострикова О.П., Хоменко В.А. и др. Апробация иммуноферментной тест-системы на основе белка порина из *Yersinia pseudotuberculosis* для диагностики псевдотуберкулеза (экстраинтестинального иерсиниоза) у детей // Иммунология. 2000. № 2. С. 59–61.

46. Вострикова О.П., Портнягина О.Ю., Хоменко В.А. и др. Новый подход в диагностике иерсиниозов // Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4. № 3. С. 132–133.

47. Портнягина О.Ю., Сидорова О.В., Хоменко В.А. и др. Изучение иммуногенных свойств рекомбинантного OmpF-подобного порина из наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis* // Бюлл. эксп. биол. мед. 2009. № 7. С. 85–88

48. Вострикова О.П., Портнягина О.Ю., Новикова О.Д. и др. Клинико-иммунологическая характеристика больных ревматоидным артритом, ассоциированным с иерсиниозной инфекцией // Рос. аллергол. журн. 2012. №5, вып.1. С. 55–57.

49. Вострикова О.П., Портнягина О.Ю., Хоменко В.А. и др. Новый подход в диагностике иерсиниозов // Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4, № 3. С. 132–133.

50. Вострикова О.П., Портнягина О.Ю., Новикова О.Д. и др. Иммунологическая характеристика вторичных иммунодефицитов, ассоциированных с иерсиниозной инфекцией // Рос. аллергол. журн. 2013. № 2, ч. 2. С. 61–63.

51. Vostrikova O.P., Portnyagina O.Yu., Khomenko V.A. et al. Clinical and immunological characteristic of the diffusion nodale of nontoxic goiter of *Yersinia* etiology // European Science and Technology: materials of the 4th international research and practice conference, Munich, Germany, Apr. 10th–11th, 2013. Munich: Vela-Verlag Waldkraiburg, 2013. Vol. 2. P. 536–544.

52. Дармов И.В., Маракулин И.В., Погорельский И.П. и др. Профилактика экспериментальной псевдотуберкулезной инфекции с помощью иммунизации порином из *Yersinia pseudotuberculosis* // Бюлл. эксп. биол. мед. 1999. Т. 127, № 2. С. 221–223.

53. Портнягина О.Ю., Сидорова О.В., Новикова О.Д. и др. Иммунохимическая характеристика синтетических пептидов, включающих Т- и В-клеточные эпитопы неспецифических поринов патогенных иерсиний // Биоорг. химия. 2010. Т. 36, №6. С. 779–788.

54. Антонец Д.В., Бакулина А.Ю., Портнягина О.Ю. и др. Предсказание антигенно-активных районов OmpF-подобного порина *Yersinia pseudotuberculosis* // Докл. АН. 2007. Т. 414, № 4. С. 1–3.

55. Тимченко Н.Ф., Новикова О.Д., Павлова Т.Н. и др. Протективные свойства порина из внешней мембраны *Yersinia pseudotuberculosis* // Журн. микробиол. 1990. № 11. С. 48–50.

56. Новикова О.Д., Лихацкая Г.Н., Фролова Г.М. и др. Молекулярная организация и биологические свой-

ства иерсинина – порина из псевдотуберкулезного микроба *Yersinia pseudotuberculosis* // Биол. мембраны. 1990. Т. 7, № 5. С. 453–461.

57. Бывалов А.А., Конышев И.В., Новикова О.Д. и др. Адгезивность поринов OmpF и OmpC *Yersinia pseudotuberculosis* к макрофагам J774 // Биофизика. 2018. Т. 63, вып. 5. С. 913–922.

58. Портнягина О.Ю., Кузмич А.С., Хоменко В.А. и др. Индукция синтеза интерлейкинов и активаторов хемотаксиса под действием OmpF порина из *Yersinia pseudotuberculosis* на модели *in vivo* // Цитокины и воспаление. 2019. № 1. С. 1–5.

59. Cusick M.F., Libbey J.E., Fujinami R.S. et. al., Molecular mimicry as a mechanism of autoimmune disease // Clin. Rev. Allergy Immunol. 2012 V. 42, № 1. P. 102–111.

60. Fujinami R.S. Viruses and autoimmune disease—two sides of the same coin? // Trends Microbiol. 2001. V. 9. P. 377–381.

61. Damian R.T. Molecular mimicry: antigen sharing by parasite and host and its consequences // Am. Nat. 1964. V. 98. P. 129–149.

62. Blank M. Molecular Mimicry and Auto-Immunity // Clin. Rev. Allergy Immunol. 2007. V. 32. P.111–118.

63. Corapçioğlu D., Tonyukuk V., Kiyan M. et al. Relationship between thyroid autoimmunity and *Yersinia enterocolitica* antibodies // Thyroid. 2002. V. 12, № 7. P. 613–617.

64. Wenzel B.E., Strieder T.M., Gaspar. E. et al. Chronic infection with *Yersinia enterocolitica* in patients with clinical or latent hyperthyroidism // Adv. Exp. Med. Biol. 2003. V. 529. P. 463–466.

65. Kunihiro T., Chazenbalk G.D., McLaehlan S.M., Rapoport B. Subunit structure of thyrotropin receptors expressed on the cell surface // J. Biol. Chem. 1999. V. 274, № 48. P. 33979–33984.

66. Тимченко Н.Ф., Андрюков Б.Г. Выявление антител к *Yersinia enterocolitica* у пациентов с аутоиммунными тиреопатиями // Инфекц. болезни. 2012. Т. 10, № 4. С. 37–40.

67. Vostrikova O.P., Portnyagina O.Yu., Khomenko V.A. et. al. Clinical and immunological characteristic of the diffusion nodale of nontoxic goiter of *Yersinia* etiology // European Science and Technology: materials of the 4th international research and practice conference, Munich, Germany, Apr. 10th–11th, 2013. Munich: Vela-Verlag Waldkraiburg, 2013; 2:536–544.

68. Wang Z., Zhang Q., Lu J. et. al. Identification of outer membrane porin F protein of *Yersinia enterocolitica* recognized by antithyrotropin receptor antibodies in Grave's disease and determination of its epitope using mass spectrometry and bioinformatics tools // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2010. V. 95, № 8. P. 4012–4020.

69. Portnyagina O., Zelepuga E., Khomenko V. et. al. *In silico* and *in vitro* analysis of cross-reactivity between *Yersinia pseudotuberculosis* OmpF porin and thyroid-stimulating hormone receptor // Int. J. Biol. Macromol. 2018. V. 107(Pt B). P. 2484–2491.

70. Портнягина О.Ю., Голотин В.А., Зелепуга Е.А.

Неспецифические порины *Yersinia pseudotuberculosis* у мышей // Бюлл. эксп. биол. мед. 2018. Т. 166, № 12. как индукторы экспериментального гипертиреоза С. 714–717.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (ТИБОХ ДВО РАН), Проспект 100 лет Владивостоку, д. 159, г. Владивосток, 690022, Российская Федерация.

Новикова Ольга Данииловна. Главный научный сотрудник, д-р хим. наук Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова.

Портнягина Ольга Юрьевна. Старший научный сотрудник, канд. биол. наук Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова.

Вострикова Ольга Павловна. Старший научный сотрудник, канд. хим. наук

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России), Проспект Острякова, д. 2, г. Владивосток, 690002, Российская Федерация.

Иванис Виктория Александровна. Профессор, д-р мед. наук Тихоокеанского государственного медицинского университета

Контактная информация для всех авторов: novolga_05@mail.ru
Контактное лицо: Новикова Ольга Данииловна; novolga_05@mail.ru

Immunotropic and Immunogenic Properties of Nonspecific Yersinia Porins

O.D. Novikova¹, O.Yu. Portnyagina¹, O.P. Vostrikova¹, V.A. Ivanis²

¹G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Prospect 100 let Vladivostoku, 159, Vladivostok 690022, Russian Federation

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (FSBEI HE PSMU MOH Russia), Prospect Ostryakova, 2, Vladivostok, 690002, Russian Federation.

The purpose of the study is to summarize our own data and literature data on the significance of pore-forming proteins of the outer membrane of *Yersinia* as factors of their pathogenicity and as diagnostic and protective antigens, and their role in pathological processes considered non-infectious. In the last decades of the last century, the epidemic significance of intestinal yersiniosis caused by the bacteria of *Yersinia* genus, *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*, which are the «doubles» of the plague pathogen (*Yersinia pestis*) by genetic, cultural, biochemical, and other properties, has significantly increased. It has been established that acute yersiniosis infections without effective treatment can pass into secondary focal forms, leading to the development of systemic diseases that were not previously considered infectious (for example, Grave's disease). They are characterized by multiple organ lesions, dysfunctions of the cardiovascular and nervous systems, musculoskeletal system, urinary system and gastrointestinal tract, which is a consequence of autoimmune processes based on the ability of *Yersinia* to molecular mimicry. The paper shows that porins play a significant role in the development of the infectious process and can be considered as pathogenic factors of bacteria. Together with other components of the outer membrane of gram negative bacteria, they provide adhesion, invasion and colonization of the cells of the host organism by bacteria. Porins can affect a number of eukaryotic cell functions, including cytokine expression, receptor activation, apoptosis induction, and regulation of the actin cytoskeleton. It has been established that pore-forming *Yersinia* proteins are protective antigens. The administration of them to laboratory animals induces the formation of species-specific immunity, which allows us to recommend porin protein as a component of chemical and genetic engineering vaccines. Porins are promising for the development of ELISA test systems for the diagnosis of pseudotuberculosis and intestinal yersiniosis, as well as immunopathologies caused by *Yersinia* bacteria. Given the high degree of similarity of the primary

structures of Yersinia porins, it can be assumed that protective preparations created on their basis will protect against infections caused by intestinal yersiniosis, pseudotuberculosis and plague pathogens.

Keywords: *Graves disease; diagnostic antigen; immunotropic properties; intestinal yersiniosis; molecular mimicry; nanomechanisms; yersinia porins; protective antigen; pseudotuberculosis; recombinant porins; thyrotoxicosis; chemical vaccine; plague.*

For citation: Novikova O.D., Portnyagina O.Yu., Vostrikova O.P., Ivanis V.A. Immunotropic and Immunogenic Properties of Nonspecific Yersinia Porins // *Journal of NBC Protection Corps.* 2019. V. 3. № 4. P. 362–384. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-350-372>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Onishchenko G. G. The epidemiological situation and the main directions of the fight against infectious diseases in the Russian Federation for the period 1991-1996 // *Epidemiol. Infect. Dis.* 1997. №3. P.4–13 (in Russian).
2. Pokrovsky V.M., Onishchenko G.G., Cherkassky B.L. The evolution of infectious diseases in Russia in the XX century. M.: 2003 (in Russian).
3. Onishchenko G.G. On government measures to prevent the spread of infectious hepatitis in the Russian Federation // *Epidemiol. Infect. Dis.* 2002. №3. P. 4–8 (in Russian).
4. Pokrovsky V.M., Maleev V.V. Actual problems of infectious pathology // *Epidemiol. Infect. Dis.* 1999. № 2. P. 17–20 (in Russian).
5. Infectious morbidity in the Russian Federation for January – September 1996: Official information // *Epidemiology and Infectious Diseases / Goskomsanepidnadzor of Russia, Russian Information and Analytical Center.* 1997. № 1. P. 64 (in Russian).
6. Chesnokova M.V., Klimov V.T., Nikitin A.Ya., Yarygina M.B., Innokentieva T.I., Balakhonov S.V. Analysis of the epidemiological situation of pseudotuberculosis and intestinal yersiniosis in Russia and the prognosis of morbidity for the mediumterm // *Public Health and Habitat.* 2018. № 9. P. 59–64 (in Russian).
7. Cherkassky B.L. Modern features of the epidemiology of intestinal infections in the Russian Federation // *Epidemiol. Infect. Dis.* 1997. № 5. P. 12–15 (in Russian).
8. Kutyrev V.V. Actual problems of especially dangerous infectious diseases and sanitary protection of the territory in modern conditions // *Zh. Microbiol., Epidemiol., Immunobiol.* 2008. № 1. P. 17–23 (in Russian).
9. Kosilko S.A., Balakhonov S.V., Brenyova N.V. et al. Epidemiological situation of zoonotic, natural focal infectious diseases in Siberia and the Far East in 2013 and forecast for 2014 // *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2014. Issue. 2. P. 53–57 (in Russian).
10. Somov G.P. Yersiniosis infection at the present stage // *Zh. Microbiol., Epidemiol., Immunobiol.* 1997. № 5. P. 7–11 (in Russian).
11. Tseneva G.Ya., Solodovnikova N.Yu., Voskresenskaya E.A. Molecular aspects of Yersinia virulence // *Clin. Microbiol. Antimicrobial Chemother.* 2002. Vol. 4, №. 3. P. 248–266 (in Russian).
12. Somov G.P., Pokrovsky V.I., Besednova N.N., Antonenko F.F. Pseudotuberculosis. M.: 2001 (in Russian).
13. Tseneva G.Ya., Voskresenskaya E.A., Solodovnikova N.Yu. et al. Biological properties of Yersinia and laboratory diagnosis of pseudotuberculosis and yersiniosis. Manual for doctors. Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg: 2001 (in Russian).
14. Sidelnikova S. M., Yushchenko G. V., Aseeva E. I. Yersiniosis as a therapeutic problem // *Therapeutic Archive.* 2000. № 11. P. 27–30 (in Russian).
15. Tseneva G.Ya. Yersinia and yersiniosis. St. Petersburg. Media: 2006 (in Russian).
16. Granfors K., Merilahti-Palo R., Luukkainen R. et al. Persistence of Yersinia antigens in peripheral blood cells from patients with Yersinia enterocolitica O:3 infection with or without reactive arthritis // *Arthritis & Rheum.* 1998. V. 41. P. 855–862.
17. Obert A.S., Khilchuk V.P., Goncharenko A.I. The prognostic value of immunological reactivity in children with pseudotuberculosis // *G.N. Speransky Pediatrics. Zhurn.* 1996. № 2. P. 35–38 (in Russian).
18. Voskresenskaya E.A., Tseneva G.Ya. Immunological parameters in pathology due to yersiniosis // *Zh. Microbiol., Epidemiol. Immunobiol.* 1996. № 5. P. 68–73 (in Russian).
19. Zheleznikova G.F., Ivanova V.V., Monakhova N.E. Immunopathogenesis options for acute infections in children. St. Petersburg Tome: 2007 (in Russian).
20. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003. V. 67, №. 4. P. 593–656.
21. Achouak W., Heulin T., Pages J.P. Multiple facets of bacterial porins // *FEMS Microbiol. Lett.* 2001. V. 199, № 1. P. 1–7.
22. Rawling E.G., Martin N.L., Hancock R.E.W. Epitope mapping of the *Pseudomonas aeruginosa* major

outer membrane porin protein OprF // Infect. Immun. 1995. V. 63, № 1. P. 38–42.

23. Supotnitsky M.V. Effective patenting of means of specific prophylaxis of infectious diseases // Biotechnology. 1997. № 9-10. P. 56–79 (in Russian).

24. Novikova O.D., Soloviev T.F. Nonspecific porins of the outer membrane of gram negative bacteria: structure and properties // Biol. membrany. 2009. V. 26, № 1. P. 6–20 (in Russian).

25. Portnyagina O.Yu., Novikova O.D., Solovieva T.F. Immunological properties of non-specific porins of the outer membrane of gram negative bacteria // Biol. membrany. 2005. V. 22, № 5. P. 357–365 (in Russian).

26. Vostrikova O.P., Kim N.Yu., Likhatskaya G.N. et al. The structure and function of pore-forming proteins of bacteria of the genus *Yersinia*. 1. Isolation and comparative characteristics of the physicochemical properties and functional activity of *Yersinia* porins // Bioorgan. Khimiya. 2006. V. 32, № 4. P. 371–383 (in Russian).

27. Chistyulin D.K., Novikova O.D., Portnyagina O. Yu. et al. Isolation and characterization of an OmpF-like porin of the outer membrane of *Yersinia ruckeri* // Biol. membrany. 2012. V. 29, № 3. P. 1–9 (in Russian).

28. Novikova O.D., Khomenko V.A., Emelyanenko V.I. et al. OmpC-like porin from *Yersinia pseudotuberculosis*: molecular characterization, physicochemical and functional properties // Biol. membrany. 2011. V. 28, № 1. P. 1–16 (in Russian).

29. Vostrikova O.P., Isaeva M.P., Likhatskaya G.N. et al. OmpC – like porins of the outer membrane of *Yersinia enterocolitica*: molecular structure and functional activity // Biokhimiya. 2013. V. 78, № 5. P. 550–560 (in Russian).

30. Novikova O.D., Fedoreeva L.I., Khomenko V.A. et al. Effect of the method of extraction of a poreforming protein from *Yersinia pseudotuberculosis* on its macromolecular organization // Bioorgan. Khimiya. 1993. V. 19, № 5. P. 536–547 (in Russian).

31. Khomenko V.A., Novikova O.D., Fedoreeva L.I. et al. Porin from *Yersinia enterocolitica* O: 3. Isolation and characterization // Biol. membrany. 1994. V. 11, № 1. P. 68–79 (in Russian).

32. Novikova O.D., Chistyulin D.K., Khomenko V.A. et al. Peculiarities of thermal denaturation of OmpF porin from *Yersinia ruckeri* // Molecular BioSystems. 2017. V. 13. P. 1854–1862.

33. Chistyulin D.K., Novikova O.D., Zelepuga E.A. et al. Abnormally high closing potential of the porin channel OmpF from *Yersinia ruckeri*: the role of charged residues and intramolecular bonds // Acta Naturae. 2019. V. 11, № 3. P. 89–98 (in Russian).

34. Bystritskaya E., Stenkova A., Chistyulin D. et al. Adaptive responses of outer membrane porin balance of *Yersinia ruckeri* under different incubation temperature, osmolarity, and oxygen availability // Microbiology Open. 2016. V. 5, № 4. P. 597–603.

35. Selinsky B.S. Protein-lipid interactions and membrane function // In: The structure of biological membranes. Yeagle P, ed. Boca Raton: CRC Press. 1992. P. 603–651.

36. Novikova O.D., Vakorina T.I., Khomenko V.A.

et al. Influence of cultivation conditions on the spatial structure of OmpF-like porin from the outer membrane of *Yersinia pseudotuberculosis* // Biokhimiya. 2008. V. 73. P. 173–184 (in Russian).

37. Bogdanov M., Dowhan W., Vitrac H. Lipids and topological rules governing membrane protein assembly // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1843, № 8. P. 1475–1488.

38. Krasikova I.N., Bakholdina S.I., Solovyova T.F. Glucose as a growth medium factor regulating the lipid composition of *Yersinia pseudotuberculosis* // Biokhimiya. 2001. V. 66, № 8. P. 1122–1127 (in Russian).

39. Bystritskaya E.P., Stenkova A.M., Portnyagina O.Yu. et al. Regulation of expression of the main porin of *Yersinia pseudotuberculosis* under conditions of antibiotic stress // Mol. Gen., Microbiol. Virol. 2014. № 2. P. 17–21 (in Russian).

40. Achtman M., Zurth K., Morelli G. et al. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis* // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1999. V. 96. P. 14043–14048.

41. Kleinschmidt J.H. Membrane proteins – Introduction // Cell Mol. Life Sci. 2003. V. 60, № 8. P. 1527–1528.

42. Likhatskaya G.N., Solov'eva T.F., Novikova O.D. et al. Homology models of the *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis* general porins and comparative analysis of their functional and antigenic regions // J. Biomol. Struct. Dyn. V. 23, № 2. P. 163–174.

43. Patent RF № 98122085/14 (in Russian).

44. Patent RF № 98122085/14 (in Russian).

45. Portnyagina O.Yu., Vostrikova O.P., Khomenko V.A. et al. Testing an enzyme-linked immunosorbent assay system based on the porin protein from *Yersinia pseudotuberculosis* for the diagnosis of pseudotuberculosis (extraintestinal yersiniosis) in children // Immunology. 2000. № 2. P. 59–61 (in Russian).

46. Vostrikova O.P., Portnyagina O.Yu., Khomenko V.A. and others. A new approach in the diagnosis of yersiniosis // Cytokines and inflammation. 2005. V. 4, № 3. P. 132–133 (in Russian).

47. Portnyagina O.Yu., Sidorova O.V., Khomenko V.A. et al. Study of the immunogenic properties of recombinant OmpF-like porin from the outer membrane of *Yersinia pseudotuberculosis* // Bull. Exp. Biol. Med. 2009. № 7. P. 85–88 (in Russian).

48. Vostrikova O.P., Portnyagina O.Yu., Novikova O.D. et al. Clinical and immunological characteristics of patients with rheumatoid arthritis associated with yersiniosis infection // Ros. Allerg. Zh. 2012. № 5, issue 1. P. 55–57 (in Russian).

49. Vostrikova O.P., Portnyagina O.Yu., Khomenko V.A. et al. A new approach in the diagnosis of yersiniosis // Cytokines and inflammation. 2005. V. 4, № 3. P. 132–133 (in Russian).

50. Vostrikova O.P., Portnyagina O.Yu., Novikova O.D. et al. Immunological characteristics of secondary immunodeficiencies associated with yersiniosis infection // Ros. Allerg. Zh. 2013. № 2, part 2. P. 61–63 (in Russian).

51. Vostrikova O.P., Portnyagina O.Yu., Khomenko V.A. et al. Clinical and immunological

characteristic of the diffusion nodale of nontoxic goiter of *Yersinia* etiology // European Science and Technology: materials of the 4th international research and practice conference, Munich, Germany, Apr. 10th–11th, 2013. Munich: Vela-Verlag Waldkraiburg, 2013. V. 2. P. 536–544.

52. Darmov I.V., Marakulin I.V., Pogorelsky I.P. et al. Prevention of experimental pseudotuberculosis infection by immunization with porin from *Yersinia pseudotuberculosis* // Bull. Exp Biol. Med. 1999. V. 127, № 2. P. 221–223 (in Russian).

53. Portnyagina O.Yu., Sidorova O.V., Novikova O.D. et al. Immunochemical characterization of synthetic peptides, including T- and B-cell epitopes of nonspecific porins of pathogenic *Yersinia* // Bioorgan. Khimiya. 2010. V. 36, № 6. P. 779–788 (in Russian).

54. Antonets D.V., Bakulina A.Yu., Portnyagina O.Yu. et al. Prediction of antigenically active regions of OmpF-like porin *Yersinia pseudotuberculosis* // Dokl. Biochem. Biophys. 2007. V. 414, № 4. P. 1–3 (in Russian).

55. Timchenko N.F., Novikova O.D., Pavlova T.N. et al. Protective properties of porin from the outer membrane of *Yersinia pseudotuberculosis* // Zh. Microbiol., Epidemiol. Immunobiol. 1990. № 11. P. 48–50 (in Russian).

56. Novikova O.D., Likhatskaya G.N., Frolova G.M. et al. Molecular organization and biological properties of yersinin – porin from the pseudotuberculosis microbe *Yersinia pseudotuberculosis* // Biol. Membrany. 1990. V. 7, № 5. C. 453–461 (in Russian).

57. Byvalov A.A., Konyshov I.V., Novikova O.D. et al. Adhesion of OmpF and OmpC porins of *Yersinia pseudotuberculosis* to macrophages J774 // Biophysics. 2018. V. 63, № 5, P. 913–922 (in Russian).

58. Portnyagina O.Yu., Kuzmich A.S., Khomenko V.A. et al. Induction of the synthesis of interleukins and chemotaxis activators under the influence of OmpF porin from *Yersinia pseudotuberculosis* in an in vivo model // Cytokines and inflammation. 2019. № 1 (in Russian).

59. Cusick M.F., Libbey J.E., Fujinami R.S. et al. Molecular mimicry as a mechanism of autoimmune disease // Clin. Rev. Allergy Immunol. 2012 V. 42. № 1. P. 102–111.

60. Fujinami R.S. Viruses and autoimmune disease—two sides of the same coin? // Trends Microbiol. 2001. V. 9. P. 377–381.

61. Damian R.T. Molecular mimicry: antigen sharing by parasite and host and its consequences // Am. Nat. 1964. V. 98. P. 129–149.

62. Blank M. Molecular Mimicry and Auto-Immunity // Clin. Rev. Allergy Immunol. 2007. V. 32. P.111–118.

63. Corapçioğlu D., Tonyukuk V., Kiyan M. et al. Relationship between thyroid autoimmunity and *Yersinia enterocolitica* antibodies // Thyroid. 2002. V. 12, № 7. P. 613–617.

64. Wenzel B.E., Strieder T.M., Gaspar. E. et al. Chronic infection with *Yersinia enterocolitica* in patients with clinical or latent hyperthyroidism // Adv. Exp. Med. Biol. 2003. V. 529. P. 463–466.

65. Kunihiro T., Chazenbalk G.D., McLaehlan S.M., Rapoport B. Subunit structure of thyrotropin receptors expressed on the cell surface // J. Biol. Chem. 1999. V. 274, № 48. P. 33979–33984.

66. Timchenko N.F., Andryukov B.G. Detection of antibodies to *Yersinia enterocolitica* in patients with autoimmune thyroidopathy // Infect. Dis. 2012. V. 10, №. 4. P. 37–40 (in Russian).

67. Vostrikova O.P., Portnyagina O.Yu., Khomenko V.A. et al. Clinical and immunological characteristic of the diffusion nodale of nontoxic goiter of *Yersinia* etiology // European Science and Technology: materials of the 4th international research and practice conference, Munich, Germany, Apr. 10th–11th, 2013. Munich: Vela-Verlag Waldkraiburg, 2013; 2:536–544.

68. Wang Z., Zhang Q., Lu J. et al. Identification of outer membrane porin F protein of *Yersinia enterocolitica* recognized by antithyrotropin receptor antibodies in Grave's disease and determination of its epitope using mass spectrometry and bioinformatics tools // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2010. V. 95, № 8. P. 4012–4020.

69. Portnyagina O., Zelepuga E., Khomenko V. et al. In silico and in vitro analysis of cross-reactivity between *Yersinia pseudotuberculosis* OmpF porin and thyroid stimulating hormone receptor // Int. J. Biol. Macromol. 2018. V. 107(Pt B). P. 2484–2491.

70. Portnyagina O.Yu., Golotin V.A., Zelepuga E.A. et al. Nonspecific porins of *Yersinia pseudotuberculosis* as inducers of experimental hyperthyroidism in mice // Bull. Exp. Biol. Med. 2018. V. 166, № 12. P. 714–717 (in Russian).

Authors

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. Prospect 100-let Vladivostok, 159, Vladivostok 690022, Russian Federation.

Olga Daniilovna Novikova. Chief Researcher. Doctor of Chemical Sciences.

Olga Yurievna Portnyagina. Senior Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Olga Pavlovna Vostrikova. Senior Researcher. Candidate of Chemical Sciences.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (FSBEI HE PSMU MOH Russia), Prospect Ostryakova, 2, Vladivostok, 690002, Russian Federation.

Viktoria Alerandrovna Ivanis. Professjr. Doctor of Medicine.

Contact information for all authors: novolga_05@mail.ru

Contact person: Olga Daniilovna Novikova; novolga_05@mail.ru

Разработка специальных интерактивных обучающих компьютерных программ для подготовки специалистов войск радиационной, химической и биологической защиты

К.П. Кузнецова, С.Н. Солнышков

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«33 ЦНИИИ» Министерства обороны Российской Федерации, 412918,
Российская Федерация, г. Вольск-18, Краснознаменная, д. 1

Поступила 16.03.2019 г. Принята к публикации 17.08.2019 г.

Развитие системы вооружения осуществляется путем внедрения в образцы новых технологий, сложность и дороговизна освоения которых требует повышения интенсивности подготовки личного состава с одновременным снижением материальных и финансовых затрат. В этой связи актуальной задачей является создание условий для массовой подготовки военных специалистов путем разработки системы учебно-тренировочных средств, позволяющих обучаемым в ускоренном порядке приобретать навыки эксплуатации и боевого применения вооружения и средств радиационной, химической и биологической защиты. Для решения этой задачи в рамках Межвидовой комплексной целевой программы «Развитие системы вооружения Сухопутных войск Российской Федерации на период до 2025 г.» разрабатывается подпрограмма по развитию системы технических средств обучения, одной из целей которой является сокращение сроков подготовки соединений и воинских частей Сухопутных войск до необходимого уровня за счет применения компьютерных форм обучения. Проводимые исследования направлены на решение задачи ускоренного обучения военных специалистов и повышения качества освоения новых образцов вооружения и средств войск РХБЗ. Цель проводимого исследования заключается в разработке предложений по совершенствованию организации боевой подготовки посредством внедрения интерактивных обучающих компьютерных программ в состав системы технических средств обучения учебных центров, воинских частей и подразделений войск РХБ защиты, а также в состав автоматизированных рабочих мест членов экипажей специальных машин. В исследованиях использованы диалектический, информационно-аналитический и логические методы, совокупность педагогических, психологических методов, а также методы визуализации цветных материалов и интерактивного обучения. В результате проведенных исследований предложен концептуальный облик интерактивной обучающей компьютерной программы, позволяющей повысить интенсивность подготовки личного состава при приобретении навыков управления приборами специальных машин войск РХБ защиты.

Ключевые слова: интерактивные обучающие компьютерные программы; подготовка; система технических средств обучения; ускоренное обучение; учебно-тренировочные средства.

Библиографическое описание: Кузнецова К.П., Солнышков С.Н. Разработка специальных интерактивных обучающих компьютерных программ для подготовки специалистов войск радиационной, химической и биологической защиты // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 4. С. 373–380. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-373-380>

Повышение эффективности применения образцов военной техники зависит как от улучшения их качественных свойств, так и от уровня подготовки лич-

ного состава, занимающегося их эксплуатацией¹.

Опыт подготовки войск свидетельствует о том, что высшие военные учебные заведения и учебные центры полностью не решают проблему кадрового обеспечения потребностей Вооруженных Сил Российской Федерации по военно-учетным специальностям как в количественном, так и в качественном отношении² [1]. Данная проблема существует и в войсках РХБ защиты. Проведенный анализ показал, что возможности 282 учебного центра войск РХБ защиты по восполнению потребностей соединений и частей по большинству военно-учетных специальностей не превышают 50 % от требуемого количества.

Обучение специалистов войск РХБ защиты организуется и осуществляется в соответствии с программой боевой подготовки войск РХБ защиты, которая реализует основной принцип обучения – от простого к сложному. При этом у обучаемых на начальном этапе формируются знания, что достигается путем теоретической подготовки, затем осуществляется процесс получения навыков посредством практического закрепления полученных знаний с использованием технических средств обучения. В процессе боевого слаживания подразделений, полигонной практики и учений формируются умения.

Наряду с этим, войсковой опыт показывает, что уровень знаний и навыков личного состава после окончания одиночной подготовки недостаточен по причине сложности процесса освоения специальных машин РХБ защиты ввиду наличия широкого перечня оборудования в их составе, а следовательно – необходимости запоминания объемного алгоритма действий, нарушение которого может привести к поломке оборудования и неготовности специальной техники к выполнению задач по предназначению.

Кроме того, современное состояние системы технических средств обучения свидетельствует о том, что большая часть учебно-тренировочных тренажерных комплексов устарела в связи с принятием на вооружение новых образцов техники, а их замена требует значительных финансовых и временных затрат³ [2]. Новейшие военные симуляторы используются в основном только для подготовки элитных подразделений,

а также пилотов и моряков⁴. Совсем другая ситуация наблюдается в обеспечении современными техническими средствами обучения общевойсковых формирований и специальных родов Сухопутных войск.

Также необходимо иметь в виду, что во время эксплуатации и боевого применения военной техники нельзя полностью исключить влияние на состояние расчета различных подавляющих факторов, таких как стрессовые и конфликтные ситуации, недомогание, усталость и др., в связи с чем у членов экипажа (расчета) могут возникнуть сомнения в правильности совершаемых действий при выполнении поставленных задач.

Одним из возможных решений указанных проблем может стать разработка и внедрение специальных интерактивных компьютерных программ, обучающих навыкам работы на новых образцах военной техники и входящем в их состав оборудовании, обеспечивающих выполнение правильного алгоритма действий экипажем (расчетом) в ходе подготовки специальных машин к работе и выполнению боевых задач. Основной идеей данного предложения является создание единой системы технических средств обучения, посредством разработки и внедрения обучающего программного обеспечения, как в центры подготовки военных специалистов, военные факультеты и кафедры, так и в повседневный учебный процесс воинских частей и подразделений, используя компьютерные классы, и непосредственно сами образцы военной техники, путем интеграции учебных программ в состав автоматизированных рабочих мест членов экипажа. Включение обучающей программы в образец техники обеспечит членам экипажа быстрый доступ к необходимой информации и наглядной демонстрации действий по выполнению поставленных задач.

В отличие от дорогостоящих тренажерных технологий, сложность создания и разработки которых не позволяет провести их массовое внедрение в процесс боевой подготовки войск РХБ защиты, интерактивные обучающие компьютерные программы (ИОКП) обладают рядом преимуществ:

- уменьшение финансовых, человеческих, временных ресурсов и производственных мощ-

¹ Юнацкевич П.И. Военное образование: состояние и перспективы развития. Последние новости. 2014. <http://www.scicomcis.spb.ru/poslednie-novosti/243-voennoe-obrazovanie-sostojanie-i-perspektivy-razvitiya.html> (дата обращения: 16.09.2019).

² Там же.

³ Современное состояние боевой подготовки сухопутных войск и требования к ее обеспечению техническими средствами обучения. Военное обозрение. <https://topwar.ru/33807-sovremennoe-sostoyanie-boevoy-podgotovki-suhoputnyh-voysk-i-trebovaniya-k-ee-obespecheniyu-tehnicheskimi-sredstvami-obucheniya.html> (дата обращения: 15.03.2019).

⁴ Шенк В. Компьютерные тренажеры могут поднять на новый уровень качество боевой подготовки // Военно-промышленный курьер – еженедельная газета. <https://vpk-news.ru/articles/4495> (дата обращения: 15.03.2019).



Рисунок 1 – Внедрение ИОКП в систему технических средств обучения специалистов войск РХБ защиты

ностей при разработке и внедрении ИОКП в процесс учебной деятельности;

- повышение мобильности и возможности массового распространения и внедрения посредством обычных носителей информации;
- отсутствие необходимости в проведении пуско-наладочных работ и привлечении высококвалифицированного персонала, а также в периодическом техническом обслуживании;
- развитие практических навыков с одновременной теоретической подготовкой обучаемых.

Развитие системы технических средств обучения специалистов войск РХБ защиты должно быть направлено не только на внедрение сложных тренажерных комплексов нового поколения, которые, безусловно, являются наиболее эффективными элементами данной системы, но при этом обладают серьезными ограничениями в плане доступности, мобильности и эксплуатации неподготовленным пользователем, но и на использование ИОКП, уже доказавших свою эффективность в различных сферах человеческой деятельности (промышленное производство, медицина, транспорт и др.).

При создании ИОКП следует обязательно учитывать психологические факторы, оказывающие влияние на процесс обучения, такие как тип мышления, мотивация, свойства вос-

приятия информации и пр., а также различные педагогические способы подачи обучающего материала – комбинированное воздействие визуальной и аудиальной информации⁵, оттачивание специальных навыков путем многократного повторения учебных действий и др.

Предложения по организации системы технических средств обучения специалистов войск РХБ защиты в графическом виде представлены на рисунке 1.

Рассмотрим концептуальный облик, интерфейс и содержание предлагаемых к разработке интерактивных обучающих компьютерных программ на примере разрабатываемого образца машины радиационной, химической и биологической разведки РХМ-8, что обусловлено наличием широкого перечня специального оборудования, навигационной и приемо-передающей аппаратуры в ее составе.

При запуске программы появляется «Главное меню», содержащее основные разделы обучающего курса (рисунок 2).

Первый раздел «Знакомство с РХМ-8» представляет собой: 3D модель машины вместе с установленным снаружи специальным оборудованием; подробное описание образца техники, включая предназначение, выполняемые задачи, тактико-технические и другие характери-

⁵ Исследования показывают, что человек запоминает 25 % информации, полученной им в зрительной форме (визуальной информации), и 15 % информации, получаемой в речевой форме (аудиальной вербальной информации). Если использовать одновременно оба эти способа передачи информации, человек воспримет ее до 65 %. См.: Есина Е.В. Психологические факторы, влияющие на процесс обучения: Педагогическая психология / Конспект лекций. <https://psy.wikireading.ru/5757#soder> (дата обращения: 24.01.2019).

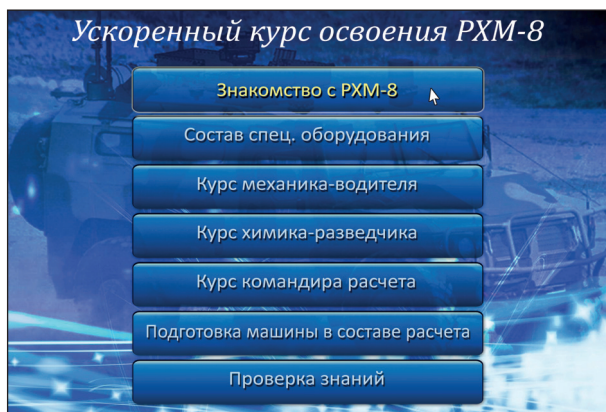


Рисунок 2 – Главное меню обучающей компьютерной программы

стики; аудио вариант данного описания; видео материалы (рисунок 3А). В целях обеспечения быстрого доступа и комфортной работы в процессе обучения во всех разделах предусмотрены интуитивно понятные элементы управления (кнопки, ссылки на связанные разделы, всплывающие подсказки, поиск и др.)



Второй раздел содержит перечень специального оборудования, входящего в состав РХМ-8. Каждый комплекс приборов или отдельный прибор имеет 3D модель, позволяющую изучить его с разных сторон, описание в текстовом и аудио варианте, фото и видео материалы. После визуального и теоретического ознакомления с прибором можно перейти к его подробному изучению с помощью кнопки «Обучение» (рисунок 3Б).

Третий, четвертый и пятый разделы аналогичны по своему содержанию и представляют собой курсы подготовки специалистов по различным военным специальностям.

Например, при переходе на страницу четвертого раздела обучаемый видит панель управления приборами, в точности соответствующую месту химика-разведчика в реальном образце техники. Высокое качество детализации приборов (рекомендуется использование 3D-интерфейса), возможность их увеличения и всплывающие подсказки позволят сориентироваться на данной панели (рисунок 3В).

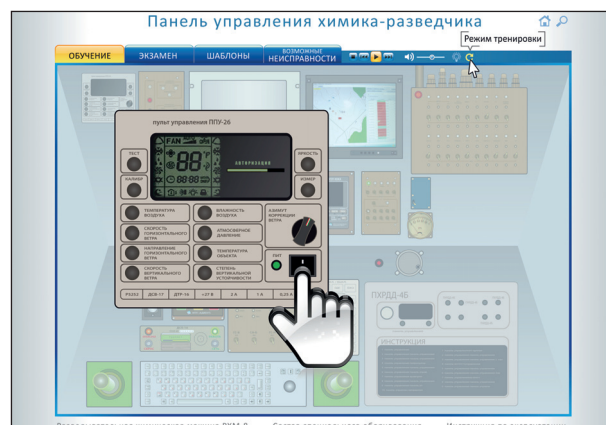
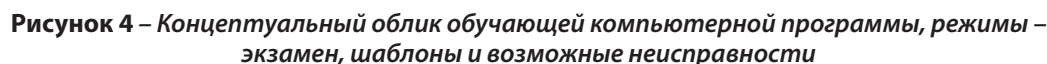


Рисунок 3 – Концептуальный облик интерактивной обучающей компьютерной программы (А – 1 раздел программы «Знакомство с РХМ-8»; Б – 2 раздел программы «Состав специального оборудования»; В – 4 раздел «Курс химика-разведчика», панель управления приборами автоматизированного рабочего места химика-разведчика, выбор темы урока в режиме обучения; Г – 4 раздел «Курс химика-разведчика», интерактивное взаимодействие с приборами в режиме обучения и тренировки)



Для начала процесса обучения необходимо перейти в первую вкладку и выбрать вопрос для изучения из предлагаемого списка, сформированного таким образом, чтобы пользователь мог быстро ориентироваться в нем.

Вкладка «Экзамен» позволяет проверить уровень приобретенных знаний обучаемых по изученному вопросу или группе вопросов, произвести дополнительные настройки параметров, таких как отведенное время, порядок появления вопросов, уровень сложности и ряда других, а также создавать шаблоны проверочных заданий на основе пройденного материала для различных групп обучаемых (рисунки 4А, 4Б).

По итогам выполнения обучаемым теоретических и практических задач экзамена формируется и выводится на экран оценка, зависящая от качества их решения и количества затраченного при этом времени. Задачи, в процессе выполнения которых время истекло или допущены ошибки, считаются невыполненными и также выводятся на экран, чтобы обучаемый и руководитель занятий знали, какой материал требует повторного изучения.

Вкладка «Шаблоны» предназначена для создания готовых наборов вопросов и задач для режимов обучения и проверки знаний, обладающих

Таблица 1 – Ориентировочные финансовые затраты на разработку ИОКП*

Наименование статьи расходов	Оплата труда, тыс. руб.	
	2D графика в режиме обучения, тренировки и экзамена	3D графика в режиме обучения, тренировки и экзамена
Руководитель проекта	200	500
Методист	100	150
Дизайнер	150	100
Дизайнер 3D-интерфейса	-	500
Программист	200	150
Проектировщик 3D-взаимодействия	-	500
Фотограф	35	35
Итого	685	1935

*Данные по оплате труда представленных в таблице специалистов составлены, исходя из стоимости соответствующих услуг на интернет сайтах fl.ru, webblancer.net

индивидуальными дополнительными настройками (рисунок 4В), а вкладка «Возможные неисправности» содержит материалы по диагностике и устранению причин поломок специальной аппаратуры, возникающих в ходе ее эксплуатации (рисунок 4Г).

В шестом разделе находятся необходимые материалы для изучения и отработки алгоритма совместных действий всех членов экипажа при подготовке машины к работе, а раздел «Проверка знаний» обеспечивает быстрый доступ к вкладкам «Экзамен» и «Шаблоны».

При создании подобных ИОКП целесообразно учесть следующие обязательные требования:

- возможность работы в среде операционных систем на базе Windows и операционных систем специального назначения (Astra Linux);
- работоспособность программы на ПЭВМ с невысокими системными параметрами (двухъядерный процессор, 2 Гб ОЗУ, видеокарта уровня NVIDIA GeForce GTS 250, стандартные аудиоустройства);
- отсутствие необходимости в установке дополнительных программ для просмотра текстовых, графических и видеоматериалов данного обучающего продукта;
- унификация и структуризация программных, графических решений интерфейса и учебного материала для каждого образца военной техники войск РХБ защиты.

Внедрение предлагаемых компьютерных программ в систему технических средств обучения войск РХБ защиты позволит:

- повысить качество и интенсивность подготовки специалистов и переподготовки военнослужащих запаса;
- автоматизировать контроль качества знаний обучающихся;
- снизить вероятность выхода из строя по причине поломки специального оборудования реальной военной техники;

- минимизировать затраты на производство, внедрение и эксплуатацию новых технических средств обучения;

- усовершенствовать учебную и материально-техническую базу воинских частей, учебных центров, военных факультетов и кафедр;

- сформировать у обучаемых навыки самостоятельной работы с учебными материалами;

- исключить необходимость привлечения дополнительных материальных средств (плакатов, макетов, образцов и т.п.) в процессе обучения.

Основные финансовые затраты на разработку ИОКП включают в себя оплату труда руководителя проекта, методиста (отвечающего за учебные материалы), дизайнеров, программистов и фотографа.

С учетом проводимого технического перевооружения войск РХБ защиты новыми и разрабатываемыми образцами и комплексами применение подобных обучающих программ позволит повысить интенсивность и эффективность подготовки военных специалистов по существующим военно-учетным специальностям, а также поможет решить проблему подготовки операторов беспилотных летательных аппаратов и робототехнических комплексов военного назначения.

Научно-промышленные объединения и предприятия, занимающиеся разработкой специального программного обеспечения военного назначения, тренажерных комплексов, перспективных образцов военной техники в рамках опытно-конструкторских работ (ОКР), как правило, сотрудничают или имеют свою команду специалистов, способных справиться с технической составляющей создания предлагаемого программного продукта. Методическую сторону вопроса необходимо решать совместно с научно-исследовательскими организациями, сопровождающими соответствующие ОКР, а также специалистами,

имеющими большой опыт обслуживания и эксплуатации данного вида техники.

В связи с вышеизложенным, требования по разработке и внедрению подобных ИОКП целесообразно задавать на стадии согласования тактико-технического задания на ОКР по разработке специальных машин, сложность освоения которых требует серьезной подготовки личного состава.

Таким образом, в результате проведенных исследований сформированы предложения по совершенствованию системы технических средств обучения специалистов войск РХБ защиты посредством создания и интеграции специальных интерактивных обучающих компьютерных программ в процесс обучения как

в учебных центрах, на военных факультетах и кафедрах, так и в воинских частях и подразделениях РХБ защиты.

Реализация разработанных предложений в перспективе позволит:

- повысить интенсивность подготовки и эффективность действий личного состава при приобретении навыков пользования приборами и эксплуатации специальных машин войск РХБ защиты;
- создать непрерывную систему обучения непосредственно в воинских частях и подразделениях;
- обеспечить условия для качественного освоения новых образцов техники при принятии их на вооружение.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Селуянов А.А. Актуальные проблемы системы военного образования: пути и методы решения // Современные проблемы науки и образования. 2007. № 2. С. 80-84.

2. Ляпин В., Баканов Г. Современные тенденции развития технической основы боевой подготовки Вооруженных Сил Российской Федерации // Арсенал Отечества. 2014. № 4(12).

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «33 ЦНИИИ» Министерства обороны Российской Федерации. 412918, Российская Федерация, Саратовская обл., г. Вольск-18, Краснознаменная, д. 1.

Кузнецова Ксения Петровна. Младший научный сотрудник.

Солнышков Сергей Николаевич. Заместитель начальника научно-исследовательского отдела – начальник группы, канд. воен. наук.

Контактная информация для всех авторов: 33cnii-fes@mil.ru
Контактное лицо: Кузнецова Ксения Петровна; 33cnii-fes@mil.ru

The Development of Special Interactive Teaching Computer Programs for the Training of the Specialists of Radiological, Chemical and Biological Defence Troops

K.P. Kuznetsova, S.N. Solnyshkov

*Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute»
of the Ministry of Defence of the Russian Federation, 1 Krasnoznamennaya Street,
Volsk-18, Saratov Region 412918, Russian Federation*

The development of any weapon system is carried out by the implementation of new technologies into the military equipment. The complexity and costliness of their adaptation require the increase of the intensity of personnel training with the simultaneous reduction of material and financial costs. In this connection, it is an urgent task to arrange the conditions for the mass training of military specialists by the elaboration of the training facilities system that allow the trainees to acquire proper skills of the maintenance and combat employment of the weapons and the equipment of radiological, chemical and biological (RChB) defence in an accelerated manner. In order to solve this problem, the subprogram of the development of the system of technical means of training is developed within the framework of the Interspecific complex target program «The Development of the weapon system of the Russian Federation Land forces for the period to 2025». One of the purposes of this subprogram is to reduce the period of training of formations and military units of the Land forces to the required level with the help of computer-based forms of training. The conducted research is aimed at the solution of the problem of the accelerated education of military specialists and at the improvement of the quality of adaptation of new arms and equipment of RChB defence. The purpose of our study is to develop the proposals for the improvement of the organization of combat training by the introduction of interactive teaching computer programs into the system of technical means of training in the educational centers, military units of RChB defence, as well as into the computer work-stations of the special vehicles. The research uses dialectical, informational, analytical and logical methods, a complex of pedagogical and psychological methods, as well as methods of visualization of color materials and interactive learning. We propose the concept of an interactive teaching computer program, which allows to increase the intensity of training of RChB defence troops personnel.

Keywords: *interactive teaching computer programs; training; system of technical means of training; accelerated education; training facilities.*

For citation: Kuznetsova K.P., Solnyshkov S.N. *The Development of Special Interactive Teaching Computer Programs for the Training of the Specialists of Radiological, Chemical and Biological Defence Troops* // *Journal of NBC Protection Corps*. 2019. V. 3. № 4. P. 385–392. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-373-380>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Seluyanov A.A. The actual problems of the system of military education: ways and methods of solving // *Modern Issues of Science and Education*. 2007. № 2. P. 80–84.
2. Lyapin V., Bakanov G. The modern trends in the development of the technical basis of combat training of the Armed forces of the Russian Federation // *Arsenal of Motherland*. 2014. № 4 (12).

Authors

Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, 1 Krasnoznamennaya Street, Volsk-18, Saratov Region 412918, Russian Federation

Ksenia Petrovna Kuznetsova. Junior Researcher.

Sergei Nikolayevich Solnyshkov. Deputy Head of the Scientific and Research Department – Head of the Group, Candidate of Military Sciences.

Contact information for all authors: 33cnii-fes@mil.ru

Contact person: Ksenia Petrovna Kuznetsova; 33cnii-fes@mil.ru

Что следует знать при патентовании изобретений, созданных в войсках радиационной, химической и биологической защиты

М.В. Супотницкий

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ),
105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Поступила 06.07.2019 г. Принята к публикации 17.10.2019 г.

Патентование изобретений лежит в основе независимости Российской Федерации в области высоких технологий, в том числе имеющих двойное применение. Российская патентная система современна, встроена в существующие международные соглашения и обеспечивает российским изобретателям и патентовладельцам все возможности для конкуренции на российских и мировых рынках высоких технологий. Цель работы – рассмотреть основные подходы к правовой охране изобретений в Российской Федерации, незнание которых становится препятствием на пути эффективного патентования изобретений, создаваемых в НИО войск РХБ защиты. В работе подробно объяснены те разделы нормативных актов, незнание которых препятствует своевременному проведению экспертизы по существу (неправильное название изобретения; не указание назначения изобретения и ближайшего аналога; непонимание того, что является технической проблемой, а что – техническим результатом и существенными признаками в формуле изобретения и др.). Разъяснены процедура патентования секретных изобретений, их правовой статус и условия, в которых возможно осуществление исключительных прав владельцев таких патентов. На примере патентования антидотов в отношении токсических фосфорорганических соединений на основе органофосфатгидролазы показана внутренняя логика, присущая созданию любых объектов промышленной собственности, которую надо учитывать при патентовании изобретений. Причинами затягивания процедуры рассмотрения изобретений на этапе экспертизы по существу и неэффективности патентования изобретений в целом в войсках РХБ защиты являются исключительно субъективные факторы – слабое знание руководителями и исполнителями НИР и НИОКР российской патентной системы, приказов министра обороны в данной области, а также отсутствие собственной мотивации в противостоянии патентной колонизации России.

Ключевые слова: изобретение; интеллектуальная собственность; патент на изобретение; патентная система; патентная политика; промышленная собственность; секретное изобретение; служебное изобретение; экспертиза по существу.

Библиографическое описание: Супотницкий М.В. Что следует знать при патентовании изобретений, созданных в войсках радиационной, химической и биологической защиты // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 4. С. 381-393. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-381-393>

Патентование изобретений лежит в основе независимости любой страны в области высоких технологий, в том числе имеющих двойное применение. Анализ запросов патентной экспертизы по существу по заявкам на изобретения научно-исследовательских организаций

(НИО) войск радиационной, химической и биологической (РХБ) защиты за последние пять лет показал, что их качество оставляет желать лучшего, а изобретательская активность значительно ниже тех показателей, которые могут быть достигнуты. Цель работы – рассмотреть

основные подходы к правовой охране изобретений в Российской Федерации, незнание которых становится препятствием на пути эффективного патентования изобретений, создаваемых в НИО войск РХБ защиты.

Основные подходы к правовой охране изобретений в Российской Федерации. Ст. 1225 Гражданского кодекса Российской Федерации (ГК РФ)¹ относит изобретение к результатам интеллектуальной деятельности, которым предоставляется правовая охрана, т.е. изобретение является интеллектуальной собственностью конкретного юридического и/или физического лица. На результаты интеллектуальной деятельности признаются интеллектуальные права (ст. 1226 ГК РФ). Интеллектуальные права на изобретения являются *патентными правами*. Автору изобретения принадлежат следующие права: 1) исключительное право – если он патентовладелец; 2) право авторства – если он не является патентовладельцем, а только изобретателем; 3) также другие права, в том числе право на получение патента, право на вознаграждение за служебное изобретение (ст. 1345 ГК РФ).

Исключительное право на изобретение признается и охраняется при условии его государственной регистрации, на основании которой федеральный орган исполнительной власти по интеллектуальной собственности (Роспатент)² выдает патент (ст. 1353 ГК РФ).

Патент удостоверяет приоритет изобретения, авторство и исключительное право на изобретение. Охрана интеллектуальных прав на изобретение предоставляется на основании патента в объеме, определяемом содержащейся в патенте *формулой изобретения* (ст. 1354 ГК РФ). Исключительным правом на изобретение может распоряжаться только патентообладатель, т.е. физическое или юридическое лицо, которому принадлежит патент на изобретение (ст. 1358). Патентообладатель может по своему усмотрению разрешать или запрещать другим лицам использование изобретения. Другие лица не могут его использовать без согласия патентообладателя, за исключением случаев, предусмотренных ГК РФ (ст. 1229 ГК РФ). Патентообладатель может распорядиться принадлежащим ему исключительным правом на изобретение

любым, не противоречащим закону способом, включая его отчуждение по договору другому лицу (договор об отчуждении исключительного права) или предоставления другому лицу права использования соответствующего результата интеллектуальной деятельности или средства индивидуализации в установленных договором пределах (лицензионный договор) (ст. 1233 ГК РФ). Срок действия исключительного права на изобретение в России ограничен двадцатью годами (ст. 1363 ГК РФ).

Право авторства, т.е. право признаваться автором изобретения неотчуждаемо и непередаваемо, в том числе при передаче другому лицу или переходе к нему исключительного права на изобретение и при предоставлении другому лицу права его использования (ст. 1356 ГК РФ).

Определение изобретения. Прямого определения в российском законодательстве нет, что является наследием Патентного закона Германии от 1891 г.³ Статья 1350 ГК РФ приводит только условия патентоспособности изобретения. В качестве изобретения охраняется *техническое решение* в любой области, относящееся к *продукту* (в частности, устройству, веществу, штамму микроорганизма, культуре клеток растений или животных) или *способу* (процессу осуществления действий над материальным объектом с помощью материальных средств), в том числе к *применению продукта или способа по определенному назначению*⁴. Изобретению предоставляется правовая охрана, если оно является *новым*, имеет *изобретательский уровень* и *промышленно применимо*. Не являются изобретениями: 1) открытия; 2) научные теории и математические методы; 3) решения, касающиеся только внешнего вида изделий и направленные на удовлетворение эстетических потребностей; 4) правила и методы игр, интеллектуальной или хозяйственной деятельности; 5) программы для ЭВМ; 6) решения, заключающиеся только в представлении информации (п. 5 ст. 1350 ГК РФ). Не предоставляется правовая охрана и в случае, когда сущность изобретения не раскрыта в документах заявки, предусмотренных п.п. 1–4 п. 2 ст. 1375 ГК (правильно составленное заявление; описание изобретения, раскрывающее его сущность с полнотой, достаточной для его осуществления специалистом в

¹ Гражданский кодекс Российской Федерации, часть IV // http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_64629/ (дата обращения 18.08.2019).

² Роспатент – Федеральная служба по интеллектуальной собственности. Находится в ведении Министерства экономического развития Российской Федерации – см. <https://rulpto.ru/ru/about> (дата обращения 20.09.2019).

³ Кузьмина О.М. Критерии и объем патентной охраны по законодательству Германии и России. Автореф. дис. канд. юрид. наук. М. 2002.

⁴ Объектом патентных прав «...применение продукта или способа по определенному назначению» стало в редакции ГК РФ по федеральному закону от 12.03.2014 № 35-ФЗ. Более подробно см. в работе А.А. Елапова с соавт. [1].

данной области техники; формула изобретения, ясно выражающая его сущность и полностью основанная на его описании; чертежи и иные материалы, если они необходимы для понимания сущности изобретения).

Секретное изобретение. Правовая охрана секретных изобретений регулируется статьями § 7 ГК РФ. Такой правовой механизм применяется в Российской Федерации с 1 января 2004 г. и в основном отражает ментальность разработчиков новой техники, сложившуюся в советское время.⁵ Секретные изобретения, равно как и несекретные, подлежат регистрации в Государственном реестре и на них выдается *патент*. Государственную услугу по организации рассмотрения заявок и выдачи патентов на секретные изобретения, относящиеся к средствам вооружения и военной техники, осуществляет Министерство обороны Российской Федерации в соответствии с Регламентом, утвержденным приказом Министра обороны РФ от 23.07.2012 № 2020⁶.

Общий срок предоставления этой государственной услуги, включающий прием, регистрацию, экспертизу заявки, принятие и направление заявителю решения по заявке, с учетом срока ведения почтовой переписки не должен превышать *девятнадцати месяцев со дня регистрации заявки*, если ходатайство о проведении экспертизы заявки по существу подано одновременно при подаче заявки и в процессе экспертизы заявки не выявлены обстоятельства, препятствующие проведению экспертизы, требующие направления заявителю запроса. Началом срока предоставления государственной услуги является день регистрации заявки. Концом срока предоставления государственной услуги является день принятия по заявке одного из решений, указанных в п. 6 Регламента МО: решение о выдаче патента на изобретение; решение об отказе в выдаче патента на изобретение; решение о признании заявки на изобретение отозванной; уведомление об отзыве заяв-

ки по просьбе заявителя.

Уведомление о положительном результате формальной экспертизы либо запрос по результатам формальной экспертизы направляется заявителю в срок, не превышающий двух месяцев со дня поступления документов заявки в уполномоченный орган. Если по заявке требуется направление запроса (п. 4 ст. 1384, п. 5 ст. 1386 ГК РФ), срок предоставления государственной услуги увеличивается на срок ведения переписки с заявителем, включая срок почтовой переписки, срок рассмотрения запроса заявителем и срок рассмотрения должностным лицом дополнительных материалов, представленных заявителем в ответ на запрос, составляет не более *двух месяцев*.

Ходатайство о проведении экспертизы заявки по существу может быть подано сразу или в течение *трех лет* с даты подачи заявки в Министерство обороны. По результатам экспертизы заявки по существу заявителю направляется исходящий документ экспертизы (их три: решение, уведомление, запрос; т.е. никаких актов, заключений и пр. местечкового творчества Регламент МО не предусматривает) не позднее *12 месяцев* со дня направления уведомления об удовлетворении ходатайства о проведении экспертизы заявки по существу. Ответ на запрос или уведомление экспертизы, а также дополнительные материалы, представленные заявителем по собственной инициативе, рассматриваются в срок не более *2 месяцев* (п.п.23.1 и 23.2 Регламента МО).

Выбирая процедуру патентования, важно понимать, что осуществление исключительных прав владельцев патентов на секретные изобретения российская патентная система допускает только в режиме секретности (п. 1 ст. 1405 ГК РФ). Это означает, что их использование возможно исключительно на предприятиях, учреждениях или организациях, имеющих ли-

⁵ С XVIII в., когда началось формирование патентных систем промышленно развитых государств, *патентование рассматривалось как способ противодействия промышленному шпионажу* путем обеспечения изобретателю гласной монополии на определенный объект в течение оговоренного отрезка времени. Во многих странах были, есть и будут секретные изобретения. Но такие изобретения не охраняются патентами. Права их владельцев при их передаче «третьим лицам» охраняются другими способами, например, договором на «ноу-хау» [2]. Более подробно о передаче секретных технологий договорами на «ноу-хау» см. в работе Г. Штрумпа [3]. Другая альтернатива – создание зонтичных и маскирующих патентов, показана в работе Д.Ю. Соколова [4].

⁶ Приказ Министра обороны РФ от 23.07.2012 № 2020 «Об утверждении Административного регламента предоставления Министерством обороны Российской Федерации государственной услуги по организации рассмотрения заявок и выдачи патентов на секретные изобретения, относящиеся к средствам вооружения и военной техники» – далее Регламент МО (зарегистрирован в Минюсте России 20.08.2012 № 25222). Положения Регламента МО распространяются на организацию приема, рассмотрения и экспертизы заявок на выдачу патентов на изобретения, для которых установлена степень секретности «особой важности», «совершенно секретно» и «секретно» и которые относятся к средствам вооружения и военной техники. (см. http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_134398/; дата обращения 18.08.2019). Промышленные образцы и полезные модели под действия регламента не подпадают [5].

цензии на проведение работ с использованием сведений соответствующей степени секретности, и сотрудниками с соответствующим допуском (ст. 17 Закона «О государственной тайне»). Нарушением исключительного права обладателя патента на секретное изобретение не является его использование лицом, которое не знало и не могло на законных основаниях знать о наличии секретного патента на данное изобретение (п. 5 ст. 1405 ГК РФ). В соответствии с п. 2 ст. 1350 ГК РФ, в уровень техники несекретного изобретения, который исследует экспертиза по существу, включаются любые сведения, ставшие *общедоступными* в мире до даты приоритета изобретения (!), т.е. патент на секретное изобретение не входит в исследуемый экспертизой уровень техники несекретного изобретения. Следовательно, его наличие не гарантирует соблюдения исключительного права его обладателя третьими лицами, действующими вне режима секретности⁷. По мнению А.А. Лобастова с соавт., существующая модель правового регулирования в сфере секретных изобретений предопределяет, по сути, фиктивность их патентной защиты [6].

Служебное изобретение. Если изобретение создано работником в связи с выполнением своих трудовых обязанностей или конкретного задания работодателя, то оно признается служебным. За работником сохраняется право авторства, но исключительное право на служебное изобретение и право на получение патента принадлежат работодателю, если трудовым или иным договором между работником и работодателем не предусмотрено иное. Работник должен *письменно уведомить работодателя о*

создании в связи с выполнением своих трудовых обязанностей или конкретного задания работодателя такого результата, в отношении которого возможна правовая охрана. Работодатель *в течение четырех месяцев* со дня уведомления его работником должен либо подать заявку на выдачу патента на соответствующие служебное изобретение, либо передать право на получение патента другому лицу, либо сообщить работнику о сохранении информации о результате интеллектуальной деятельности в тайне. В ином случае право на получение патента принадлежит работнику (ст. 1370 ГК РФ).⁸

Патентование служебных изобретений в Вооруженных Силах Российской Федерации не ведется случайным образом, а осуществляется в форме патентной политики. Ее координатором в рамках Вооруженных Сил является Управление интеллектуальной собственности, военно-технического сотрудничества и экспертизы поставок вооружения и военной техники Министерства обороны Российской Федерации (УИС МО РФ). Случаи, в которых целесообразна подача заявки на выдачу патента на служебное изобретение, определены «Инструкцией по организации изобретательской, рационализаторской и патентно-лицензионной деятельности в Вооруженных Силах Российской Федерации» (далее – Инструкция)⁹:

- использование изобретения повлечет экономическую (техническую) эффективность при использовании в пределах органа военного управления;
- использование изобретения потенциально повлечет экономическую (техническую) эффективность при использовании в

⁷ Простой условный пример. Предположим, конструкторами предприятия решена техническая проблема сверхпрочности гусеницы танка и получен секретный патент на такую гусеницу. Он может не только быть обойденным, но и блокированным таким же по сути, но несекретным патентом на сверхпрочную гусеницу для гусеничной техники (тракторы, экскаваторы, лесопогрузчики и т.п.). Как один из вариантов выполнения изобретения танк можно даже не указывать в примерах конкретного выполнения изобретения. Понятие «гусеничная техника» шире, чем «танк» – закон обратного соотношения между содержанием и объемом понятия. Согласно п. 5 ст. 1405 ГК РФ, только после рассекречивания изобретения или уведомления указанного лица патентообладателем о наличии патента на данное изобретение это лицо должно прекратить использование изобретения или заключить с патентообладателем лицензионный договор, кроме случая, когда имело место право преждепользования. Но и тогда владелец патента на гусеницу для гусеничной техники имеет широкое поле для маневра в суде, так как свой патент он получил законно, а право преждепользования (ст. 1361 ГК РФ) может охватить такой объем уже отлаженного производства, что владельцу рассекреченного патента проще будет встать к нему в очередь за простой неисключительной лицензией, чем налаживать производство самому. Кроме того, патентование секретных изобретений внутри страны не может защитить экспортируемую технику от реинжиниринга при поставках за рубеж.

⁸ Это требование п. 4 ст. 1370 ГК РФ создает возможность присвоения коммерчески значимого служебного изобретения его авторами, например, в случае затягивания процесса его рассмотрения свыше четырех месяцев в органах военного управления на предмет возможности открытого опубликования. И еще одно важное требование п. 5 ст. 1370, которое необходимо иметь в виду при планировании НИР: «Изобретение, полезная модель или промышленный образец, созданные работником с использованием денежных, технических или иных материальных средств работодателя, но не в связи с выполнением своих трудовых обязанностей или конкретного задания работодателя, не являются служебными». Следовательно, рабочие программы по НИР и ОКР, с которыми знакомятся сотрудники, должны включать указания на создание конкретных служебных изобретений.

⁹ Утверждена приказом Министра обороны Российской Федерации № 313 от 05.06.2019 г.

иных органах военного управления (воинских частях);

- потенциальной заинтересованности сторонних организаций в заключении договоров об отчуждении исключительного права или лицензионных договоров о предоставлении права использования (распоряжения) служебными изобретениями;

- получение патента на служебные изобретения (приобретение исключительных прав на изобретения) целесообразно для создания научно-технического задела и(или) сохранения научного (технологического) преимущества перед сторонними организациями в конкретной области науки и техники.¹⁰

Экспертиза изобретений. В российском патентном праве предусмотрена гибкая процедура «отсроченной экспертизы»¹¹. Ее смысл состоит в том, что рассмотрение заявки на изобретение проходит две стадии: *формальная (предварительная)* экспертиза заявки, т.е. проверка ее на соответствие формальным требованиям. Через 18 мес. со дня приоритета не-секретной заявки производится ее выкладка и опубликование в официальном бюллетене для всеобщего сведения. С этого момента (п. 1 ст. 1385 ГК РФ) и до даты публикации сведений о выдаче патента (ст. 1394 ГК РФ) на изобретение устанавливается временная правовая охрана в объеме опубликованной формулы изобретения, но не более, чем в объеме, определенном формулой, содержащейся в решении Роспатента о выдаче патента на изобретение. *Экспертиза по существу* осуществляется Роспатентом при подаче заявки на изобретение или в течение трех лет с даты подачи этой заявки, при условии завершения формальной экспертизы этой заявки с положительным результатом и по ходатайству заявителя или третьих лиц (п. 1 ст. 1386 ГК РФ). Экспертиза по существу секретных изобретений, относящихся к средствам вооружения и военной техники, осуществляется в те же сроки МО РФ в соответствии с Регламентом МО.

Если в результате экспертизы заявки на изобретение по существу установлено, что заявленное изобретение, которое выражено формулой, предложенной заявителем, не относится к объектам, указанным в п. 4 ст. 1349 ГК РФ, соответствует условиям патентоспособности, предусмотренным ст. 1350 ГК РФ, и сущность заявленного изобретения в документах заявки, предусмотренных пп. 1–4 п. 2 ст. 1375 ГК РФ и представленных на дату ее подачи, раскрыта с полнотой, достаточной для осуществления изобретения, Роспатент (Министерство обороны – секретные изобретения, относящиеся к средствам вооружения и военной техники) принимает решение о выдаче патента на изобретение с этой формулой. В решении указываются дата подачи заявки и дата приоритета изобретения (п. 1 ст. 1387 ГК РФ).

Авторская льгота по новизне. Регулируется п. 3 ст. 1350 ГК РФ. Для научных сотрудников эта норма означает, что вы можете получить патент, если опубликовали сведения о своем техническом решении в научном журнале, и в течение 6 мес. от даты подписания журнала в печать успели подать заявку в ФИПС. Но есть одна тонкость – в статье и в заявке должен быть один состав авторов.

Мотивация к патентованию изобретений. Регулирующие интеллектуальную собственность нормативные акты поддерживают мотивацию как патентообладателей (например, университеты, НИО, промышленные и венчурные фирмы), так и создателей изобретений – авторов. Бюджетные научные учреждения-патентообладатели имеют право создания хозяйственных обществ в целях практического внедрения результатов интеллектуальной деятельности, где в качестве уставного капитала вносятся патенты на объекты промышленной собственности¹². Для сотрудников таких организаций, соискателей ученых степеней, также важно знать, что патенты на изобретения относятся к работам, отражающим основные научные результаты диссертации¹³.

¹⁰ На это требование Инструкции рекомендую обратить особое внимание – речь идет об упреждающем патентовании, требующем глубоких исследований тенденций развития тех областей науки и техники, в которых предполагается сохранить научное и технологическое доминирование, и, что не менее важно, каждый патентуемый объект имеет свою внутреннюю логику развития, которую также надо учитывать при патентовании.

¹¹ Основное преимущество отсроченной экспертизы – возможность сэкономить средства на уплату пошлины за проведение экспертизы по существу в случаях, когда заявитель убеждается в нецелесообразности получения патента.

¹² О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации по вопросам создания бюджетными научными и образовательными учреждениями хозяйственных обществ в целях практического применения (внедрения) результатов интеллектуальной деятельности. Федеральный закон № 217-ФЗ от 02.08.2009 г. // Российская газета. 2009. 04 августа (см. <https://rg.ru/2009/08/04/int-dok.html>; дата обращения 10.09.2019).

¹³ Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 01.10.2018) «О порядке присуждения ученых степеней» (см. http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_152458/8af0961a8a1cae81e691dc69dc02108292933253/; дата обращения 10.09.2019).

Содержание заявки на выдачу патента на изобретение. Определяется ст. 1375 ГК РФ. Заявка на выдачу патента на изобретение должна относиться к одному изобретению или к группе изобретений, связанных между собой настолько, что они образуют единый изобретательский замысел (требование единства изобретения). Она должна содержать: 1) заявление о выдаче патента с указанием автора изобретения и заявителя – лица, обладающего правом на получение патента, а также места жительства или места нахождения каждого из них¹⁴; 2) описание изобретения, раскрывающее его сущность с полнотой, достаточной для осуществления изобретения специалистом в данной области техники; 3) формулу изобретения, ясно выражающую его сущность и полностью основанную на его описании; 4) чертежи и реферат. Если заявка составляется на секретное изобретение, то эти документы готовятся и учитываются в соответствии с требованиями законодательства о государственной тайне.

Структура описания и формула изобретения. Для правильного составления описания и формулы, прежде всего, надо понять двойную природу изобретения. Патент – это не только информационный документ, описание к которому излагает техническое решение, но и правовой документ, удостоверяющий приоритет изобретения, авторство и исключительное право на использование изобретения на определенной территории и на определенное время. Отсюда следуют три положения, которые должны учитывать изобретатели, впервые готовящие заявочные материалы на основе своих *прежних психологических стереотипов* о научной работе:

1) изобретение не является произведением науки, а относится к объектам промышленной собственности¹⁵, поэтому составление описания изобретения имеет мало общего с написа-

нием статей в научные журналы, диссертаций или отчетов о НИР;

2) формула и описание изобретения – это разные документы. Главным в заявочных материалах на выдачу патента является формула изобретения, только она определяет объем исключительных прав на его использование;

3) любой выданный государством патент на изобретение ограничивает чьи-то интересы на территории этого государства.

Первое положение предполагает наличие у описания изобретения структуры, которой надо строго придерживаться при его подготовке. Она определена ч. III «Требований к документам заявки на выдачу патента на изобретение» (далее – Требования)¹⁶. Из второго положения следует, что формула изобретения должна обладать обоснованной описанием широтой, позволяющей блокировать как можно больше различных вариантов выполнения третьими лицами заявляемого изобретения. Третье положение предполагает возможность проведения как собственной патентной политики, так и третьими лицами в отношении ваших разработок.

Прежде, чем перейти к рассмотрению содержания разделов описания и структуры формулы изобретения, необходимо понять, почему они построены именно так, а не иначе. Для этого вернемся к действующим сегодня в России принципам составления формулы на изобретение. Впервые они обоснованы в конце XIX в. работами профессора механической технологии в Высшей технической школе Дрездена Эрнста Гартига (нем. Hartig Carl Ernst, 1836–1900). Исследовав структуру и содержание описаний изобретений, Гартиг установил, что все признаки изобретения, содержащиеся в описании, можно условно разделить на известные до его создания и новые, предложенные изобретателем. На этом основании он предложил харак-

¹⁴ Для заявлений на выдачу патента, созданного в рамках служебного задания в учреждениях МО РФ, в графе «заявитель» под кодом 71 необходимо указывать двух заявителей: Российская Федерация, от имени которой выступает Министерство обороны Российской Федерации, и организацию, разработавшую заявляемое техническое решение. В соответствующей графе заявления о выдаче патента на изобретение для юридического лица указывается основной государственный регистрационный номер (ОГРН) для каждого заявителя. ОГРН МО РФ – 1037700255284. От имени МО РФ заявление подписывает начальник УИС МО РФ.

¹⁵ *Промышленная собственность* (от англ. industrial property) – разновидность интеллектуальной собственности. К объектам промышленной собственности относят патенты на изобретения, полезные модели, промышленные образцы, товарные знаки и знаки обслуживания, наименования места происхождения товаров. С 1970-х гг. к понятию «промышленная собственность» относят также «ноу-хау» (секреты производства, производственный опыт). Понятие промышленной собственности было введено Парижской конвенцией по охране промышленной собственности, принятой в 1883 г. Позднее оно было закреплено в ряде других международных соглашений. В Российской Федерации с 2007 г. правоотношения в сфере промышленной собственности регулируются ГК РФ.

¹⁶ Требования к документам заявки на выдачу патента на изобретение. Утверждены приказом Минэкономразвития России от 25.05.2016 г. № 316 с изменениями, внесенными приказами Минэкономразвития России от 12.03.2018 г. № 113 от 19.09.2018 г. № 506 от 01.10.2018 г. № 527 (<https://new.fips.ru/documents/npa-rf/prikazy-minekonomrazvitiya-rf/prikaz-ministerstva-ekonomicheskogo-razvitiya-rf-ot-25-maya-2016-g-316.php#II;дата обращения 10.18.2019>).

теризовать изобретение ограниченным числом признаков, вынося их в отдельное положение, получившее название – *формула изобретения*. Такая формула носит название германской [7].

Наиболее распространенный вариант германской формулы имеет две части: *ограничительную*, включающую признаки изобретения, совпадающие с признаками наиболее близкого аналога, и *отличительную* – включающую признаки, отличающие изобретение от наиболее близкого аналога. Формула изобретения может состояться и без разделения пункта на ограничительную и отличительную части, если она характеризует: индивидуальное химическое соединение; штамм микроорганизма, линию клеток растений или животных; изобретение, не имеющее аналогов. При составлении пункта формулы с разделением на ограничительную и отличительную части после *родового понятия*, отражающего назначение изобретения (с него начинается изложение формулы изобретения), вводится выражение «включающий», «содержащий» или «состоящий из», после которого излагается ограничительная часть, затем вводится словосочетание «отличающийся тем, что», непосредственно после которого излагается отличительная часть (п. 54 ч. IV Требований).

Для построения формулы германского типа нужно выбрать «средство того же назначения, известное из сведений, ставших общедоступными до даты приоритета изобретения» – т.е. ближайший аналог (прототип). Ближайшим он считается потому, что ему присуща совокупность признаков, наиболее близкая к совокупности существенных признаков изобретения (п. 53 ч. IV Требований). Согласно п. п. 35 и 36 ч. III Требований, признаки относятся к *существенным*, «если они влияют на возможность решения указанной заявителем *технической проблемы*¹⁷ и получения обеспечиваемого изобретением *технического результата*, то есть находятся в причинно-следственной связи с указанным техническим результатом.

Технический результат – явление, свойство, а также технический эффект, объективно проявляющийся при осуществлении изобретения. Он характеризуется физическими, химическими или биологическими параметрами.

Сущность изобретения как технического решения технической проблемы выражается в совокупности существенных признаков, достаточной для достижения обеспечиваемого

изобретением технического результата (п.36 ч. III Требований). Поясню эти понятия на примере технического решения, описанного в статье В.А. Игнатьева с соавт. [8].

Для исследования проб воды на содержание зарина, его прекурсоров и продуктов деструкции, при необходимости их определения в концентрациях менее 0,03 ppm (3×10^{-5} мг/мл), чувствительность пламенно-фотометрического детектора (ПДФ) оказывается не достаточна. В данном случае *ближайшим аналогом* является способ определения зарина в воде, использующий ПДФ, а *технической проблемой* является его низкая чувствительность, проявляющаяся при детекции в воде зарина, его прекурсоров и продуктов деструкции. Повысить чувствительность детектора (т.е. решить указанную заявителем техническую проблему – низкую чувствительность используемого способа определения зарина в воде) можно, изменив «процесс осуществления действий над материальным объектом с помощью материальных средств»¹⁸, а именно: повысить в инжекторе давление газа-носителя (гелий) до 25 psi и температуру – до 250 °C с применением односегментного подъема температуры в термостате со скоростью 10 °C/мин от 40 °C (1 мин) до 280 °C (5 мин) при потоке водорода в ПДФ – 75 мл/мин, воздуха – 100 мл/мин, гелия – 60 мл/мин. Эта совокупность действий будет *техническим решением* технической проблемы – низкой чувствительности способа-прототипа. *Технический результат* проявляется при осуществлении способа – увеличение его чувствительности в 1,7 раза по зарину, его прекурсорам и продуктам деструкции, растворенным в воде.

Смысл составления описания на изобретение заключается не в написании литобзора о том, как широко видит проблему автор, а в приведении эксперту доказательств того, что изложенная в отличительной части формулы совокупность признаков является существенной, т.е. позволяет получить новый технический результат. Но новый не «вообще», а тот, который не достигается ближайшим аналогом. А само изобретение соответствует условиям промышленной применимости, новизны, изобретательского уровня и раскрыто с полнотой, достаточной для его осуществления. Содержание разделов описания заявки приведено в таблице 1.

Развитие объекта техники. При патентовании любого объекта надо понимать, что он имеет свою историю, а, следовательно, и некий возраст, при достижении которого могут быть исчерпаны возможности дальнейшего развития. Поэтому важно получать патенты не на частные технические решения, а на ключевую технологию, лежащую в основе таких решений.

¹⁷ Техническую проблему формулирует заявитель в конце раздела «Уровень техники», как проблему, решение которой обеспечивается при осуществлении или использовании его изобретения, и которая не могла быть решена при осуществлении или использовании аналогов изобретения, включая ближайший, а также известные заявителю причины, препятствующие решению этой технической проблемы аналогами изобретения и получению технического результата, обеспечиваемого заявляемым изобретением.

¹⁸ См. определение способа в п 1 ст. 1350 ГК РФ: *способ* – процесс осуществления действий над материальным объектом с помощью материальных средств.

Таблица 1 – Содержание разделов описания заявки и формулы на изобретение *

Раздел	Содержание
Название	Название изобретения приводится после индекса МПК и должно быть ясным, точным и лаконичным и указывать на назначение изобретения, соответствовать его сущности и совпадать с названием изобретения, указанным в заявлении. Название изобретения, как правило, характеризует его назначение и излагается в единственном числе. Исключение составляют: названия, которые не употребляются в единственном числе; названия изобретений, относящихся к химическим соединениям, охватываемым общей структурной формулой
Область техники, к которой относится изобретение	Указывается область применения изобретения. Если таких областей несколько, указываются преимущественные
Уровень техники	Приводятся сведения об известных заявителю аналогах изобретения с выделением из них аналога, наиболее близкого к изобретению (прототипа). При описании каждого из аналогов, непосредственно в тексте приводятся библиографические данные источника информации, в котором он раскрыт, признаки аналога с указанием тех из них, которые совпадают с существенными признаками заявляемого изобретения, а также указываются известные заявителю причины, препятствующие получению технического результата, который обеспечивается изобретением. Если изобретение относится к способу получения смеси не установленного состава с определенным назначением или биологической активностью, в качестве аналога указывается способ получения смеси с таким же назначением или с такой же биологической активностью. Если изобретение относится к способу получения нового химического соединения, в том числе высокомолекулярного, приводятся сведения о способе получения его известного структурного аналога или аналога по назначению. Для изобретения, охарактеризованного в виде применения продукта или способа по определенному назначению, в качестве аналога указывается продукт или способ соответственно того же назначения. В случае группы изобретений сведения об аналогах приводятся для каждого изобретения. После описания аналогов в качестве наиболее близкого к изобретению указывается тот, которому присуща совокупность признаков, наиболее близкая к совокупности существенных признаков изобретения. Подробно объясняется техническая проблема, решение которой обеспечивается при осуществлении или использовании изобретения, и которая не могла быть решена при осуществлении или использовании аналогов изобретения, а также известные заявителю причины, препятствующие решению этой технической проблемы и получению технического результата, обеспечиваемого изобретением, в аналогах изобретения, при этом техническая проблема может заключаться, в частности: - в создании объекта, параметры, характеристики которого удовлетворяют заданным требованиям; - в свойствах либо явлениях, проявляющихся при осуществлении или использовании аналога изобретения, оптимизируемых при создании изобретения; - в необходимости расширения арсенала технических средств определенного назначения или создании технического средства определенного назначения
Раскрытие сущности изобретения	Подробно раскрывается техническая проблема, на решение которой направлено заявляемое изобретение, с указанием обеспечиваемого им технического результата. Если изобретение обеспечивает получение нескольких технических результатов (в том числе в конкретных формах его выполнения или при особых условиях использования), рекомендуется указать все технические результаты. Приводятся все существенные признаки, характеризующие изобретение; выделяются признаки, отличительные от наиболее близкого аналога, при этом указываются совокупность признаков, обеспечивающая получение технического результата во всех случаях, на которые распространяется испрашиваемый объем правовой охраны, и признаки, характеризующие изобретение лишь в частных случаях, в конкретных формах выполнения или при особых условиях его использования. Для группы изобретений сведения, раскрывающие сущность изобретения, в том числе и о техническом результате, приводятся для каждого изобретения. Для быстро развивающихся областей науки в этот раздел целесообразно включить определения основных терминов, используемых при раскрытии изобретения. Это исключит в дальнейшем возражения патентного эксперта относительно смыслового содержания понятий
Краткое описание чертежей (если они содержатся в заявке)	В этом разделе описания приводится перечень фигур с краткими пояснениями того, что изображено на каждой из них. Если представлены иные графические материалы, поясняющие сущность изобретения, они также указываются в перечне и приводится краткое пояснение их содержания

Продолжение таблицы 1 – Содержание разделов описания заявки и формулы на изобретение

Осуществление изобретения	Показывается, как может быть осуществлено изобретение с реализацией указанного заявителем назначения, предпочтительно, путем приведения примеров, и со ссылками на чертежи или иные графические материалы, если они имеются. Для изобретения, сущность которого характеризуется с использованием признака, выраженного общим понятием, в частности, представленного на уровне функционального обобщения, описывается средство для реализации такого признака или методы его получения, либо указывается на известность такого средства или методов его получения. Для изобретения, характеризующегося использованием не известного из уровня техники средства (устройства, вещества, штамма микроорганизма и т.д.), приводятся сведения, достаточные для получения этого средства. Приводятся также сведения, подтверждающие возможность получения при осуществлении изобретения того технического результата, который указан в разделе описания «Раскрытие изобретения». В качестве таких сведений приводятся объективные данные, например, полученные в результате проведения эксперимента, испытаний или оценок, принятых в той области техники, к которой относится заявленное изобретение или теоретические обоснования, основанные на научных знаниях. При использовании для характеристики изобретения количественных признаков, выраженных в виде интервала значений, показывается возможность получения технического результата во всем этом интервале. Если несколько признаков изобретения выражены в виде альтернативы, показывается возможность получения технического результата при различных сочетаниях характеристик таких признаков
Формула изобретения	При составлении формулы изобретения применяются следующие правила: 1) формула изобретения может быть однозвенной или многозвенной и включать, соответственно, один или несколько пунктов, при этом: а) однозвенная формула изобретения применяется для характеристики одного изобретения совокупностью признаков, не имеющей развития или уточнения применительно к частным случаям его выполнения или использования, и состоит из одного независимого пункта; б) многозвенная формула изобретения применяется для характеристики одного изобретения с развитием и (или) уточнением совокупности его признаков применительно к частным случаям осуществления изобретения или для характеристики группы изобретений. Многозвенная формула изобретения, характеризующая одно изобретение, включает один независимый пункт и зависимый (зависимые) пункт (пункты). Многозвенная формула изобретения, характеризующая группу изобретений, включает несколько независимых пунктов, каждый из которых характеризует одно из изобретений группы; при этом каждое изобретение группы может быть охарактеризовано с привлечением зависимых пунктов, подчиненных соответствующему независимому пункту; в) независимый пункт должен относиться только к одному изобретению. Допускается характеризовать в одном независимом пункте несколько изобретений – вариантов, если они различаются только такими признаками, которые выражены в виде альтернативы

* Составлена с использованием ч. III Требований.

И поняв внутреннюю логику развития объекта, до полного исчерпания ее возможностей, последовательно создавать и перехватывать права на объекты, которые в ее рамках можно создать. Алгоритм такого подхода при конструировании лекарственных препаратов, обладающих антидотным действием в отношении токсических фосфорорганических соединений (ФОС), приведен на рисунке 1.

Алгоритм построен на основе анализа изобретений д-ра биол. наук, профессора Е.Н. Ефременко с соавт. На схеме указаны номера российских патентов и даты их приоритета. Логика развития данного объекта во времени такова. В 1980–1990-е гг. был создан задел для разработки методов деструкции ФОС, альтернативных физико-химическим методам. Альтернатива заключалась в использовании с этой же целью штаммов микроорганизмов, продуцирующих ферменты, разрушающие такие соединения. Клонирование в начале нулевых годов российскими учеными гена органофосфатгидролазы, изучение тонкой структуры фермента методами

белковой инженерии и получение штамма-продуцента фермента со свойствами органофосфатгидролазы (2000–2002 гг.), подтолкнули к развитию как минимум трех направлений в деструкции ФОС: 1) разложение ФОС и продуктов их распада в окружающей среде, включая разработку процессов детоксификации реакционных масс, оставшихся после химического уничтожения фосфорорганических веществ на объектах уничтожения химического оружия [11]; 2) создание принципиально новых средств индивидуальной защиты кожи и органов дыхания [12]; 3) и представленное на схеме создание лекарственных препаратов для парентерального введения, обладающих антидотными свойствами в отношении отравления ФОС [13].

Внутренняя логика, присущая созданию любых лекарственных препаратов, в случае с антидотами на основе органофосфатгидролазы проявила себя техническими решениями, направленными на повышение их безопасности, эффективности и расширения антидот-

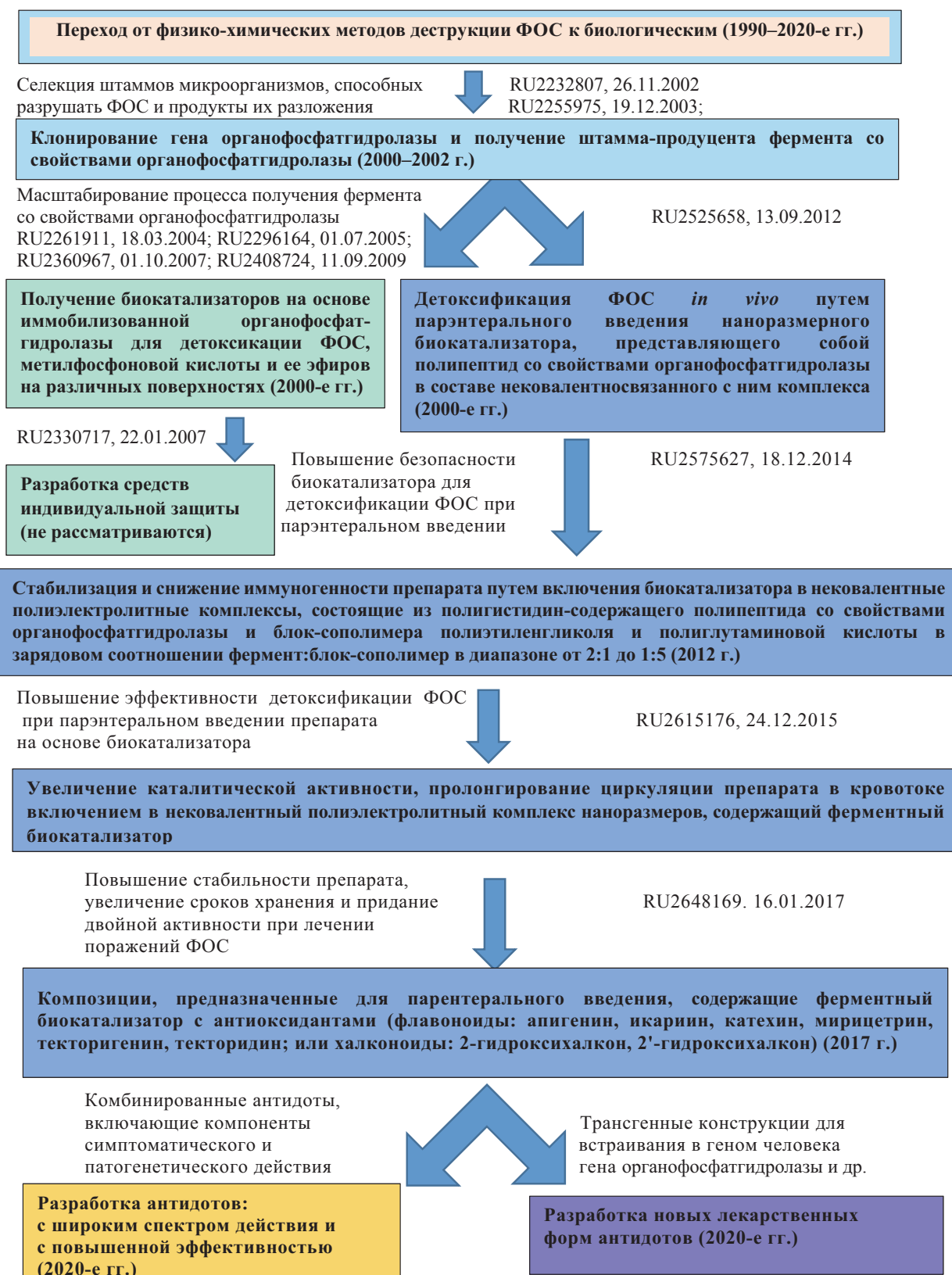


Рисунок 4 – Алгоритм конструирования на основе полипептида со свойствами органофосфатгидролазы лекарственного препарата, обладающего антитодным действием в отношении ФОС, предназначенного для парентерального введения

ного спектра (2012–2017 гг.). В то же время она показывает, что создание антидотов против ФОС с широким спектром действия и повышенной эффективностью на основе органофосфатгидролазы только началось, и сочетаниями с флавоноидами и халконоидами оно не исчерпывается. Усилия экспериментаторов по созданию таких лекарственных препаратов еще не «добрались» до использования в схемах терапии комбинаций органофосфатгидролазы с реактиваторами холинэстеразы. Использование же созданного задела для разработки подходов к предотвращению поражений ФОС на основе технологий соматической генной терапии, аналогичных тем, что выполнены в США с геном бутирилхолинэстеразы [14], даже не началось. Однако, благодаря комплексному патентованию ключевой технологии и многолетнему последовательному патентованию технических решений, отражающих внутреннюю логику развития объекта, у разработчиков новых антидотов в случае их создания гарантировано право на доступ к российскому рынку таких препаратов. Кроме того, наличие информации об этих патентах в международных и национальных патентных базах (и в том случае, когда они перестанут поддерживаться в России) порочит новизну и изобретательский уровень при экспертизе по существу заявок на изобретения разработчиков других стран, которые могут пытаться запатентовать антидоты на основе органофосфатгидролазы. Приведенный пример показывает нашим специалистам, как нужно эффективно использовать бюджетные средства, выделяемые на российскую науку, и защищать интересы своей страны в сфере высоких технологий.

Нет никаких оснований утверждать, что низкая патентная активность НИО войск РХБ защиты и затягивание экспертизы изобретений по существу являются результатом несовершенства российской патентной системы. Она современна, встроена в существующие международные соглашения и обеспечивает российским изобретателям и патентовладельцам все возможности для конкуренции на российских и мировых рынках высоких технологий. В министерстве обороны Российской Федерации приказами министра обороны создана правовая база, необходимая для развития патентно-лицензионной деятельности. Защита секретных изобретений в Российской Федерации регулируется на уровне ГК РФ – второго по значению после Конституции федерального закона Российской Федерации. Вопрос только в том, что в каждом конкретном случае необходимо определять целесообразность и объем такого патентования. Регулирующие интеллектуальную собственность российские нормативные акты обладают большой гибкостью, в «умелых руках» они могут стать надежным инструментом для предотвращения патентной колонизации России по ключевым технологиям, в том числе имеющим двойное назначение. Причиной затягивания процедуры рассмотрения изобретений на этапе экспертизы по существу и неэффективности патентования изобретений в целом в войсках РХБ защиты являются исключительно субъективные факторы, такие как слабое знание руководителями и исполнителями НИР и НИОКР российской патентной системы, приказов министра обороны в данной области и отсутствие собственной мотивации в противостоянии патентной колонизации России.

Информация о конфликте интересов

Автор заявляет, что исследование проводилось при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Елапов А.А., Переверзев А.П., Бунятян Н.Д., Борисевич И.В. Изменения в правовой охране изобретений в Российской Федерации // 2015. № 2. С. 49–53.
2. Дахно И. И. Патентно-лицензионная работа. Киев: 1996.
3. Штумп Г. Лицензионный договор. М.: 1988.
4. Соколов Д.Ю. Патентование изобретений в области высоких и нанотехнологий. М.: 2010.

5. Воскресенская Е.В., Алексеева Ю.С. Режим секретных изобретений: вопросы права и управления // Вестник КГУ. 2018. № 275–279.
6. Лобастов А.А., Исмаилов К.И. оглы, Воскресенская Е.В. Конституционно-правовая защита интеллектуальной собственности // Социология и право. 2017. № 2. С. 96–101.
7. Червова Л.В. Основные принципы составления формулы изобретения в СССР. М. 1988.

8. Игнатъев В.А., Петракова Л.В., Понсов М.А., Родионов А.А. Поиск оптимальных параметров газохроматографического комплекса при определении зарина в пробах воды пламенно-фотометрическим детектированием // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 3. С. 203–216. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-3-203-216>.

9. Efremenko E.N., Sergeeva V.S. Organophosphate hydrolase – an enzyme catalyzing degradation of phosphorus-containing toxins and pesticides // Russian Chemical Bulletin. 2001. V. 50. P. 1826–1832. <https://doi.org/10.1023/A:1014377912147>.

10. Гудков Д.А., Вотчицева Ю.А., Ефременко Е.Н. Гидролиз параоксона, катализируемый органофосфатгидролазой, содержащей полигистидиновую последовательность на с-конце молекулы белка // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия // 2006. Т.7. № 1. С. 15–17.

11. Филимонов И.В., Янковская А.Н., Завьялова Н.В. с соав. Биотехнологические методы деструкции отравляющих веществ и продуктов их деток-

сикации // Вестник войск РХБ защиты. 2017. Т. 1. № 1. С. 4–14. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2017-1-1-4-14>.

12. Завьялов В.В., Кужелко С.В., Завьялова Н.В. с соавт. Современные направления создания новых защитных материалов и тканей для средств индивидуальной и коллективной защиты от токсичных химикатов и клеток патогенов // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 3. С. 217–254. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-3-217-254>.

13. Efremenko E.N., Lyagin I.V. Advanced Biocatalysts Based on Hexahistidine-Containing Organophosphorus Hydrolase for Chemical and Biological Defense // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 3. № 2. P. 111–116. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-2-111-116>.

14. Chilukuri N., Duysen F.G., Parikh K. et al. Adenovirus-Transduced Human Butyrylcholinesterase in Mouse Blood Functions as a Bioscavenger of Chemical Warfare Nerve Agents // Mol. Pharmacol. 2009. V. 76. № 3: P. 612–617. <https://doi.org/10.1124/mol.109.055665>.

Об авторе

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Супотницкий Михаил Васильевич. Главный специалист, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

Контактное лицо: Супотницкий Михаил Васильевич; 27nc_1@mil.ru

Preparation of Applications for Inventions Created in the Nuclear, Biological and Chemical Protection Troops

M.V. Supotnitskiy

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

Patenting of inventions is the basis of the independence of the Russian Federation in the sphere of high technologies, including dual-use ones. The purpose of this work is to review the main approaches to the legal protection of inventions in the Russian Federation. The ignorance of these approaches becomes one of the main obstacles to the effective patenting of inventions created at the scientific research institutes of the NBC Protection Troops. The paper is dedicated to the detailed consideration of particular problems, such as the correctness of the title of invention, the importance of clear indication of the purpose of the invention and its closest analogue, the danger of the confusion between technical problems and technical results ect. The ignorance of these aspects often leads to the delay in the substantive examination of patent applications. Special attention is paid to the procedure of patenting secret inventions and their status. The internal logic of the creation of intellectual property objects that should be taken into account during the patenting is shown at the example of patenting antidotes for organophosphorus toxic substances, based on hexahistidine-containing organophosphorus hydrolase. The Russian patent system is modern, incorporated into existing international agreements and provides Russian inventors and patent owners all the opportunities for competition in the Russian and world high technology markets. The reasons for delays in the substantive examination of patent applications, as well as for the inefficiency of patenting inventions in the NBC Protection Troops are purely subjective – poor

knowledge of the Russian patent system and MoD orders, and the lack of motivation in opposing patent colonization of Russia.

Keywords: *invention; intellectual property; patent for an invention; patent policy; patent system; industrial property; secret invention; service invention; substantive examination.*

For citation: *Supotnitskiy M.V. Preparation of Applications for Inventions Created in the Nuclear, Biological and Chemical Protection Troops // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 3. № 4. P. 381–393. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-381-393>*

Conflict of interest statement

The author declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Elapov A.A., Pereverzev A.P., Bunyatyan N.D., Borisevich I.V. Changes in the Legal Protection of Inventions in the Russian Federation // Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2015; (2): 49–53.
2. Dakhno I.I. Patent and Licensing Work. Kiev. 1996.
3. Shtump G. License agreement. M. 1988.
4. Sokolov D.Yu. Patenting of Inventions in the Field of High and Nanotechnologies. M. 2010.
5. Voskresenskaya E.V., Alekseeva Yu.S. Secret Inventions Regime: Legal and Administrative Issues // Bulletin of Kostroma University. 2018. № 3. P. 275–279.
6. Lobastov A.A., Ismailov K.I.O., Voskresenskaya E.V. Constitutional and legal protection of intellectual property // Sociology and Law. 2017. № 2. P. 96–101.
7. Chervova L.V. Main Principles of Preparation of Patent Claims in the USSR. M. 1988.
8. Ingatyev V.A., Petrakova L.V., Ponsov M.A., Rodionov A.A. Search for Optimal Parameters for Gas Chromatographic Complex When Determining Sarin in Water Samples by Flame Photometric Detection Method // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 3. No 3. P. 203–216. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-3-203-216>.
9. Efremenko E.N., Sergeeva V.S. Organophosphate hydrolase – an enzyme catalyzing degradation of phosphorus-containing toxins and pesticides // Russian Chemical Bulletin. 2001. V. 50. P. 1826–1832. <https://doi.org/10.1023/A:1014377912147>.
10. Gudkov D.A., Votchitseva Yu.A., Efremenko E.N. // Paraaxon hydrolysis catalyzed by organophosphate hydrolase containing the polyhistidine tag at the c-terminus of protein molecule // Vestn. Mosk. University. Ser. 2. Chemistry // 2006. V.7. № 1. P. 15–17.
11. Filimonov I.V., Yankovskaya A.A., Zavyalova N.V. et al. Biotechnological Methods of Destruction of Chemical Warfare Agents and Their Detoxication Products // Journal of NBC Protection Corps. 2017. V. 1. № 1. P. 4–14. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2017-1-1-4-14>.
12. Zavialov V.V., Kujelko S.V., Zavialova N.V. et al. Modern Directions of Creating New Protective Materials and Tissues For Means of Individual and Collective Protection Against Toxic Chemicals and Pathogenic Microorganisms // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 3. No 3. P. 217–254. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-3-217-254>.
13. Efremenko E.N., Lyagin I.V. Advanced Biocatalysts Based on Hexahistidine-Containing Organophosphorus Hydrolase for Chemical and Biological Defense // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 3. № 2. P. 111–116. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-2-111-116>.
14. Chilukuri N., Duysen F.G., Parikh K. et al. Adenovirus-Transduced Human Butyrylcholinesterase in Mouse Blood Functions as a Bioscavenger of Chemical Warfare Nerve Agents // Mol. Pharmacol. 2009. V. 76. № 3: P. 612–617. <https://doi.org/10.1124/mol.109.055665>.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Mikhail Vasilyevich Supotnitskiy. Senior Researcher. Chief Specialist. Candidate of Biological Sciences.

Contact person: Mikhail Vasilievich Supotnitskiy; 27nc_1@mil.ru

Памяти Антонова Николая Серафимовича (16.12.1924 г. – 5.01.2019 г.)

Приближается 95-летие прекрасного человека, генерала, доктора технических наук, профессора Николая Серафимовича Антонова, многолетняя трудовая деятельность которого была направлена на обеспечение обороноспособности Отчизны.

Николай Серафимович родился 16 декабря 1924 г. в деревне Петропавловка Горьковской области. По окончании школы, в первые годы Великой Отечественной войны, учился в Горьковском военном училище зенитной артиллерии. В 1943 г. лейтенант Антонов был направлен на фронт и до 1945 г. воевал в составе подразделений противовоздушной обороны на Восточном, Северном и Западном фронтах. Войну закончил командиром зенитно-артиллерийской батареи, в послевоенные годы продолжил службу в войсках ПВО вплоть до поступления в 1948 г. на командно-инженерный факультет Военной академии химической защиты (ВАХЗ), которую закончил в 1954 г. с золотой медалью.

Во время учебы в ВАХЗ Николай Серафимович начал заниматься научной деятельностью. С 1954 по 1969 г. он проходил службу в Центральном научно-исследовательском военно-техническом институте МО СССР (ЦНИВТИ, в настоящее время – 33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт МО РФ (33 ЦНИИИ)), где последовательно занимал должности от научного сотрудника до начальника института.

С 1969 г. по 1972 г. Николай Серафимович Антонов возглавлял Научно-технический комитет в Управлении начальника химических войск МО СССР. В дальнейшем, с 1972 г. по 1988 г., работал в НИИ «Медстатистика» Минздрава СССР, где последние 11 лет занимал должность директора.

Среди научной общественности страны Николай Серафимович Антонов известен как талантливый исследователь, автор десятков научных трудов, крупный ученый в области разработки ряда образцов средств защиты войск и



населения от оружия массового поражения. Несколько образцов получили дальнейшее развитие, прошли модернизацию и находятся на снабжении подразделений Вооруженных Сил Российской Федерации. Особо следует отметить тепловую машину ТМС-65, которая Приказом Министра обороны СССР в 1967 г. была принята на снабжение химических войск. За участие в ее разработке Николаю Серафимовичу Антонову была вручена грамота от Министра обороны СССР маршала Советского Союза Р.Я. Малиновского.

Николай Серафимович Антонов – автор уникальной монографии «Химическое оружие на рубеже столетий» (1994), в которой им прослежены тенденции развития и достигнутый уровень поражающих свойств отравляющих веществ (ОВ), оцениваются перспективы получения новых ОВ, более токсичных чем вещество VX, рассматриваются различные аспекты боевого применения вероятным противником ирритантов, психомиметиков и физикантов. Эта книга – воплощение души и интеллекта ученого, отдавшего защите России всю свою жизнь и оставившего на ее страницах часть себя, своих знаний. Поэтому она еще долго будет настольной у тех специалистов войск РХБ защиты, кто желает прожить такой же творческой и созидательной жизнью, как Николай Серафимович.

Многолетняя служба и научная деятельность Николая Серафимовича Антонова оценена по достоинству. Он награжден орденами Октябрьской Революции, Красной Звезды, Отечественной войны I и II степеней, Трудового Красного Знамени, «За службу Родине в Вооруженных Силах СССР» III степени и многими медалями.

Уже почти год, как не стало Николая Серафимовича Антонова, но всем, кто его знал, он запомнился как оптимистично настроенный человек с твердой гражданской позицией, для которого ответственность за порученное дело, чувство любви к Родине были превыше всего.

Маньковский Геннадий Иванович (к 70-летию со дня рождения)

15 декабря 2019 года исполнилось 70 лет ветерану Вооруженных Сил, доктору технических наук, профессору, полковнику в отставке Геннадию Ивановичу Маньковскому.

Геннадий Иванович – действительный член Академии военных наук, Заслуженный работник высшей школы Российской Федерации, Почетный химик. Является автором более 150 научных и учебно-методических трудов.

За годы службы в течение более 38 лет в химических войсках и войсках РХБ защиты Г.И. Маньковский прошел славный путь от курсанта до полковника, начальника кафедры «Боевого применения зажигательных средств и аэрозольного противодействия» Военной академии химической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко, внес весомый личный вклад в подготовку руководящих и научно-педагогических кадров, в решение задач по разработке и принятию на вооружение многих образцов зажигательного вооружения войск РХБ защиты.

Г.И. Маньковский родился в 1949 году в деревне Хлусово Оршанского района Витебской области Белорусской ССР. В 1968 году с серебряной медалью окончил Минское Суворовское военное училище, в 1973 году – инженерный факультет ВАХЗ, после чего был направлен для прохождения службы в Саратовское высшее военное инженерное училище химической защиты, где успешно работал на должностях начальника учебной лаборатории кафедры средств защиты (1973-1975 гг.) и преподавателя кафедры специальных процессов и аппаратов и химической технологии (1975-1980 гг.). В 1983 году, после окончания адъюнктуры академии, защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата технических наук по профилю огнеметно-зажигательного вооружения.

Интерес к научным исследованиям и преподавательской работе сформировался у Г.И. Маньковского под влиянием и на примере ярких ученых, педагогов, экспериментаторов и организаторов науки в химических войсках М.К. Баранаева, О.В. Изосимова, В.П. Радченко, О.В. Укке, В.И. Холстова и др.

Г.И. Маньковский – известный специалист и ученый в области проблем поражающего действия и эффективности зажигательного вооружения,



ния, автор методик измерения параметров сложного нестационарного процесса теплообмена в системе «пламя-объект» при диффузионном горении очагов и формировании высокотемпературных полей различными зажигательными составами.

Геннадий Иванович принимал участие в совершенствовании существующих, испытаниях и принятии на вооружение новых образцов, в том числе и тяжелой огнеметной системы. Совместно с В.П. Сюкревым, В.С. Ушаковым и В.И. Хурсой был участником и руководителем работ по аэрозольной визуализации демонстрации Государственного Флага Российской Федерации при проходе группы самолетов на ежегодных парадах в честь Победы советского народа в Великой Отечественной войне и других праздничных государственных мероприятиях.

Г.И. Маньковский – автор и соавтор работ по совершенствованию и развитию зажигательного вооружения видов и родов войск ВС РФ, а также учебников, учебных пособий, наставлений и руководств для подготовки офицерских кадров в ВВУЗах и для обеспечения боевой подготовки войск. Он является автором литературного сценария учебного фильма «Тяжелая огнеметная система ТОС-1», выпущенного в 2005 году киностудией МО РФ, а также тематического фильма Первого телевизионного канала «Траектория огня».

На протяжении своей научной деятельности профессор Г.И. Маньковский плодотворно и тесно взаимодействует с ведущими НИУ МО РФ и промышленности, конструкторскими бюро в области зажигательных средств поражения.

После увольнения из рядов ВС Г.И. Маньковский продолжает научную деятельность в «27 Научном центре» Минобороны России в должности ведущего научного сотрудника, является членом Диссертационного совета, под его руководством подготовлено семь кандидатов наук.

Командование войск РХБ защиты, коллектив «27 Научного центра» Минобороны России, друзья, товарищи, коллеги и ученики сердечно поздравляют Геннадия Ивановича Маньковского с 70-летием со дня рождения, желают ему доброго здоровья, счастья и творческих успехов.

Каляев Николай Иванович (к 70-летию со дня рождения)

24 ноября исполнилось 70 лет со дня рождения ветерана Вооруженных Сил Российской Федерации, последнего начальника службы РХБ защиты Войск ПВО страны генерал-майора в отставке Каляева Николая Ивановича.

Н.И. Каляев родился в 1949 году в г. Куйбышеве в семье рабочего. В 1968 году окончил среднюю школу и поступил в Саратовское военно-химическое училище, после завершения обучения в котором в 1971 году был направлен для прохождения службы в Группу советских войск в Германии на должность командира взвода радиационной и химической разведки. Уже через год лейтенант Каляев Н.И. возглавил роту радиационной и химической разведки 386 отдельного батальона химической защиты 16 танковой дивизии 2 танковой армии. С этой должности в 1974 году он поступил на командный факультет военной академии химической защиты им. С.К. Тимошенко, по окончании которого в 1977 году был направлен для дальнейшего прохождения службы на должность начальника химической службы зенитно-ракетной бригады Киевской отдельной армии ПВО (Евпатория).

С июня 1978 по ноябрь 1981 года – офицер химической службы 8 ОА ПВО, с ноября 1981 года по февраль 1985 года – старший офицер химической службы этой же армии. В этих должностях Николай Иванович приобрел богатый опыт по управлению и руководству подчиненными службами и подразделениями химической защиты и проявил себя как великолепный организатор и профессионал своего дела.

В марте 1985 года подполковник Каляев Н.И. назначается на должность начальника химической службы 3 отдельной армии предупреждения о ракетном нападении (особого



назначения). За время пребывания в этой должности, он снискал уважение и доверие у подчиненных и начальников, и в 1989 году был назначен на должность заместителя начальника химической службы Войск ПВО, а с сентября 1995 года возглавил ее.

Николай Иванович внес значительный вклад в развитие Службы. За годы его руководства служба РХБ защиты Войск ПВО достойно пережила череду реформирований и сокращений, ему удалось сохранить во всех подчиненных военных ВУЗах кафедры РХБ защиты.

В 1998 году Указом Президента Российской Федерации за поддержание высокой боевой готовности войск, освоение новой боевой техники и высокие показатели в служебной деятельности генерал-майор Каляев Н.И. был награжден орденом «За военные заслуги». После объединения в 1998 году Войск ПВО и ВВС в единый вид Вооруженных Сил Российской Федерации генерал-майор Каляев Н.И. до сентября 2002 года руководил службой РХБ защиты Военно-воздушных сил.

С 2002 года работает в Преображенском военном комиссариате Москвы. В 2007 году за мужество и самоотверженность, проявленные при ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС в 1987 году, а также за работу по восстановлению социального статуса и прав ликвидаторов Чернобыльской катастрофы, Каляев Николай Иванович был награжден орденом Русской православной церкви «Святого благоверного князя Дмитрия Донского» III степени.

Командование войск РХБ защиты, Союз ветеранов войск РХБ защиты, друзья, товарищи и коллеги поздравляют Николая Ивановича Каляева с 70-летием со дня рождения, желают ему доброго здоровья, счастья и успехов!

Участие представителей войск РХБ защиты ВС РФ в заседании XXIII Всемирного русского народного собора



Открытие XXIII Всемирного русского народного собора

18 октября 2019 года в Зале церковных соборов кафедрального соборного Храма Христа Спасителя в Москве состоялось открытие XXIII Всемирного русского народного собора (далее - ВРНС).

Ключевое церковно-общественное мероприятие года было посвящено теме «Народосбережение – настоящее и будущее России».

Пленарное заседание возглавил глава ВРНС Святейший Патриарх Московский и всея Руси Кирилл.

В работе Собора приняли участие представители войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, иерархи и священнослужители Русской Православной Церкви, представители государственной власти, руководители фракций

политических партий Государственной Думы ФС РФ, лидеры общественных объединений, высшее духовенство традиционных религий, деятели науки, образования и культуры, делегаты русских общин из ближнего и дальнего зарубежья, представители общественности.

Первый заместитель руководителя Администрации Президента РФ С.В. Кириенко огласил приветствие Президента России В.В. Путина. Затем он в своем выступлении рассказал о мерах по народосбережению, предпринимаемых государством.

Приветствия в адрес ВРНС направили председатель Правительства РФ Д.А. Медведев, председатель Совета Федерации ФС РФ В.И. Матвиенко, председатель Государственной Думы ФС РФ В.В. Володин, мэр г. Москва С.С. Собянин.

Далее прозвучали выступления и доклады ряда участников ВРНС, посвященные вопросам демографии и народосбережения.

Самые разные представители нашей страны - христианские священники, иудейские раввины, буддийские ламы и мусульманские муфтии как символ многоконфессиональной России, где нет места религиозным конфликтам, собрались в зале.

По окончании выступлений Святейший Патриарх Кирилл высказал ряд предложений по содержанию соборного документа.

Младший научный сотрудник 27 НЦ МО РФ

*Соляник Нелли Павловна
Фотографии Сергея Власова*



Участники мероприятия

Заложен прочный фундамент сотрудничества с Русской Православной Церковью



Подписание Соглашения о сотрудничестве с Синодальным Отделом Московского Патриархата по взаимодействию с Вооруженными Силами и правоохранительными органами

25 октября 2019 г. Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации (далее – 27 НЦ МО РФ) и Синодальный Отдел Московского Патриархата по взаимодействию с Вооруженными Силами и правоохранительными органами (далее именуется – Отдел) заключили Соглашение о сотрудничестве, которое предполагает координацию совместных действий в направлении участия в патриотическом, духовно-нравственном воспитании и просвещении военнослужащих и членов их семей, оказания им морально-психологической, духовной и социальной поддержки, содействия удовлетворению их религиозных потребностей, восстановлению, созданию и содержанию храмов, часовен и воинских мемориалов.

В мероприятии приняли участие представители Управления начальника войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации (далее - РХБ защиты ВС РФ), военнослужащие, гражданский персонал, военные историки и научные деятели 27 НЦ МО РФ, а также ветераны войск РХБ защиты ВС РФ.

В своем вступительном слове начальник 27 НЦ МО РФ В.А. Ковтун отметил положительные результаты взаимодействия между центральными, епархиальными, приходскими структурами Русской Православной Церкви и соединениями, воинскими частями, учреждениями и организациями радиационной, химической и биологической защиты.

«Уникальный опыт взаимодействия командования 27 НЦ МО РФ с духовенством показал, что объединив духовные и физические усилия, возможно выполнить любые, самые сложные задачи», – подчеркнул он.

Председатель Отдела епископ Клинский Стефан рассказал, что за тысячелетнее существование русского мира именно Православная Церковь стала духовной основой нашего мировоззрения, освящая все стороны нашей жизни и уделяя особое внимание военному служению.

Внештатный заместитель начальника 27 НЦ МО РФ по военно-политической работе А.М. Смирнов выразил слова благодарности всем священнослужителям Русской Православной Церкви, окормляющим соединения, воинские части, учреждения и организации радиационной, химической и биологической защиты, за их духовную поддержку и молитвенную помощь.

В ходе мероприятия состоялась церемония награждения представителями Общероссийской общественной организации содействия укреплению обороноспособности и правопорядка «Офицеры России» сотрудников 27 НЦ МО РФ за значительный вклад в обеспечение РХБ безопасности государственных и военных объектов и патриотическое воспитание подрастающего поколения.

Член Союза Ветеранов Госбезопасности Ксения Минина выступила с литературной композицией «Солдаты».

Завершением мероприятия стал праздничный концерт с участием группы военно-патриотической песни отдела культуры Центрального Дома Российской Армии. Перед участниками выступили: Лауреат Всероссийских и международных конкурсов Елена Фокина, композитор, заслуженный деятель искусств России Владимир Храпов и другие известные исполнители.

*Младший научный сотрудник 27 НЦ МО РФ
Соляник Нелли Павловна*

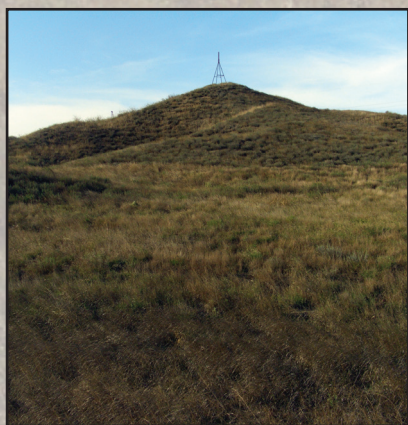
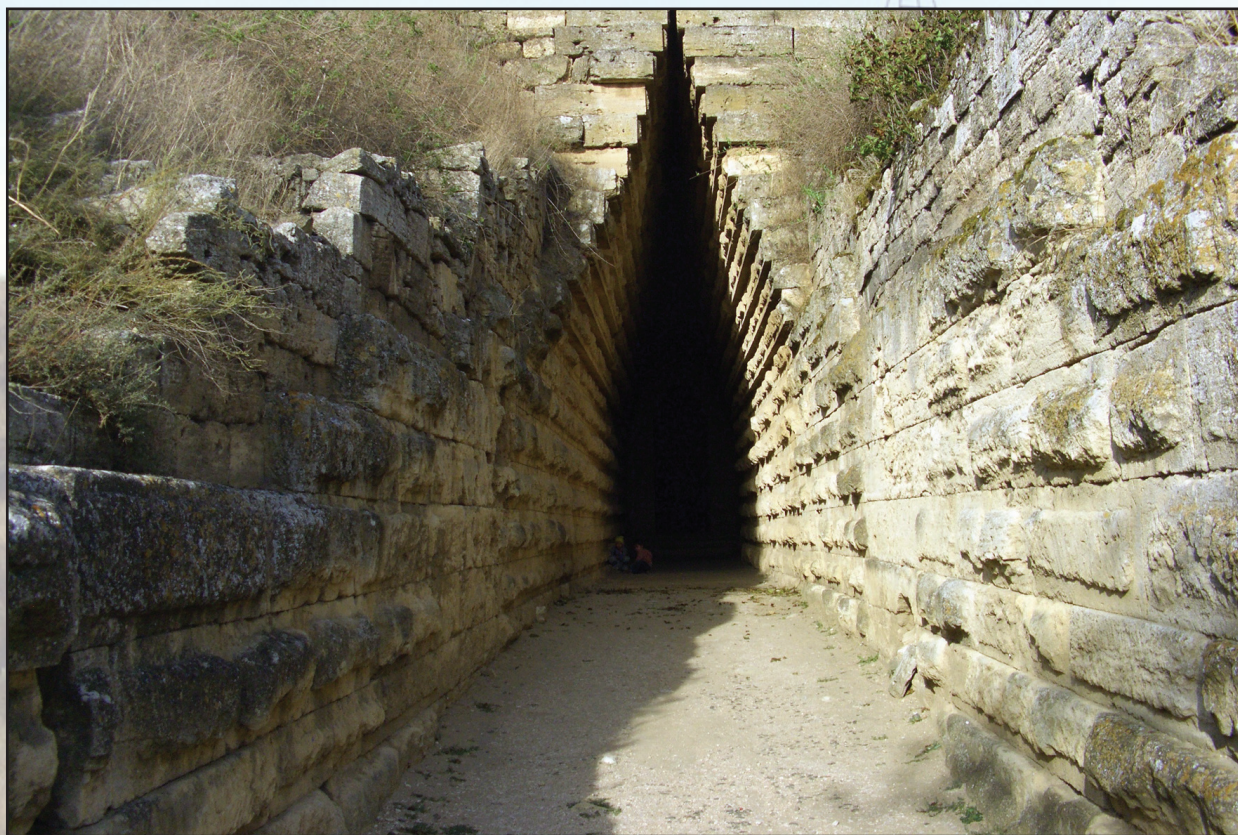
Указатель авторов и статей журнала за 2019 год

Название	Номер журнала	Номера страниц
Редакционная статья		
Обращение главного редактора к читателям	№ 1	3
Поздравления и обращения к личному составу 27 Научного центра	№ 4	303-306
В.А. Ковтун. Федеральному государственному бюджетному учреждению «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации исполняется 45 лет	№ 4	307-310
Общие вопросы РХБ защиты войск и населения		
Иноземцев В.А., Григорьев А.А., Ефимов И.Н., Позвонков А.А., Солошин А.С. Основные направления совершенствования программно-математического обеспечения подвижных лазерных комплексов дистанционной химической разведки. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-1-4-14	№ 1	4-14
Проблемы соблюдения Конвенций о запрещении химического и биологического оружия		
Онучина Н.В., Кузнецовский А.В., Соибанов В.Д. Оценка возможности получения рекомбинантного белка сибирезвонного бактериолизина PlyPH и исследование in vitro его литических свойств в отношении микробных клеток <i>Bacillus anthracis</i> . https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-1-5-22	№ 1	5-22
Крылов В.И., Крылов И.И., Яшкир В.А., Рыбальченко И.В. Синтез О-тирозинфосфорилированных аддуктов различных производных метилфосфоновой и фосфорной кислот в качестве соединений сравнения для анализа биомедицинских проб. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-2-103-110	№ 2	103-110
Игнатьев В.А., Петракова Л.В., Понсов М.А., Родионов А.А. Поиск оптимальных параметров газохроматографического комплекса при определении заринов в пробах воды пламенно-фотометрическим детектированием. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-3-203-216	№ 3	203-216
Химическая безопасность и защита от химического терроризма		
Efremenko E.N., Lyagin I.V. Advanced Biocatalysts Based on Hexahistidine-Containing Organophosphorus Hydrolase for Chemical and Biological Defense. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-2-111-116	№ 2	111-116
Завьялов В.В., Куржело С.В., Завьялова Н.В., Ковтун В.А., Холстов В.И., Таранченко Ю.Ф., Сластникова Л.М., Ефременко Е.Н., Синькев А.П. Современные направления создания новых защитных материалов и тканей для средств индивидуальной и коллективной защиты от токсичных химикатов и клеток патогенов. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-3-217-254	№ 3	217-254
Микиша А.Ю., Эрдинов Л.П., Власов А.А., Леготин И.В., Ермолаева И.А., Комиссаренко С.А., Нельга И.А. Возможности сохранения работоспособности при отравлениях фосфорорганическими соединениями. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-311-318	№ 4	311-318
Биологическая безопасность и защита от биологических угроз		
Аминин Д.Л., Калинин В.И. Токсические свойства тритерпеновых гликозидов голотурий. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-1-23-39	№ 1	23-39
Калина Р.С., Монастырская М.М. Нейро- и кардиотоксины актиний: структура, функция и перспективы применения в научной и медицинской практике. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-2-117-136	№ 2	117-136
Лещенко А.А., Шаров Д.А., Бирюков В.В., Косенков И.В., Позгорельский И.П., Лазыкин А.Г., Ежов А.В., Багин С.В., Логвинов С.В., Мохов Д.А., Крупин В.В. Мембранные технологии в производствах иммунобиологических лекарственных препаратов, выпускаемых филиалом федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Курск). https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-2-137-149	№ 2	137-149
Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Пантюхов В.Б., Вахнов Е.Ю., Борисевич С.В. Обоснование выбора лабораторной модели для доклинической оценки медицинских средств защиты в отношении бразильской геморрагической лихорадки. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-311-318	№ 4	311-318
Сизикова Т.Е., Боярская Н.В., Ковальчук А.В., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Новые представители семейства Filoviridae: распространение, природные резервуары, потенциальная эпидемическая опасность. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-329-336	№ 4	329-336
Шевцов А.Н., Коротышев О.В., Пермяков С.А., Позгорельский И.П. Вакцинопрофилактика сибирской язвы в Российской Федерации и ее ближайшие перспективы. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-337-349	№ 4	337-349
Новикова О.Д., Портнягина О.Ю., Вострикова О.П., Иванис В.А. Иммунотропные и иммуногенные свойства неспецифических поринов иерсиний. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-350-372	№ 4	350-378
Химическое и биологическое оружие в войнах и конфликтах		
Супотницкий М.В., Шило Н.И., Ковтун В.А. Химическое оружие в ирано-иракской войне 1980–1988 годов. 1. Подготовка Ирака к химической войне. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-1-40-64	№ 1	40-64
Супотницкий М.В., Шило Н.И., Ковтун В.А. Применение химического оружия в ирано-иракской войне 1980–1988 годов. 2. Применение химического оружия в боевых действиях. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-2-150-174	№ 2	150-174
Супотницкий М.В., Шило Н.И., Ковтун В.А. Применение химического оружия в ирано-иракской войне 1980–1988 годов. 3. Медицинские последствия химической войны https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-3-255-289	№ 3	255-289

Исторический архив		
Нельга И.А., Медвецкий И.В., Злобин А.В., Третьяков С.В., Шерстюк А.В., Костюченко И.В. Химическое оружие: история исследования фосфорорганических отравляющих веществ за рубежом. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-2-175-193	№ 2	175–193
Вооружение и средства войск РХБ защиты		
Кузнецова Н.И., Ивашёв И.П., Медвецкий И.В. Использование баковых смесей гербицидных препаратов для уничтожения нежелательной растительности на объектах Министерства обороны Российской Федерации. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-1-65-74	№ 1	65–74
Кузнецова К.П., Солнышков С.Н. Разработка специальных интерактивных обучающих компьютерных программ для подготовки специалистов войск радиационной, химической и биологической защиты. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-373-380	№ 4	373–380
Охрана результатов интеллектуальной деятельности в войсках РХБ защиты		
Супотницкий М.В. Что следует знать при патентовании изобретений, созданных в войсках радиационной, химической и биологической защиты https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-4-381-393	№ 4	381–393
Хроника		
Юбилей главного редактора журнала «Вестник войск РХБ защиты» доктора технических наук, лауреата Ленинской премии 1991 г., генерал-полковника в отставке Станислава Вениаминовича Петрова, в 1989–1991 гг. Начальник химических войск СССР, в 1992–2001 гг. Начальник войск РХБ защиты. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2019-3-1-75-81	№ 1	75–81
Представители войск РХБ защиты ВС РФ приняли участие в XXVII Международных Рождественских образовательных чтениях и в торжественном акте в честь 10-летия Поместного Собора Русской Православной Церкви и интронизации Патриарха Кирилла	№ 1	82
Выставка трофейной техники и оружия иностранного производства в Государственной Думе	№ 1	84
В Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко проведена историко-патриотическая акция «Военно-исторический диктант»	№ 1	86
В 282 учебном Трансильванском Краснознаменном ордена Александра Невского центре войск РХБ защиты приведено к присяге молодое пополнение	№ 1	86
Сюкрев Вячеслав Петрович (к 80-летию со дня рождения)	№ 2	194
Участие представителей войск РХБ защиты ВС РФ в масштабной военно-патриотической акции «Сирийский перелом»	№ 2	196
В Первой мобильной бригаде РХБ защиты прошли торжественные мероприятия, посвященные 40-летней годовщине со дня образования	№ 2	198
Более 20 000 человек посетили фан-зону международного конкурса на лучший экипаж РХБ разведки «Безопасная среда»	№ 3	289
Представители войск РХБ защиты ВС РФ приняли участие в торжествах, посвященных 630-летию блаженной памяти благоверного великого Московского князя Дмитрия Донского	№ 3	291
Выпуск офицеров Военной академии РХБ защиты им. Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко	№ 3	292
Участие представителей войск РХБ защиты ВС РФ в торжественном мероприятии, посвященном 95-летию со дня рождения Героя Советского Союза В.К. Пикалова в Музее Героев	№ 3	293
Памяти героев огнеметчиков – защитников Москвы (митинг-реквием в деревне Акулово)	№ 3	294
Межведомственное учение на Смоленской атомной электростанции	№ 3	297
Памяти Кунцевича Анатолия Демьяновича	№ 3	298
Памяти Архангельского Глеба Ивановича	№ 3	299
Махлай Александр Александрович (к 75-летию со дня рождения)	№ 3	300
Памяти Антонова Николая Серафимовича (16.12.1924 г. – 5.01.2019 г.)	№ 4	394
Маньковский Геннадий Иванович (к 70-летию со дня рождения)	№ 4	395
Каляев Николай Иванович (к 70-летию со дня рождения)	№ 4	396
Участие представителей войск РХБ защиты ВС РФ в заседании XXIII Всемирного русского народного собора	№ 4	397
Заложен прочный фундамент сотрудничества с Русской Православной Церковью	№ 4	398

Наша замечательная Россия

«Царский курган» вблизи Керчи, Крым



Странное сооружение вблизи Керчи археологи относят к погребальным памятникам античной архитектуры второй половины IV в. до н.э. Но до настоящего времени не было найдено материальных находок, способных пролить свет на его предназначение и возраст. Если это усыпальница, то она единственная в своем роде; подобной усыпальницы нет ни в Греции, ни во всем Причерноморье. Отсутствуют признаки использования сооружения для погребения. Удивительная филигранность прослеживается в подгонке блоков коридора (дромоса). За несколько тысяч лет сооружение выдержало землетрясения и другие катаклизмы. Если смотреть из камеры «гробницы» в сторону выхода, создается впечатление, что 36-метровый дромос гораздо длиннее, чем на самом деле. Такая иллюзия кем-то задумана при строительстве сооружения и происходит от того, что толщина блоков, из которых сложены стены, постепенно уменьшается к выходу из камеры. Археологи объясняют за неизвестных строителей их замысел желанием показать, что путь в загробный мир ближе, чем выход из него. Но кто и как смог вырубить и уложить такие точные плоскости, остается загадкой. На верхней фотографии показан вход в дромос «гробницы». Его высота 17 м, построен из рустованных (имитирующих неотесанный камень) каменных блоков. Фотографии в нижнем ряду: слева – так выглядит сам курган; справа – купол (состоит из 12 постепенно уменьшающихся в диаметре концентрических колец); в центре – «погребальная камера».

Фотографии М.В. Супотницкого



Поздравляем члена редколлегии нашего журнала,
доктора биологических наук
АМИНИНА ДМИТРИЯ ЛЬВОВИЧА
с избранием членом-корреспондентом РАН
(Отделение биологических наук РАН,
Секция физико-химической биологии)

Закончил в 1979 г. биологический факультет (кафедра биохимии) Дальневосточного государственного университета по специальности «биология». В настоящее время работает в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток), заведующий лабораторией биоиспытаний и механизмов действия биологически активных веществ. Индекс Хирша (РИНЦ) – 19, индекс Хирша (WoS) – 17. Количество научных трудов – 203, из них монографий – 5, патентов – 10; число цитат публикаций, индексируемых в системе научного цитирования РИНЦ – 1191; число публикаций в журналах, индексируемых в международной базе данных WEB of Science – 78; цитируемость научных работ по РИНЦ (за последние пять лет) – 709. Под его руководством защищено 2 кандидатские диссертации.

Д.Л. Аминин – член Российского общества биохимиков и молекулярных биологов; член редколлегии журналов «Pharmacologia», «Jacobs Journal of Allergy and Immunology», «Global Journal of Cancer Therapy»; «Medical and Clinical Archives»; «EC Pharmacology and Toxicology»; «Вестник войск РХБ защиты»; эксперт журнала «Биология моря»; член Ученого Совета ТИБОХ ДВО РАН, эксперт РФФИ, эксперт РНФ.

Редакция журнала «Вестник войск РХБ защиты»



Сайт журнала



РИНЦ

