

ISSN 2587-5728 (Print)
ISSN 3034-2791 (Online)

Nº / No.

9

4

ОКТАБРЬ – ДЕКАБРЬ
OCTOBER – DECEMBER

2025

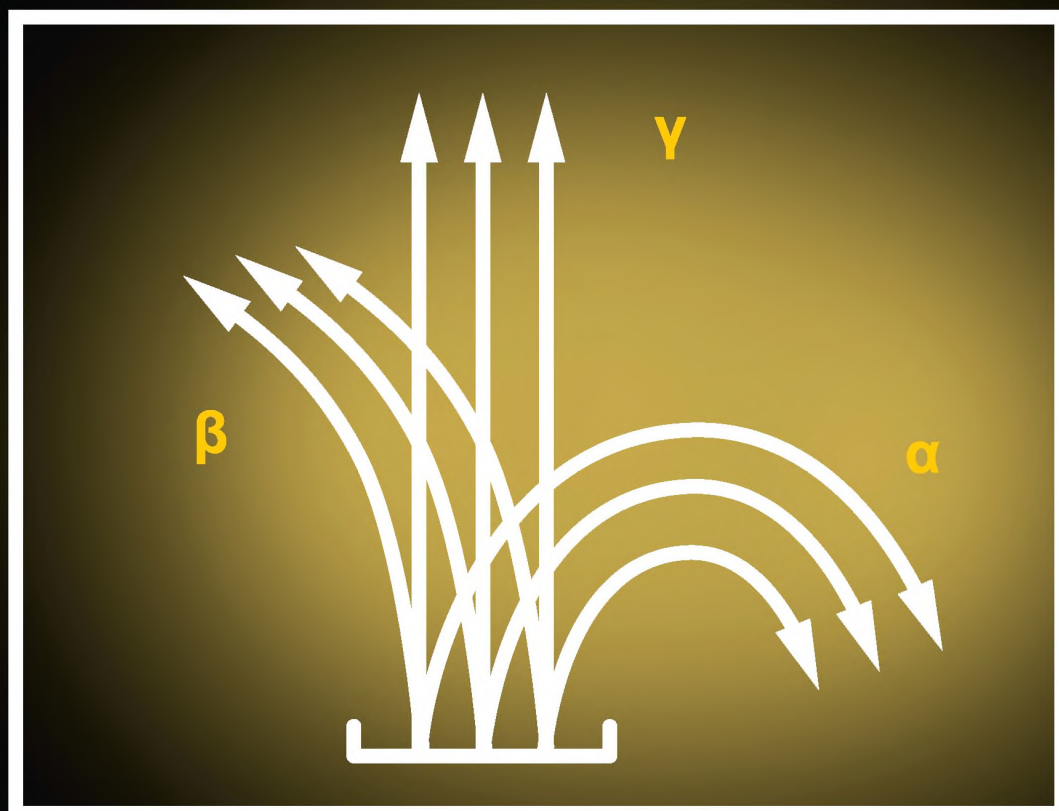
www.nbsprot.ru

ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

JOURNAL OF NBC PROTECTION CORPS

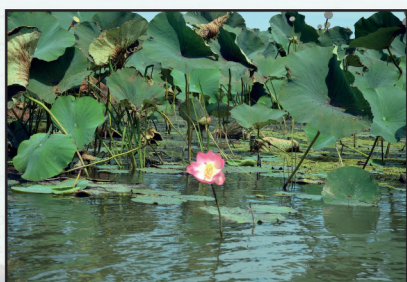
Проблемы соблюдения конвенций по запрещению химического и биологического оружия

The Problems of Adherence to the Chemical and Biological Weapons Conventions



Наша замечательная Россия

Дельта Волги



То, что Волга впадает в Каспийское море, все знают с детства. Фраза из рассказа великого писателя А.П. Чехова «Учитель словесности» воспринимается как неоспоримый факт. Но это не совсем точно – Волга разбивается почти на 500 рукавов, небольших речушек и протоков, и по ним вливается в Каспийское море. Такое природное образование называется дельтой реки. Оно происходит от заглавной буквы «дельта» греческого алфавита, имеющей треугольную форму. Площадь дельты Волги оценивается примерно в 19 тыс. км², расстояние между восточным (река Бузан) и западным (река Бахтемир) рукавами достигает 170 км. Положение дельты и ее размер зависят от изменений уровня Каспия, крупнейшего бессточного озера на планете. Формирование современной дельты Волги началось около 9 тыс. лет назад. В силу понижения уровня Каспийского моря, площадь дельты за последние 130 лет выросла в девять раз. Волжская дельта славится богатством водных и земных экосистем. Ландшафты включают леса, пустыни, заросли тростника и лotosовые дикорастущие поля. Богатство ландшафтов обеспечивает уникальные условия для обитания растений и животных. Здесь располагается охраняемый государством Астраханский заповедник. В Каспийское море суда проходят по Волго-Каспийскому каналу, проложенному в конце XIX в. через глубоководный участок реки Бахтемир и часть дельты Волги. Его длина 188 км.

Фотография *верхнего* ряда – типичный пейзаж дельты Волги в 90 км от Астрахани. Нижний ряд. *Слева* – Лотос каспийский (лат. *Nelumbo caspicum*) – занесен в Красную книгу России. *В центре* – в дельте огромное количество разных видов птиц. *Справа* – тростниковые заросли, неправильно называемые камышом. Это травяное растение образует непроходимые заросли (крепи), напоминающие травяные джунгли тропических стран. Высота тростника достигает до 6 м. Вместе с населяющим его сообществом бактерий он сорбирует и нейтрализует значительную часть загрязнений волжской воды.

Фотографии М.В. Супотницкого

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук



Журнал издается
с 2017 года

ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

ISSN 2587-5728

(Print)

ISSN 3034-2791

(Online)

Том 9, № 4

2025 г.

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. «Вестник войск РХБ защиты» – единственный журнал в Российской Федерации, который рассматривает научные проблемы соблюдения конвенций о запрещении химического и биологического оружия, а также историю применения химического и биологического оружия в войнах и конфликтах.

Учредитель и издатель

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского»
Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ)

Выходит ежеквартально

Главный редактор

Петров Станислав Вениаминович.

Доктор технических наук. Главный научный сотрудник 27 НЦ МО РФ.
Москва, Россия

Заместители главного редактора

Супотницкий Михаил Васильевич

Кандидат биологических наук. Старший научный сотрудник. Главный специалист 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Колесников Дмитрий Петрович

Кандидат технических наук, доцент. Старший научный сотрудник 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Научный редактор

Лебединская Елена Владимировна

Кандидат биологических наук. Научный редактор отдела 27 НЦ МО РФ.
Москва, Россия

Редактор перевода

Сафонова Анна Олеговна

Редактор, дизайн, верстка

Щачнева Наталья Владимировна

Научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Редакционная коллегия

Агеев Николай Валентинович

Доктор исторических наук, профессор. Преподаватель кафедры истории войн и военного искусства Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Аминин Дмитрий Львович

Доктор биологических наук, член-кор. РАН. Начальник лаборатории биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН. Владивосток, Россия

Бей Евгений Васильевич

Доктор исторических наук. Заместитель начальника отдела Научно-исследовательского института (военной истории) Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Григорьев Андрей Михайлович

Доктор химических наук. Старший научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ.
Москва, Россия

Дармов Илья Владимирович

Доктор медицинских наук, профессор. Главный научный сотрудник научно-исследовательского управления филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

Ефременко Елена Николаевна

Доктор биологических наук, профессор. Заведующая лабораторией кафедры химической энзимологии химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Москва, Россия

Завьялова Наталья Васильевна

Доктор биологических наук, профессор. Главный научный сотрудник управления 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Кондратьев Владимир Борисович

Доктор технических наук, профессор. Генеральный директор ГНИИ органической химии и технологии. Москва, Россия

Лакота Ян Янович

Доктор медицинских наук. Кандидат медицинских наук (онкология). Сотрудник Центра экспериментальной медицины Словацкой академии наук. Братислава, Словакия

Лещенко Андрей Анатольевич.

Доктор технических наук, профессор. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

К публикации принимаются статьи, подготовленные на русском и английском языках, в соответствии с правилами для авторов, размещенными на сайте журнала

<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>

Преимуществом в опубликовании пользуются работы по научным специальностям:

6.2.1. Вооружение и военная техника (технические науки).

6.2.10. Поражающее действие специальных видов оружия, средства и способы защиты (химические науки, технические науки, биологические науки).

6.3.3. Военная история (исторические науки).

Рецензируемый журнал открытого доступа, индексируется в базах данных: Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), ядро РИНЦ, Russian Science Citation Index (RSCI), Chemical Abstract Service (CAS), Российская государственная библиотека, DOAJ, ROAD, Академия Google (Google Scholar), Mendeley, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, Lens.org, Ulrichsweb, Unpaywall, OpenCitations, Semantic Scholar, Wikidata и др.

Включен в Информационный ресурс системы военно-научной информации Вооруженных Сил Российской Федерации.

Условия оферты для авторов приведены в п. 12 Правил для авторов (<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>).

Используется модель двойного слепого рецензирования. Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописей не взимается.

Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution International 4.0 (CC BY 4.0).

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.

Позиция редакции может не совпадать с точкой зрения авторов.

Монаков Михаил Сергеевич

Доктор исторических наук. Старший научный сотрудник отдела Научно-исследовательского института (военной истории) Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Нечипуренко Юрий Дмитриевич

Доктор физико-математических наук. Ведущий научный сотрудник лаборатории ДНК-белковых взаимодействий Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН. Москва, Россия

Родин Игорь Александрович

Доктор химических наук. Заместитель декана по научно-инновационной работе химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Москва, Россия

Рыбальченко Игорь Владимирович

Доктор химических наук, профессор. Ведущий научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Холстов Виктор Иванович

Доктор химических наук, профессор. Руководитель Центра аналитических исследований Российской Федерации по конвенциям о запрещении химического и биологического оружия при Минпромторге России. Москва, Россия

Чугунов Евгений Анатольевич

Кандидат исторических наук. Доцент Военной академии РХБ защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко МО РФ. Кострома, Россия

Редакционный совет

Ртищев Алексей Викторович (председатель)

Начальник войск РХБ защиты ВС РФ. Москва, Россия

Ковтун Виктор Александрович (заместитель председателя)

Кандидат химических наук, доцент. Начальник 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Иноземцев Валерий Александрович

Доктор военных наук. Начальник ФГБУ «33 ЦНИИ» МО РФ. Вольск, Россия

Туманов Александр Сергеевич

Кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник. Начальник филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

Шабельников Максим Петрович

Кандидат технических наук. Заместитель начальника 27 НЦ МО РФ по НИР. Москва, Россия

**Тема номера: Проблемы соблюдения конвенций по запрещению химического
и биологического оружия**

**Проблемы соблюдения конвенций по запрещению химического
и биологического оружия**

Эпигенетика и новая эра биологического оружия Ян Лакота.	305
Алгоритм действий на месте химического инцидента для сохранения вещественных доказательств В.В. Завьялов, А.А. Завьялова, Н.В. Завьялова, В.А. Ковтун, М.П. Шаройко	322
Структурная идентификация и сравнительная оценка содержания метаболитов инкапсита BZ в моче и плазме крови крыс И.И. Коваленко, А.С. Ярлыченко, Я.В. Ставитская, Н.А. Колосова, И.В. Рыбальченко, А.М. Григорьев.	345

Химическое и биологическое оружие в войнах и конфликтах

Исследование возникновения в 1977 году эпидемии лихорадки долины Рифт в Египте В.А. Маркин.	370
--	-----

Вооружения и средства войск РХБ защиты

Нанопоровое секвенирование: теория и практика А.А. Петров, А.М. Ермаков, Д.П. Белозеров, М.Ю. Павлюков, М.И. Солдатенкова, Д.А. Кутаев, С.В. Борисевич	383
Указатель авторов и статей журнала за 2025 год	399

Адрес редакции:

27 НЦ МО РФ, 111024, г. Москва, проезд Энтузиастов, д.19.
Тел.: 8 (495) 693-44-48, e-mail: 27nc_1@mil.ru
Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).
Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № 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: 27.12.2025 г. Дата выхода в свет 30.12.2025 г. Тираж 400 экз. Цена свободная.
Подписной индекс в каталоге «Пресса России» — 33015
Отпечатано в типографии:
ФГУП «ЦНИИХМ им. Д.И. Менделеева», 115487, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 16 А. Тел.: 8 (499) 611-51-29, e-mail: ntrved@cniihm.ru

The journal is included in the List of peer-reviewed scientific publications that the State Commission for Academic Degrees and Titles recommends for publishing the main scientific results of theses for Candidate of Science and Doctor of Science degrees



JOURNAL

OF NBC PROTECTION CORPS

[Vestnik voysk RChB zashchity]

ISSN 2587-5728

(Print)

ISSN 3034-2791

(Online)

Vol. 9 No 4

2025

Published since
2017

"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. "Journal of NBC Protection Corps" is the only journal in the Russian Federation that examines the scientific problems of compliance with the conventions on the prohibition of chemical and biological weapons, as well as the history of the use of chemical and biological weapons in wars and conflicts.

Founder and Publisher

27 Scientific Centre Named After Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Quarterly Edition

Editor-in-Chief

Stanislav V. Petrov

Doctor of Technical Sciences. Leading Researcher of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Mikhail V. Supotnitskiy

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher. Chief Specialist of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Dmitry P. Kolesnikov

Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Science Editor

Elena V. Lebedinskaya

Translation Editor

Anna O. Safonova

Editor, CRC preparation:

Natalia V. Shachneva

Researcher at the Department of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Articles in Russian and English are accepted for publication, prepared in accordance with the rules for authors posted on the journal's website

<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>

Papers in scientific specialties

6.2.1. Armament and military equipment (technical sciences).

6.2.10. The destructive effect of special types of weapons, means and methods of protection (chemical sciences, technical sciences, biological sciences).

6.3.3. Military history (historical sciences).

The peer-reviewed open access journal is indexed in the following databases:

Russian Index of Science Citation (RISC), RISC Core, Russian Science Citation Index (RSCI), Chemical Abstract Service (CAS), Russian State Library, DOAJ, ROAD, Google Scholar (Google Scholar), Mendeley, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, Lens.org, Ulrichsweb, Unpaywall, OpenCitations, Semantic Scholar, Wikidata, etc.

Included in the Information Resource of the Military-Scientific Information System of the Armed Forces of the Russian Federation.

The terms of the offer for authors are given in §12 of the Rules for Authors (<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>). A double-blind review model is used. There is no fee for publishing an article or reviewing a manuscript. The content is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International license (CC BY 4.0).

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 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.

Editorial Board

Nikolay V. Ageyev

Doctor of Historical Sciences, Professor. Lecturer of the Subdepartment of History of Wars and Military Art of the Military Academy of the RF Armed Forces' General Staff. Moscow, Russia

Dmitry L. Aminin

Doctor of Biological Sciences. Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences. Head of the Laboratory of Biotesting and the Mechanism of Action of Biologically Active Substances. Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. Vladivostok, Russia

Yevgeny V. Bey

Doctor of Historical Sciences, Deputy Head of the Department at the Military History Research Institute of the Military Academy of the RF Armed Forces' General Staff. Moscow, Russia

Andrej M. Grigoryev

Doctor of Chemical Sciences. Senior Researcher of the Department of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Ilya V. Darmov

Doctor of Medical Sciences. Professor. Chief Research Associate of the Research Department. Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov), MD RF. Kirov, Russia

Elena N. Efremenko

Doctor of Biological Sciences, Professor. Head of the Laboratory, Department of Chemical Enzymology, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Natalia V. Zavyalova

Doctor of Biological Sciences. Professor. Chief Researcher of the Department of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Vladimir B. Kondratiev

Doctor of Technical Sciences. Professor. General Director of the State Research Institute of Organic Chemistry and Technology. Moscow, Russia

Lakota Ján

MUDr., (MD), CSc. (PhD). Senior Lecturer, Fellow at the Center of experimental medicine SAS. Bratislava, Slovakia

Andrey A. Leshchenko

Doctor of Technical Sciences, Professor. Leading Researcher of the Scientific and Research Department. Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov), MD RF. Kirov, Russia

Mikhail S. Monakov

Doctor of Historical Sciences, Senior Researcher of the Department at the Military History Research Institute of the Military Academy of the RF Armed Forces' General Staff. Moscow, Russia

Yuri D. Nechipurenko

Doctor of Physical and Mathematical Sciences. Chief Researcher, Laboratory of DNA-Protein Interactions, Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Igor A. Rodin

Doctor of Chemical Sciences. Deputy Dean of the Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Igor V. Rybalchenko

Doctor of Chemical Sciences. Professor. Leading Researcher of the Department of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Viktor I. Kholstov

Doctor of Chemical Sciences. Professor. Head of the Russian Center for Analytical Research on Conventions on the Prohibition of Chemical and Biological Weapons under the Ministry of Industry and Trade of Russia. Moscow, Russia

Yevgeniy A. Chugunov

Candidate of Historical Sciences. Associate Professor. NBC Defence Military Academy Named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko (Kostroma), MD RF, Kostroma, Russia

Editorial Council

Alexey V. Rtishchev (Chairman)

Chief of Nuclear, Chemical and Biological Protection Troops of Armed Forces of Russian Federation. Moscow, Russia

Viktor A. Kovtun (Deputy chairman)

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor. Head of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Valery A. Inozemtsev

Doctor of Military Sciences. Head of the 33 Central Scientific Research Test Institute, MD RF. Volsk, Russia

Alexander S. Tumanov

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher. Head of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov), MD RF. Kirov, Russia

Maxim P. Shabelnikov

Candidate of Technical Sciences. Deputy Head of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Theme of the Issue: The Problems of Adherence to the Chemical and Biological Weapons Conventions

The Problems of Adherence to the Chemical and Biological Weapons Conventions

Epigenetics and a new era of biological weapons Ján Lakota	305
Standard procedure at chemical accident site to ensure protection of evidence V.V. Zavyalov, A.A. Zavyalova, N.V. Zavyalova, V.A. Kovtun, M.P. Sharoyko	322
Structural identification and comparative assessment of the content of BZ incapacitant metabolite in rat urine and blood plasma I.I. Kovalenko, A.S. Iarlychenko, J.V. Stavitskaya, N.A. Kolosova, I.V. Rybalchenko, A.M. Grigoryev.	345

Chemical and Biological Weapons in Wars and Conflicts

A study of the occurrence of the Rift Valley fever epidemic in Egypt in 1977 V.A. Markin.	370
---	-----

Weapons and Means of NBC Protection Troop

Nanopore sequencing: theory and practice A.A. Petrov, A.M. Ermakov, D.P. Belozerov, M.Yu. Pavlyukov, M.I. Soldatenkova, D.A. Kutaev, S.V. Borisevich	383
2025 Index	399

Address of the Editorial Office:

Federal State Budgetary Establishment
27 Scientific Centre Named After Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Entuziastov Passage, 19, Moscow, 111024, Russian Federation.
Tel.: 8 (495) 693-44-48, e-mail: 27nc_1@mail.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.

Passed for printing: 27 December 2025.
Date of publication: 30 December 2025.

Print run: 400 copies. Free price

Subscription codes Pressa Rossii catalogue: 33015

Published in: Federal State Unitary Establishment «TsNIIKhM» named after D.I. Mendeleev»
Nagatinskaya Str. 16A, Moscow 115487, Russian Federation
Tel.: 8 (499) 611-51-29, e-mail: ntrved@cniihm.ru



Epigenetics and a new era of biological weapons

Ján Lakota

Centre of Experimental Medicine, SAS,
Dubravská cesta 9, 841 04 Bratislava, Slovakia
e-mail: jan.lakota@savba.sk

Highlights

- The research of epigenetic inheritance mechanisms opens up possibilities for creating new types of biological damaging agents and changing the targets and methods of biological warfare.
- The use of epigenetic mechanisms for *in vivo* gene expression manipulation requires the development of strict international regulatory protocols, biosecurity systems, and broad public discussion about the ethical boundaries of scientific intervention.

Relevance. Driven by the explosive interest of molecular biologists in studying small RNAs and the epigenetic changes they cause in the inheritance of phenotypic traits.

The purpose of the study is to identify the level and directions of research on small RNAs capable of inducing pathological processes.

The source base of the study. Articles from scientific journals accessible through the PubMed search engine.

Research method. Analytical.

Results. The current level of understanding of epigenetic gene control mechanisms allows for targeted *in vivo* gene expression management and impact on future generations through epigenetic modifications. Hundreds of pathological conditions caused by interference with the epigenetic regulation of phenotypic traits have been identified. Technologies have been developed for the artificial introduction of specific small RNAs (sRNAs) into germ cells that are not “products” of maternal/paternal “genetic material.” These sRNAs accumulate in germ cells (oocytes, spermatozoa) and are transmitted to offspring after fertilization, i.e., to the next generation(s). sRNAs are known for their long-term stability and resistance to RNases. They can enter the human body through food, aerosol routes, parenterally (vaccines, DNA/RNA preparations) and be transmitted to subsequent generations.

Conclusions. The development of epigenetic gene control technologies carries unprecedented risks. Uncontrolled or malicious application of these tools could lead to catastrophic consequences, including:

- A sharp increase in pathologies in subsequent generations due to off-target effects that can be inherited;
- Disruption of the genetic stability of the human population due to unpredictable long-term consequences of interference with the epigenome;
- Targeted depopulation of specific ethnic groups or whole humankind.

Keywords: biological weapons; biosecurity; epigenetic inheritance; epigenetic weapons; epigenetics; expression manipulation; genetic stability; heritable pathologies; heritable pathologies; population destabilization; small RNAs, sRNAs; targeted gene; transgenerational inheritance

For citation: Lakota J. Epigenetics and a new era of biological weapons. *Journal of NBC Protection Corps*. 2025;9(4):305–321. EDN:ttvaln.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-305-321>

Financial disclosure: The author has no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The author has been a member of the Editorial Board of the journal (since 2023). This had no impact on the peer review process and the final decision.

AI use: The author has not resorted to.

Funding: There are no funding sources to declare.

Received September 1, 2025. Revised October 20, 2025. Accepted December 27, 2025.

© J. Lakota, 2025

Эпигенетика и новая эра биологического оружия

Ян Лакота

Центр экспериментальной медицины, Словацкая Академия наук,
Дубравская дорога, 9, 841 04, Братислава, Словакия
e-mail: jan.lakota@savba.sk

Основные моменты

- изучение механизмов эпигенетического наследования открывает возможности создания биологических поражающих агентов нового типа и, соответственно, изменения целей и способов ведения биологической войны;

- использование эпигенетических механизмов для манипуляции экспрессией генов *in vivo* требует разработки строгих международных протоколов регулирования, систем биобезопасности и широкой общественной дискуссии о этических границах научного вмешательства.

Актуальность. Обусловлена взрывным интересом молекулярных биологов к изучению малых РНК и вызываемых ими эпигенетический изменений в наследовании фенотипических признаков.

Цель исследования – выявить уровень и направления исследований малых РНК, способных вызывать патологические процессы.

Источниковая база исследования. Статьи из научных журналов, доступные через поисковую систему PubMed.

Метод исследования. Аналитический.

Результаты. В настоящее время уровень изученности эпигенетических механизмов управления генами позволяет целенаправленное управление экспрессией генов *in vivo* и воздействие на будущие поколения через эпигенетические модификации. Установлены сотни патологических состояний, вызванные вмешательством в эпигенетическую регуляцию фенотипических признаков. Разработаны технологии искусственного введения в половые клетки определенных малых РНК (sRNA), не являющихся «продуктом» материнского/отцовского «генетического материала». Эти sRNA накапливаются в половых клетках (ооцитах, сперматозоидах) и после оплодотворения передаются потомству, т.е. следующему поколению (поколениям). sRNA известны своей долговременной стабильностью и устойчивостью к РНКазам. Они могут проникать в организм человека с пищей, аэрозольным путем, парентерально (вакцины, препараты ДНК и РНК) и передаваться в следующие поколения.

Заключение. Развитие технологий эпигенетического управления генами несет в себе беспрецедентные риски. Неконтролируемое или злонамеренное применение этих инструментов способно привести к катастрофическим последствиям, включая резкий рост патологий у последующих поколений вследствие нецелевых эффектов, которые могут наследоваться; нарушения генетической стабильности человеческой популяции из-за непредсказуемых долгосрочных последствий вмешательства в эпигеном, а также целенаправленную депопуляции отдельных этнических групп или человечества в целом.

Ключевые слова: биобезопасность; биологическое оружие; внутрипоколенческое наследование; генетическая стабильность; дестабилизация популяции; малые РНК; направленное изменение экспрессии генов; наследственные патологии; эпигенетика; эпигенетическое оружие; эпигенетическое наследование

Для цитирования: Лакота Я. Эпигенетика и новая эра биологического оружия. Вестник войск РХБ защиты. 2025;9(4):305–321. EDN:ttvaln.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-305-321>

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: автор является членом редколлегии журнала (с 2023 г.). Это не повлияло на процесс рецензирования и окончательное решение.

Использование искусственного интеллекта: автор не использовал.

Финансирование: источников финансирования для декларирования нет.

Поступила 01.09.2025 г. После доработки 20.10.2025 г. Принята к публикации 27.12.2025 г.

According to Darwin's Pangenesis, cells could "throw off" minute gemmules, which were capable of diffusion from cell to cell or circulation through the body, modification by changes of the environment and the effects of use and disuse, union with germ cells, and transmission from parent to offspring. If the cells of the body are modified by changes in the environment or by the effects of use and disuse, they would shed modified gemmules, which are transmitted with their acquired characters to the offspring [1]. Today Darwin's gemmules are described as "extracellular vesicles". Extracellular vesicles (EV) are a heterogeneous group of cell-derived membranous structures comprising exosomes (size 50–150 nm) and microvesicles (50–500 nm (up to 1 µm)) [2]. Study of extracellular vesicle composition revealed that they can carry various cargoes, including proteins, lipids and nucleic acids, and this content can vary widely between cells and conditions. Apart from proteins, extracellular vesicles also carry nucleic acids, including RNAs (mRNAs and non-coding RNAs, including small RNAs (sRNAs)) and DNA sequences. sRNAs have been shown to be differentially sorted to exosomes depending on their sequence (presence of specific motifs), which indicates that incorporation of nucleic acids into exosomes is regulated. It has been shown that exosome-mediated transfer of mRNAs and small RNAs (sRNAs) is a novel mechanism of genetic exchange between cells [2].

The literature about EV is extensive, new and newer comprehensive descriptions are appearing [3–6]. It should be noted that mainly the EV with small RNAs cargo which modify recipient cell protein production and gene expression (here in the germ cell lines) today "update" Darwin's more than 150 years old genial idea of the inheritance of acquired characters ("pangenesis") [1, 7, 8].

However, there are two sites of the same coin. From history, we know that the research of uranium fission in the early 20 century led on one hand to nuclear powerhouses, on the other hand to the creation of nuclear weapons. Research into the inheritance of "acquired characteristics" is a path toward changing human heredity. The hereditary "changes" can cure or significantly improve hereditary diseases. On the other hand, it can lead to incredible increase

of pathological casualties, human sterility and even to depopulation of "selected" ethnic groups, or the whole humankind. These changes would be irreversible, and they would be recognized rather late.

This study has been evoked by the explosive interest of molecular biologists in studying small RNAs and the epigenetic changes they cause in inheritance.

The purpose of the study. To identify the level and directions of research on small RNAs capable of inducing pathological processes.

The source base of the study. Articles from scientific journals available through the PubMed search engine.

Research method. Analytical.

Tasks Addressed:

- a theoretical introduction to the extensive world of small RNAs;
- examination of the mechanisms of epigenetic inheritance;
- the potential for dual-use of the technology.

Small RNAs (sRNA). According to "Selection on the epigenome: small RNA inheritance in animal evolution", the epigenetic alterations include DNA methylation, histone modifications, and the production of sRNAs [9]. Recent work across the tree of life has shown that environmentally induced epigenetic modifications can be stably inherited by offspring which were never exposed to the original environment, a process termed transgenerational epigenetic inheritance (TEI). TEI can be beneficial in stressful environments, for example under starvation or in the presence of pathogens. Nevertheless, some authors have found non-adaptive or maladaptive TEI effects ncRNAs (non-coding RNAs) are RNA molecules that are transcribed from DNA but do not encode proteins [10, 11]. They can be further divided into several categories based on their function and size¹. For example:

i) **Small ncRNAs:** These include microRNAs (miRNAs), small interfering RNAs (siRNAs), and PIWI-interacting RNAs (piRNAs). These ncRNAs are typically 20–25 nucleotides in length and function by regulating gene expression.

ii) **Long ncRNAs:** These are ncRNAs that are more than 200 nucleotides in length and often play structural roles in the cell. Examples

¹ Non-Coding RNAs (ncRNAs). URL: https://alcartez.github.io/Bioinformatics_Guides/ncRNA_Guide/ (date: 13.05.2025).

include Xist, which plays a role in X-chromosome inactivation, and HOTAIR, which plays a role in chromatin remodeling.

iii) Other ncRNAs: There are many other types of ncRNAs, including tRNA-derived small RNAs (tsRNAs), repeat-associated small interfering RNAs (rasiRNAs), and natural antisense transcripts (NATs), among others. These ncRNAs may have a variety of functions, including regulation of gene expression, RNA processing, and DNA modification.

There are many different types of ncRNAs, and they can be classified based on their size, structure, and function. Some common types of ncRNAs include:

i) microRNAs (miRNAs): These are small ncRNAs (typically 20–25 nucleotides in length) that regulate gene expression by binding to the 3' untranslated region (3' UTR) of target mRNAs and inhibiting their translation.

ii) small interfering RNAs (siRNAs): These are also small ncRNAs (typically 20–25 nucleotides in length) that play a role in the RNA interference (RNAi) pathway, which is a process that silences specific genes.

iii) PIWI-interacting RNAs (piRNAs): These are small ncRNAs (typically 23–30 nucleotides in length) that are involved in the regulation of transposons (mobile genetic elements) and the repression of transposon-derived small RNAs.

iv) Xist: This is a long ncRNA (typically 17 kilobases in length) that plays a role in X-chromosome inactivation, a process that ensures that females have the same amount of X-chromosome gene expression as males.

v) HOTAIR: This is a long ncRNA (typically 2.2 kilobases in length) that plays a role in chromatin remodeling, which is the process of modifying the structure of chromatin (the complex of DNA and proteins that make up the chromosome).

vi) tRNA-derived small RNAs (tsRNAs): These are small ncRNAs (typically 18–30 nucleotides in length) that are derived from tRNAs (transfer RNAs) and play a role in the regulation of gene expression.

vii) repeat-associated small interfering RNAs (rasiRNAs): These are small ncRNAs (typically 21–24 nucleotides in length) that are involved in the regulation of transposons and the repression of transposon-derived small RNAs.

viii) natural antisense transcripts (NATs): These are ncRNAs that are transcribed from the opposite strand of DNA as the sense strand and may play a role in the regulation of gene expression.

The small – sRNAs were extensively reviewed, and we will explain only additionally necessary facts when required [12].

The sRNA inheritance system consists of all sRNA transcripts, precursors, interacting proteins, and other cellular components that interact to regulate or silence gene activity and elicit inheritance independently of the causative stressor. In this context, it is irrelevant which specific silencing mechanism (e.g., degradation of complementary transcripts and/or histone modifications) is involved—the sole criterion is that these changes are initiated through the production of sRNAs and are inherited by the next generation.

sRNAs are traditionally divided into three groups—small interfering RNAs (siRNAs), PIWI-interacting RNAs (piRNAs), and microRNAs (miRNAs). sRNAs interact with argonaute (AGO) proteins to form an RNA-induced silencing complex (RISC) that elicits gene expression changes via complementary base-pairing. Many AGO proteins directly cleave targets via endonucleases. However, some AGO proteins recruit additional components to RISC, such as methyltransferases which deposit methylation (Figure 1).

To show how complex the situation looks like, we mention a picture of the biogenesis of small RNAs and long ncRNAs (lncRNAs) (Figure 2).

The small and long non-coding RNAs are not “detached”. They are in a state of “cross-interaction,” which enables them to disrupt the functioning of gene networks, i.e., hundreds of genes simultaneously (Figure 3).

As mentioned above, to the group of small RNAs belong the tRNAs and tRNA-derived small RNAs (tsRNAs). The immense complexity of post-transcriptional modifications, shown in Figure 4, suggests catastrophic consequences for human health from any external intervention.

The roles of the tRNA modifications and their connections to human diseases are shown in Figure 5.

The tRNA derived RNAs (tDRs), also known as tRNA fragments (tRFs) and tRNA-derived small RNAs (tsRNAs), are cleavage products from tRNA precursors and mature tRNAs. To date, more than 20,000 different tDRs have been discovered, which differ in length and sequence [16].

These tDRs have emerged as essential regulators of many biological processes, such as transposon activation, translation, innate immune responses, transgenerational inheritance, and development [17, 18].

However, the rapid expansion of this field has led to confusion in their nomenclature. Therefore, a tDR name system, an algorithm designed to standardize the naming of tDRs has been developed [19].

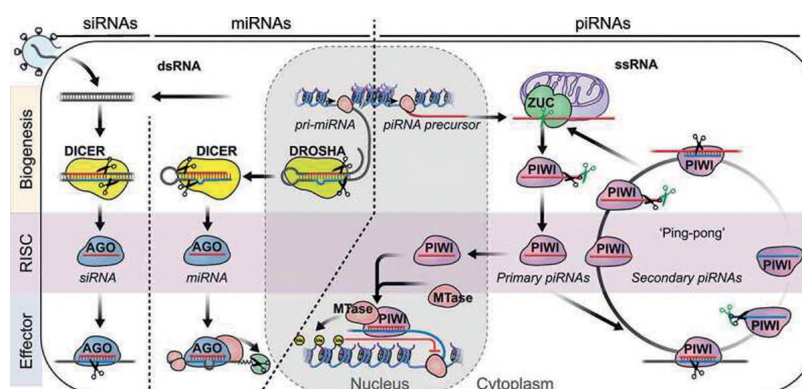


Figure 1: A simplified schematic illustrating the three primary pathways of small RNA biogenesis in animals and their role in regulating or suppressing gene activity. Small interfering RNAs (siRNAs) originate from long double stranded RNA (dsRNA) and are generated by the RNase III enzyme Dicer. SiRNAs associate with AGO-clade Argonaute proteins and degrade target RNA using the slicer activity of Argonaute proteins. MicroRNAs (miRNAs) originate from partly double-stranded RNA hairpins. MiRNA biogenesis proceeds in two steps involving the RNase III enzymes DROSHA and DICER. MiRNAs associate with AGO-clade Argonaute proteins and recruit RNA-degradation machinery to silence their targets post-transcriptionally (PTGS). PIWI-interacting RNAs (piRNAs) originate from long single-stranded precursors. Their biogenesis involves the endonuclease Zucchini/PLD6(ZUC) (primary piRNAs), or piRNA-guided slicing during ping-pong (secondary piRNAs). Maturation of some piRNAs involves additional 3' trimming. PIWI-piRNA complexes degrade target-RNA in the cytoplasm or establish lasting epigenetic restriction in the nucleus. The whole Figure and the text were taken from [13]

Рисунок 1 – Упрощенное схематическое изображение трех основных путей биогенеза малых РНК у животных, влияющих на регуляцию или подавление генной активности. Малые интерферирующие РНК (миРНК, siRNAs) образуются из длинных двуцепочечных РНК (дцРНК) при участии РНКазы III Dicer. миРНК связываются с белками Argonaute (AGO) и расщепляют молекулы РНК-мишени благодаря эндонуклеазной активности («slicer») этих белков. МикроРНК (миРНК, miRNAs) образуются из частично двуцепочечных шпильчатых структур РНК. Их биогенез осуществляется в два этапа с участием РНКаз III DROSHA (в ядре) и DICER (в цитоплазме). миРНК связываются с белками Argonaute (AGO) и направляют аппарат деградации РНК для посттранскрипционного сайленсинга генов-мишеней (ПТГС, PTGS). PIWI-взаимодействующие РНК (пуРНК, piRNAs) образуются из длинных одноцепочечных предшественников. В их биогенезе участвует эндонуклеаза Zucchini/PLD6 (ZUC) (первичные пуРНК) или механизм «пинг-понг» с участием самих пуРНК (вторичные пуРНК). Созревание некоторых пуРНК включает дополнительное укорочение с 3'-конца. Комплексы PIWI-piRNA расщепляют РНК-мишени в цитоплазме или устанавливают долгосрочное эпигенетическое репрессия транскрипции в ядре. Рисунок и текст заимствованы из [13]

Circular RNAs (circRNAs) are a large family of non-coding RNAs characterized by a single-stranded, covalently closed structure, predominantly synthesized through a back-splicing mechanism. While thousands of circRNAs have been identified, only a few have been functionally characterized. Although circRNAs are less abundant than other RNA types, they exhibit exceptional stability due to their covalently closed structure and demonstrate high cell and tissue specificity. CircRNAs play a critical role in maintaining cellular homeostasis by influencing gene transcription, translation, and post-translation processes, modulating the immune system, and interacting with mRNA, miRNA, and proteins. Abnormal circRNA expression has been associated with a wide range of human diseases and various infections [20–22].

CircRNAs are translated under conditions that favor cap-independent translation, notably

in cancer and generate proteins that are shorter than mRNA-encoded proteins, which can acquire new functions relevant to diseases [22]. The situation is rather complex and to “unpredictable”. As suggested by Zhang and Zhao [23], the employment of the AI or “deep learning technologies” for analyzing these complex data became mandatory.

So far, we have shown comprehensive, theoretical “introduction” into the big world of sRNA (small RNAs). However, all diseases presented above (e.g. in Figure 5 for “tRNA modifications and connections to human diseases”) are those which today are known as “heritable”. This means that they are inherited as somatic mutations of the human genome. The novel kind of possible biological weapons would not rely on these mechanisms. We have in mind the “environmentally” induced sRNA inheritance. In other words, an artificial introduction (application) of certain sRNAs

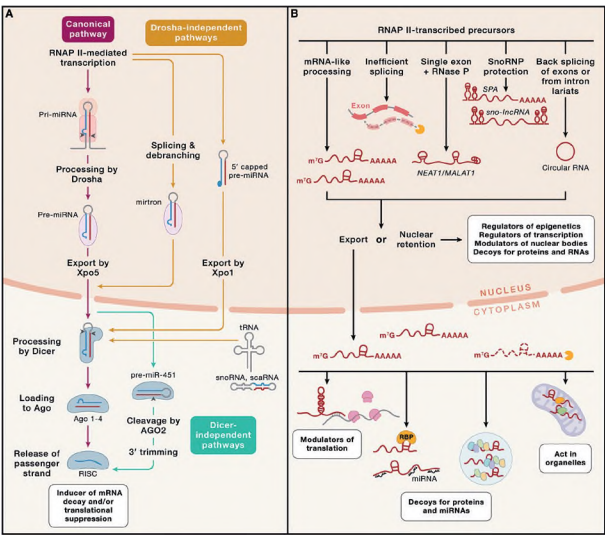


Figure 1: Biogenesis of small RNAs and lncRNAs. A, Well-defined biogenesis pathway of miRNAs. B, Diverse biogenesis pathway and features of lncRNAs. The whole Figure and the text were taken from [14]

Рисунок 1 – Биогенез малых РНК и длинных некодирующих РНК (длнкРНК). А – Детально охарактеризованный путь биогенеза микроРНК (миРНК). В – Разнообразие путей биогенеза и функций длинных нкРНК (длнкРНК). Рисунок и текст заимствованы из [14]

which are not a “product” of the maternal/paternal “genetic material”. These sRNA would accumulate in the germ cells (oocytes, sperm) and after fertilization would be transmitted to the offspring – i.e. next generation(s). sRNAs are known for their long-time stability and resistance to the RNases. They can be transmitted to the organism by food, aerosol, parenterally (vaccines, DNA and RNA preparates). As will be shown below the substitution of uridine with pseudouridine and its methylation to N1-methylpseudouridine further enhances the RNA stability and can guide transport of sRNA to the germline. The consequences could be disastrous. Not to be recognized immediately the effect(s) could be irreversible. Different diseases of the F0 (parental) and further F1, F2, ..., FX generations and depopulations (among others) of different ethnic groups.

Environmentally induced sRNA inheritance has been documented in model species such as *Caenorhabditis elegans* [24], *Drosophila melanogaster* [25], and mice [26].

One of the most exciting observations of epigenetic inheritance has been described in 2014 by Dias and Ressler [27]. The authors subjected F0 mice to odor fear conditioning before conception and found that subsequently conceived F1 and F2 generations had an increased behavioral sensitivity to the F0-conditioned

odor, but not to other odors. When an odor (acetophenone) that activates a known odorant receptor (Olfr151) was used to condition F0 mice, the behavioral sensitivity of the F1 and F2 generations to acetophenone was complemented by an enhanced neuroanatomical representation of the Olfr151 pathway. Bisulfite sequencing of sperm DNA from conditioned F0 males and F1 naive offspring revealed CpG hypomethylation in the Olfr151 gene. In addition, *in vitro* fertilization, F2 inheritance and cross-fostering revealed that these transgenerational effects are inherited via parental gametes. The authors state: “In summary, we have begun to explore an under-appreciated influence on adult behavior—ancestral experience before conception. From a translational perspective, our results allow us to appreciate how the experiences of a parent, before even conceiving offspring, markedly influence both structure and function in the nervous system of subsequent generations. Such a phenomenon may contribute to the etiology and potential intergenerational transmission of risk for neuropsychiatric disorders, such as phobias, anxiety and posttraumatic stress disorder. To conclude, we interpret these results as highlighting how generations can inherit information about the salience of specific stimuli in ancestral environments so that their behavior and neuroanatomy are altered to allow for appropriate stimulus-specific responses.” In summary, when mice were trained with acetophenone, the F1 and F2 generations showed a heightened startle response in the presence of acetophenone, but not in the presence of propanol. When the ancestors were instead trained with propanol, their descendants were fearful in the presence of propanol, but not acetophenone. The authors showed that the response was transmitted through either the male or female germ line up to two generations, suggesting that both sperm and egg DNA register the exposure as an epigenetic mark.

In the comment [28] – “the authors propose that germ cells, which are known to contain olfactory receptors, are activated by odor and trigger a signaling pathway that targets site-specific DNA methylation. However, this is not sufficient to explain how these changes in DNA methylation in olfactory receptors are linked to the fearful experience. Thus, there must be sensors of behavioral experience in the gamete that are as yet unknown and that could incorporate the brain signals into several addresses in the sperm genome (Figure 6). Sperm olfactory receptors could be a component of such machinery, as well as hormone receptors such as glucocorticoid receptors. Other attractive candidates include sRNAs, which could potentially circulate

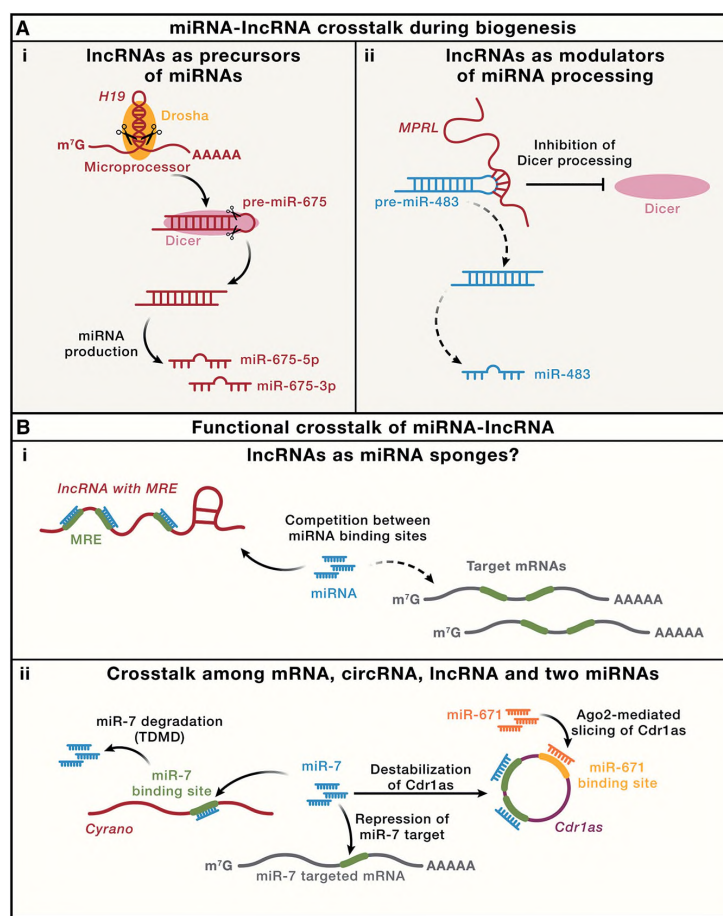


Figure 3: Crosstalk between small RNAs and lncRNAs. A, The crosstalk between miRNA and lncRNA during biogenesis. (Left) Some lncRNAs contain local hairpin structures that yield miRNAs, serving as pri-miRNAs, illustrated by the H19 lncRNA whose hairpin produces two conserved miRNAs, miR-675-3p and miR-675-5p. (Right) Long non-coding RNAs can block miRNA maturation. As an example, the lncRNA MPRL pairs with the apical loop region of pre-miR-483, interfering with its interaction with DICER, resulting in a decrease of miR-483 production during cisplatin-induced stress. B, Functional crosstalk between miRNAs and lncRNAs. (Left) Some abundant lncRNAs may regulate (enhance or block) gene expression by decoying miRNAs. Of note, this miRNA sponge (ceRNA) hypothesis is unlikely to occur in physiological conditions unless the sponge RNA is highly abundant and contains multiple high-affinity, closely spaced miRNA binding sites (MREs). Thus, the stoichiometric ratio of examined RNAs should be critically evaluated. (Right) Complex crosstalk among miRNAs, the lncRNA Cyran0, and the circular RNA Cdr1as. Cyran0 base pairs with miR-7 trigger miR-7 degradation via target-directed microRNA degradation (TDMD), protecting Cdr1as from miR-7-mediated destruction in neurons. Another miRNA, miR-671, binds to Cdr1as and induces Ago2-catalyzed slicing of Cdr1as. The whole Figure and the text were taken from [14]

Рисунок 3 – Взаимодействие (кросс-ток) между малыми и длинными нкРНК. А – Взаимодействие в процессе биогенеза. Слева – некоторые длинные некодирующие РНК содержат шпильчатые структуры, служащие предшественниками для миРНК (pri-miRNAs). Например, шпилька в транскрипте длинной некодирующей РНК H19 генерирует консервативные миР-675-3p и миР-675-5p. Справа – длинные некодирующие РНК могут блокировать созревание миРНК. Длинная некодирующая РНК MPRL связывается с апикальной петлей pre-миР-483, блокируя его взаимодействие с DICER и снижая продукцию зрелого миР-483 в условиях стресса, индуцированного цисплатином. В – Функциональное взаимодействие. Слева – избыточные длинные некодирующие РНК могут регулировать (усиливать или блокировать) экспрессию генов, выступая в роли «приманки» (decoy) для миРНК (гипотеза «миРНК-губки»; или ceRNA – competitive endogenous RNA, конкурирующая эндогенная РНК). Для реализации этого механизма в физиологических условиях требуется высокая концентрация РНК-приманки с множественными высокоаффинными сайтами связывания миРНК (MRE), что делает необходимым критическую оценку стехиометрического соотношения РНК. Справа – сложное взаимодействие между миР-7, длинной некодирующей РНК Cyran0 и кольцевой РНК Cdr1as. Cyran0 комплементарно связывается с миР-7, запуская ее деградацию по механизму TDMD (деградация микроРНК, направляемая мишенью), и защищает Cdr1as от разрушения. Одновременно миР-671 связывается с Cdr1as и индуцирует его расщепление при катализе Ago2. Рисунок и текст заимствованы из [14]

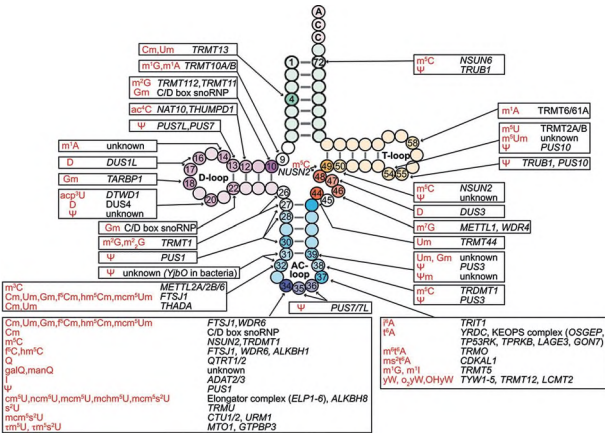


Figure 4: Schematic representation of human cytoplasmic tRNA modifications and their writer enzymes. Modified nucleotides are numbered. Each type of tRNA modification and their modifying enzymes are indicated. Modification enzymes that are confirmed in other organisms are listed in parentheses. The abbreviation of each RNA modification conforms with the RNA modification database MODOMICS. The whole Figure and the text were taken from [15]

Рисунок 4 – Схематическое изображение модификаций цитоплазматической тРНК человека и ферментов, их осуществляющих. Модифицированные нуклеотиды пронумерованы. Указаны тип модификации и соответствующие ферменты. Ферменты, подтвержденные у других организмов, указаны в скобках. Сокращения модификаций соответствуют базе данных MODOMICS. Рисунок и текст заимствованы из [15]

systemically from brain to sperm and target specific sequences in the genome. The changes in DNA methylation must be protected in the germ line and transmitted during cellular differentiation to guide the formation of circuitry and anatomical densities of olfactory receptors during brain development. The lack of differential methylation in the mature olfactory receptor neuron might indicate that these differentially methylated gene targets are critical for the developmental stages and disappear once the relevant circuitry is established.”

This study by Dias and Ressler [27] provides strong evidence that the germline can serve as a vector for transmitting lessons from adult experience across generations. Future studies are needed to determine how important these mechanisms are in humans and whether they influence the rapid evolution of phenotypes seen in human populations.”

In humans exposed to violence epigenetic “signatures” have been observed in three generations [29]. Here, the authors discuss the possibility that maternal trauma influences infant and adult health outcomes and may impact future generations through epigenetic modifications

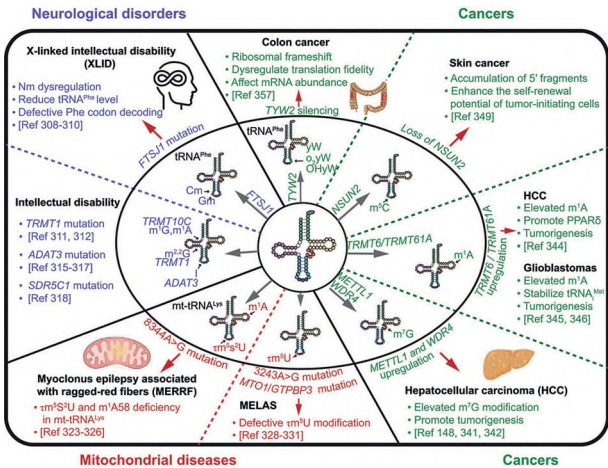


Figure 5: tRNA modifications and connections to human diseases. Schematic representation of the relationship between abnormal tRNA modifications and various human diseases, with a focus on neurological disorders, mitochondrial disorders, and cancers. The whole Figure and the text were taken from [15]

Рисунок 5 – Модификации тРНК и их связь с заболеваниями человека. Схематическое представление взаимосвязи между нарушениями модификаций тРНК и различными заболеваниями человека, с акцентом на неврологические расстройства, митохондриальные патологии и онкологические заболевания. Рисунок и текст заимствованы из [15]

such as DNA methylation (DNAm). The authors assessed DNAm signatures of war-related violence by comparing germline, prenatal, and direct exposures to violence across three generations of Syrian refugees. They compared families in which a pregnant grandmother versus a pregnant mother was exposed to violence and included a control group with no exposure to war. They collected buccal swab samples and survey data from mothers and 1–2 children in each of 48 families (n=131 participants). Based on an epigenome-wide association study (EWAS), the authors were able to identify differentially methylated regions (DMPs): 14 DMPs were associated with germline and 21 DMPs were associated with direct exposure to violence. The largest difference in DNAm relative to unexposed controls was observed at a germline-associated DMP, cg01490163, with lower DNAm among those exposed in germline (Difference: – 0.265, 95% confidence interval (CI) – 0.349, – 0.181). The site is approximately 3 kb upstream of Keratin 36 (KRT36), which produces keratin and has a potential role in some cancers. Compared to controls, the highest DNAm was observed at the germline-associated DMP, cg07462448, and two direct-associated DMPs, cg14117527 and cg14832449. Site cg07462448 is annotated to Caspase 7 (CASP7), which belongs to a family of

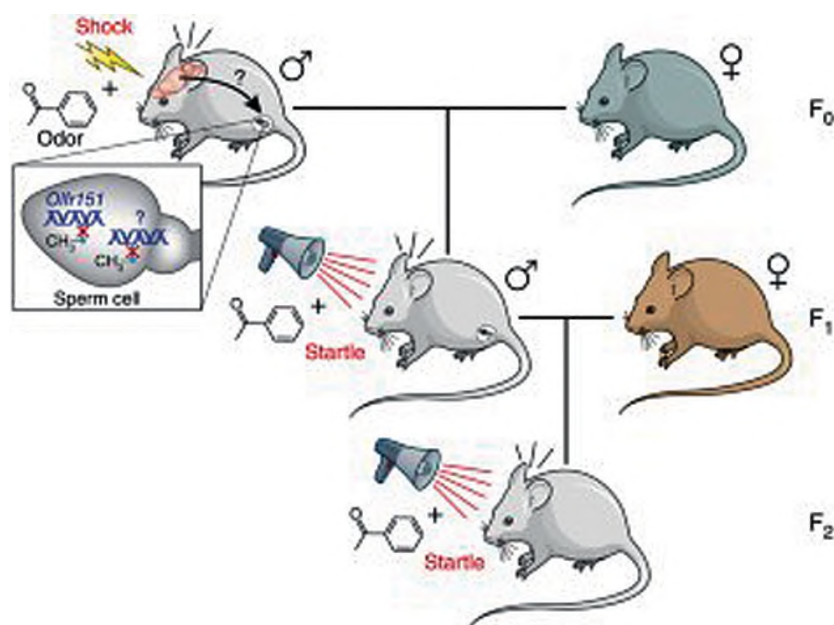


Figure 6: Model for epigenetic inheritance of odor fear conditioning. Association of acetophenone odor with an electrical shock condition the mouse for an enhanced acetophenone startle response of acetophenone. Although the mechanism is unknown, this may trigger the release of circulating molecule(s), such as sRNAs or glucocorticoids, that act on spermatogonia to direct DNA methylation changes in both specific olfactory receptor genes, such as *Olfr151*, and other genes, as yet unknown, that are involved in the fear conditioning circuitry in the brain. When the demethylated sperm fertilizes a naive female, the methylation pattern is maintained in the fertilized eggs and may guide the differentiation of fear circuitry. The adult F1 mouse exhibits enhanced startle in the presence of acetophenone. During primordial germ cell differentiation in the F1 mouse, the methylation pattern triggered by the conditioned exposure to acetophenone is preserved. When the resulting marked sperm fertilizes a naive mouse, the offspring F2 will develop the same conditioned fear response circuitry in the brain, using the epigenetic information in the F1 sperm to guide differentiation. The adult F2 mouse likewise shows a heightened startle response in the presence of acetophenone. The whole Figure and the text were taken from [28]

Рисунок 6 – Модель эпигенетического наследования условного рефлекса страха на запах. Ассоциация запаха ацетофенона с ударом электрического тока обуславливает у мыши усиленную акустическую стартл-реакцию на ацетофенон. Хотя механизм неизвестен, это может вызывать высвобождение циркулирующих молекул (например, микроРНК или глюкокортикоидов), которые действуют на сперматогонии, направляя изменения метилирования ДНК как в специфических генах обонятельных рецепторов (например, *Olfr151*), так и в других, пока неизвестных генах, вовлеченных в нейронную цепь обуславливание страха в головном мозге. Когда деметилированный сперматозоид оплодотворяет наивную самку, паттерн метилирования сохраняется в оплодотворенных яйцеклетках и может направлять дифференцировку нейронной цепи страха. Взрослая мышь F1 демонстрирует усиленную реакцию испуга (вздрагивания) в присутствии ацетофенона. В ходе дифференцировки примордиальных зародышевых клеток у мыши F1 паттерн метилирования, индуцированный выработанным воздействием ацетофенона, сохраняется. Когда полученный меченый сперматозоид оплодотворяет наивную мышь, потомство F2 развивает ту же выработанную цепь реакции страха в мозге, используя эпигенетическую информацию в сперме F1 для направления дифференцировки. Взрослая мышь F2 аналогично проявляет усиленную стартл-реакцию в присутствии ацетофенона. Рисунок и текст заимствованы из [28]

proteins that play a central role in cell apoptosis. Site cg14117527 is annotated to RAB43/ ISY1-RAB43 (RAB43 is involved in membrane trafficking pathways and cellular homeostasis and is a member of the RAS oncogene family, and the ISY1-RAB43 readthrough transcript) and cg14832449 is annotated to RP11- 1028N23.3, which is a long non-coding RNA [29].

Most DMPs showed the same directionality in DNAm change across germline, prenatal, and direct exposures, suggesting a common epigenetic response to violence. It should be noted that accelerated epigenetic aging is thought to correlate with accelerated biological aging and may be an underlying mechanism for age-related health outcomes [30].

From the point of memory transfer the results of McConnel who performed his experiments with planaria and memory transfer² and more recent results obtained with *Aplysia* [31], are pointing to the epigenetic mechanism. Recently [31] the authors reported that RNA extracted from the central nervous system of *Aplysia* given long-term sensitization training induced sensitization when injected into untrained animals. Furthermore, the RNA-induced sensitization, like training-induced sensitization, required DNA methylation.

The author itself did some research in the memory transfer occurring after the heart transplants [32]

In other words, Darwin's gemmules are present everywhere: "We cannot fathom the marvelous complexity of an organic being; but on the hypothesis here advanced this complexity is much increased. Each living creature must be looked at as a microcosm—a little universe, formed of a host of self-propagating organisms, inconceivably minute and as numerous as the stars in heaven." [1].

How is epigenetic information transferred across generations [33]? The authors do not clarify the mechanisms; however, they are pointing to the "narrow" difference between transgenerational and intergenerational effects: In mammals, transgenerational effects, particularly those that occur in response to the environment, are defined as any phenotypic or molecular effect that persists for 3 or more generations through the female line or 2 or more generations through the male line. By contrast, effects that only persist for 1 or 2 generations are for the most part referred to as intergenerational effects. This definition of intergenerational effects includes, but is not limited to, multiple examples of effects that were classically referred to as parental effects. Whether a phenotype is intergenerational or transgenerational was originally determined by whether the genetic material for the subsequent generations was present at the time of exposure to the altered environment. This often differs between different species, so caution must be used to identify whether the germ cells were present at the time of exposure. The original distinction between these two terms lies in the fact that intergenerational effects could, in principle, be caused by the effects of the parent's environment/physiology directly on the developing embryo/fetus or on germ cells but transgenerational effects could not be due to direct exposure. However,

mechanistic investigations of multiple different intergenerational effects have since discovered mechanisms of intergenerational regulation that are not due to the direct effects of the environment on germ cells or F1 embryos. In some cases, these mechanisms are initiated and maintained using similar mechanisms as transgenerational effects such as the transmission of small RNA molecules via germ cells. Nonetheless these effects remain described as intergenerational effects. Thus, the currently used definition of intergenerational has evolved to refer mainly to the duration a phenotypic effect persists for rather than the potential mechanism by which the effect is mediated (Figure 7). By comparison, for a phenotype to be considered transgenerational, none of the individual's genetic material can be present at the time of the environmental insult (Figure 7). Thus, transgenerational effects predominantly refer to phenotypic effects that persist for three or more generations. The author is not interested in polemics; however, one must admit that the "intergenerational" effects (persisting for 1 to 2 generations) must somehow be incorporated into the germ cells. We are not talking about "classical" Mendelian rules but epigenetic "hereditary" changes.

According to Yap and coworkers [34], small non-coding RNAs constitute a dynamic epigenetic layer in mature (human and mouse) spermatozoa that can exert transgenerational regulatory functions. The profile of these RNAs changes dramatically during spermatozoa maturation. The majority of intracellular small RNAs during early spermatogenesis are miRNAs and piRNAs. In mature spermatozoa, tRNA- and rRNA-derived fragments (tRFs and rRFs, respectively) are the predominant forms, primarily delivered from the epididymis via extracellular vesicles (Figure 8). Diet, exercise, and environmental exposures have a direct effect on small RNA levels in spermatozoa, and this differential abundance can reprogram the development of the embryo. Offsprings of fathers with different lifestyles can have different phenotypes, including altered metabolism or behavior. Therefore, small RNAs in spermatozoa are emerging as an important epigenetic layer in development and transgenerational inheritance.

Is the human sperm "sncRNAome" constant or is it variable among ethnic groups? It has been shown [35] that human sperm sncRNAome has a "core component" that shows small variations and a "peripheral component" that shows significant variations across individuals and ethnic

² Omary A. Is Memory Transfer Possible? One small creature's surprising role in the study of memory. Psychology Today. 2022. October 12. URL: <https://www.psychologytoday.com/us/blog/natured-nurture/202210/is-memory-transfer-possible> (date: 13.05.2025).

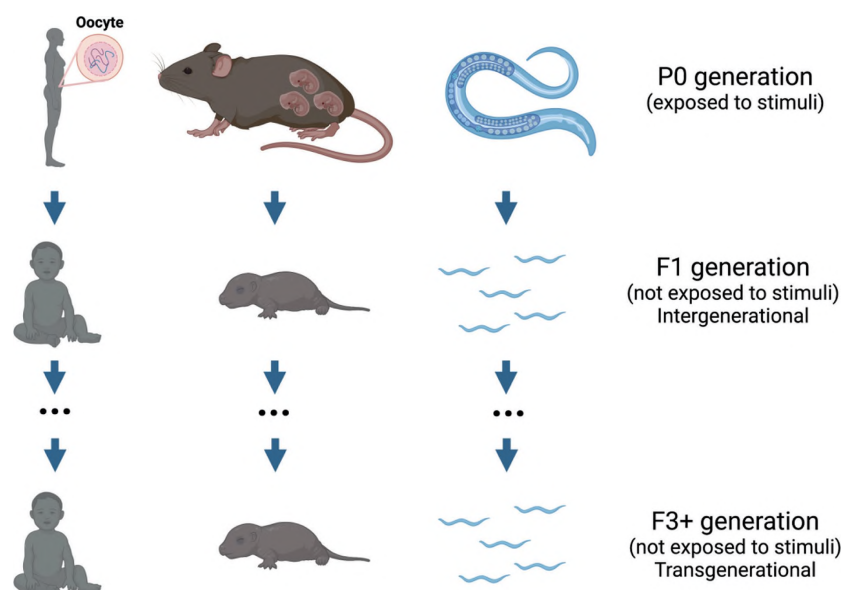


Figure 7: Distinction between inter and transgenerational phenotypes. Numerous different parental (P0) stresses can have multigenerational effects on offspring. Intergenerational effects represent any effect of parental stress on F1 progeny that either directly acts on or is communicated through P0 germ cells or developing F1 embryos in utero. By comparison, all effects that are initiated in the P0 generation and persist into the F3 (or later) generations are transgenerational effects. Effects that are initiated in the P0 generation and persist to the F2 generation are intergenerational if any germ cells of F1 animals have formed in utero when the initiating event/stress was present and transgenerational if no F1 germ cells have formed. These original distinctions between intergenerational and transgenerational effects in F2 progeny are still used as definitions in literature irrespective of the mechanisms that mediate multigenerational effects in progeny, including cases where such effects might not be transmitted via germ cells. The whole Figure and the text were taken from [33]

Рисунок 8 – Разграничение интергенерационных и трансгенерационных фенотипов. Многочисленные различные стрессовые воздействия на родительское поколение (P0) могут оказывать многопоколенные эффекты на потомство. Интергенерационные эффекты представляют собой любые эффекты родительского стресса на потомство F1, которые либо непосредственно воздействуют на зародышевые клетки P0 или развивающиеся эмбрионы F1 in utero, либо передаются через них. Трансгенерационные эффекты – все эффекты, инициированные в поколении P0 и сохраняющиеся в поколениях F3 (или позднее). Эффекты, инициированные в поколении P0 и сохраняющиеся до поколения F2, считаются: интергенерационными, если формирование зародышевых клеток у особей F1 происходило in utero во время действия инициирующего стрессового фактора; трансгенерационными, если формирование зародышевых клеток F1 еще не началось. Эти исходные различия между интергенерационными и трансгенерационными эффектами у потомства F2 продолжают использоваться в качестве определенных в литературе, независимо от механизмов, опосредующих многопоколенные эффекты у потомства, включая случаи, когда такие эффекты могут передаваться не через зародышевые клетки. Рисунок и текст заимствованы из [33]

populations. Thus, the availability of the normal human sperm sncRNAome would help delineate biologically meaningful variations from sample-to-sample natural/random variations.

Epigenetic inheritance. In an exciting paper [36], the authors have shown that the epigenetic phenomenon (suppression homozygous mutation for short antennae) occurs in the short antennae (*sa*) mutation of the flour moth (*Ephestia kuehniella*). The authors demonstrated that it is probably determined by a small RNA (e.g., piRNA, miRNA, tsRNA) and transmitted in this way to subsequent generations through the male and female gametes. The observed epigenetic change canceled *sa* mutation and created a wild phenotype (a moth that appears

to have no mutation). It persisted for many generations – up to 40 recorded generations. This epigenetic transgenerational effect (suppression homozygous mutation for short antennae) in the flour moth is induced by changes during ontogenetic development, such as increased temperature on pupae development, food, different salts in food, or injection of RNA from the sperm of already affected individuals into the eggs. The male flour moth does not only deposit sperm into the female, but a spermatophore that contains also other components. These components were separated and injected separately into the fertilized eggs. The components without RNA content (products of accessory glands, spermatophore

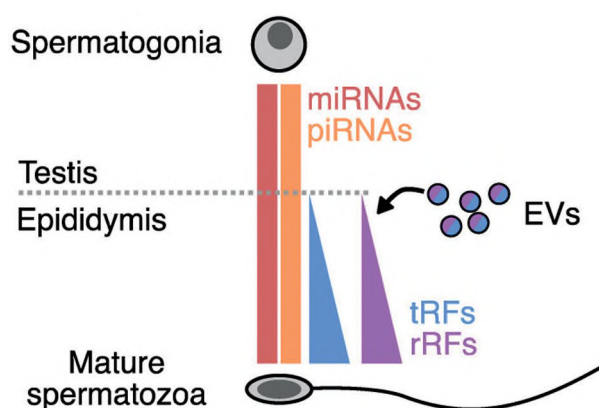


Figure 8: Relative levels of small non-coding RNA as spermatogonia differentiate to mature spermatozoa. As they pass through the epididymis, spermatozoa are loaded with small non-coding RNAs from extracellular vesicles derived from epididymal cells. The whole Figure and the text were taken from [34]

Рисунок 8 – Относительные уровни малых некодирующих РНК в процессе дифференцировки сперматогониев в зрелые сперматозоиды. При прохождении через придаток яичка сперматозоиды насыщаются малыми некодирующими РНК из внеклеточных везикул, происходящих из клеток придатка. Рисунок и текст заимствованы из [34]

sac, homogenized sperm denatured with ribonuclease) separated from male sperm did not have analogous impact like components with RNA. The effect of total RNA differed from all additives without RNA.

Recently it has been shown [37] that *germline* small RNAs in plants and mammals are heavily pseudouridylated. Piwi-interacting RNAs in mouse testes, are enriched for pseudouridine (Ψ) too. Why are germline small RNAs so heavily modified in both plants and mammals? An intriguing possibility is that modifications of RNA in the germline may avoid viral surveillance systems after fertilization, which could otherwise recognize inherited small RNAs as ‘nonself’ [38].

Pseudouridine (Ψ) is a C–C glycosidic isomer of uridine (U) with a distinct structure, in which the uracil base is covalently attached to the ribose ring through a C5–C1 linkage, as opposed to the N1–C1 bond found in canonical uridine. This structural alteration substantially affects the physicochemical properties of Ψ , altering its base-stacking interactions and hydrogen-bonding patterns within the RNA helix [39,

40]. As the most abundant post-transcriptional modification, Ψ is widely distributed in various types of RNA, including mRNA, tRNA, ribosomal RNA (rRNA) and small nuclear RNAs (snRNAs). Its unique chemical structure enables it to influence the stability, structure and function of these RNAs, thereby having crucial physiological and pathological roles.

Notably, the Ψ derivative N1-methylpseudouridine (m1 Ψ) has been applied in the two approved COVID-19 mRNA “vaccines” (Pfizer–BioNTech and Moderna). Like Ψ , m1 Ψ may promote readthrough of endogenous termination codons, the two vaccine mRNAs had two or three consecutive stop codons to mitigate this unwanted effect [41]. However, a recent study found that m1 Ψ -modified mRNA translation can lead to the formation of frameshift proteins [42]. The accumulation of Pfizer–BioNTech “vaccine” after vaccination has been shown mainly in the spleen and ovaries³.

The activities such as “Decoding the Spermatogenesis Program: New Insights from Transcriptomic Analyses” [43] clearly showed a more detailed approach to the transcriptome (i.e., RNA expression levels of all genes) at tissue and cellular levels.

And, in concert to the previously mentioned results the attempts to find the testicular gene expression are continuing at “higher” level [44]. In principle, spermatogenesis is a multi-step biological process where mitotically active diploid (2n) spermatogonia differentiate into haploid (n) spermatozoa via regulated meiotic programming. The alarming rise in male infertility has become a global concern during the past decade thereby demanding an extensive profiling of testicular gene expression. Advancements in Next-Generation Sequencing (NGS) technologies have revolutionized our empathy towards complex biological events including spermatogenesis.

The authors [44] are illustrating the possible applications of Sc-RNA-Seq data towards framing appropriate preclinical studies (both in vitro and in vivo approach) leading to potential future diagnostic (assays/tools/kits) in male reproductive health care.

Bioweapons. In the last section the author is possibly approaching to open the box of Pandora’s. However, the preparedness for future scenarios is well-grounded [45, 46].

It has been shown⁴ that after the vaccination with Pfizer–BioNTech “vaccine” (with fully

³ SARS-CoV-2 mRNA Vaccine (BNT162, PF-07302048). URL: <https://www.docdroid.net/xq0Z8B0/pfizer-report-japanese-government-pdf#page=17> page 17 (date: 13.05.2025).

⁴ URL: <https://lowtoxinforum.com/threads/help-with-understanding-pfizer-report-accumulation-of-vaccine-in-ovaries.41792/> (date: 13.05.2025).

substituted uridine with the derivate N1-methylpseudouridine (m1Ψ)) the accumulation of the “vaccine” has been mainly observed in the spleen and the ovaries. Paradoxically, there is rather low accumulation of the “vaccine” in the testes. It should be noted that pseudouridine guides germline small RNA transport and epigenetic inheritance [37].

It is of interest that the number of newborns in Czechia (population 10.6 million) dropped from 110,200 (in 2020) to 84,311 (in 2024)⁵, in Hungary (population 9.6 million) dropped from 92,338 (in 2020) to 77,511 (in 2024)⁶, and in Slovakia (population 5.4 million) dropped from 56 650 (in 2020) to 46 241 (in 2024)⁷. In Poland (population 37.6 million) the number of births in 2024 (252 000 which is over 20 000 less than in the year 2023) was the lowest since the end of World War II⁸. So far nobody knows if this has been a vaccination “side effect” or an aim of vaccination with mRNA prepares in the sense of depopulation. So far nobody publicly announced the reason(s) for this “experimental fact”.

On the other hand, we were describing an existing enormous interest of human sperm sncRNAome (Figure 8) and testicular single cell RNA (Sc-RNA-seq) data. In other words, huge libraries of all sperm RNAs are created. Interestingly, one can clearly see the ethnic differences between races [35]. This can be the tip of an iceberg of more deeply and precisely derived data coming from different subgroups and from different inhabited areas. Today with the introduction of powerful AI or “deep learning technologies” it is not difficult to extract the data from the sperm sncRNAome and to introduce so called “sRNA harm”.

In the previous text we have shown that the acquired F0 mice to odor fear conditioning before conception can be transmitted to F1 and F2 generations which have an increased behavioral sensitivity to the F0-conditioned odor but not to other odors. So, one among the different possibilities is to introduce a “heritable” sterility. There will be a slow decline of the number of newborns in the first (F1) generation which will further proceed to sterility of F2 or F3 generations. At this time, it will be

too late to analyze the reason for these changes. One should not doubt such approaches. The employment of every day growing power of tools such as AI or deep learning technologies in the “right hands” can bring extremely ‘interesting’ results with astonishing speed. And, taking in account the stability and nucleotide number (“shortness”) of sRNA which are heavily pseudouridinylated, one can establish a rather cheap mass production. Such products can be added to each vaccine or nucleic acid (mRNA or DNA) prepare (“vaccine”) or can be distributed with food products and with aerosols. It should be noted that all mRNA (DNA) prepares are using LNP (lipid-based nanoparticles) technology. The presence of PEGylated lipids in LNPs extends their circulation time in vivo [12]. Moreover, their size corresponds to the size of EV (“Darwin’s gemmules”) [12]. The process of fusing of these LNP is known in the laboratory praxis as the transfection. This means that the whole LNP cargo is directly transported to the cell cytoplasm. It appears that the technology for altering epigenetic inheritance is ready.

Conclusion. Hijacking epigenetic mechanisms of gene control for targeted *in vivo* manipulation of gene expression has tremendous potential for treating diseases and catalyzing regenerative medicine [47]. CRISPR-based epigenome editing offers a more precise approach to treat a wider range of disorders stemming from diverse forms of epigenetic dysregulation. These include diseases resulting from gene overexpression, duplication or loss of expression as well as complex alterations such as haploinsufficiency, X-linked inheritance, imprinting disorders and promoter and enhancer mutations [47, 48].

However, current research has not yet yielded epigenetic inheritance technologies with proven capability to intentionally alter the phenotype of human offspring. The significant scientific focus on human sperm miRNA and single-cell RNA sequencing (Sc-RNA-seq) of testes is leading to the rapid accumulation of data and the creation of vast libraries of spermatozoal RNAs. Initial analyses of these datasets suggest the presence of population-specific variations. However, the functional significance, biological relevance, and

⁵ Czech Statistical Office. Births. URL: <https://csu.gov.cz/births?pocet=10&start=0&podskupiny=133&razeni=-datumVydani#data-and-time-series> (date: 13.05.2025).

⁶ HCSO MONITOR. 22.1.1.6. Live births, total fertility rate. URL: https://www.ksh.hu/stadat_files/nep/en/nep0006.html (date: 13.05.2025).

⁷ Narodení podľa pohlavia, hmotnosti, legitimacy a vitality - SR-oblasť-kraj-okres, m-v [om7017rr]. URL: https://datacube.statistics.sk/#!/view/sk/VBD_DEM/om7017rr/v_om7017rr_00_00_00_sk (date: 13.05.2025).

⁸ Demographic catastrophe in Poland: The lowest number of births since WWII. URL: <https://www.polonianews.com/2025/01/demographic-catastrophe-in-poland.html> (date: 13.05.2025).

ethical implications of these observed differences remain largely unexplored and require rigorous investigation.

Separately, studies on the biodistribution of mRNA vaccines, such as the one from Pfizer–BioNTech, have reported accumulation in reproductive tissues like the ovaries, among others. This warrants ongoing research into the long-term effects of any novel medical intervention on germline cells. Furthermore, complex demographic shifts, such as the population changes observed in the V4 countries, highlight the critical need for robust, multi-factorial public health analysis. While the direct causation with any single factor like vaccination is unproven and highly speculative, these real-world trends underscore the importance of developing advanced monitoring systems. In general, without exaggeration, epigenetic gene control is one of the most complex and alarming ethical and strategic problems humanity faces alongside the development of biotechnology. The described mechanisms are not science fiction. Epigenetic inheritance involving small RNAs is an established scientific fact, proven in animal experiments. The ability of external factors (diet, stress, toxins) to cause heritable epigenetic changes is also confirmed. Therefore, the hypothetical possibility of creating an agent that deliberately induces such changes becomes

less hypothetical with each passing year. The consequences of their application may not be immediate, but manifest a generation(s) later. The first victims of exposure could merely be "carriers" of the pathology for their children. Detecting such an attack would be extremely difficult, and the consequences, embedded in the epigenome, could be irreversible. Theoretically, one can also imagine agents targeting specific epigenetic markers characteristic of certain ethnic or population groups. This makes it possible to create a tool for "silent" depopulation. It is not impossible that such tools have already been created. In the case of interference with the epigenome that affects germ cells, any error (off-target effects) would be perpetuated in subsequent generations.

This problem is a systemic challenge on par with the nuclear threat of the 20th century, but potentially more insidious. An urgent and broad public discussion is required, involving not only scientists and politicians but also philosophers, ethicists, and the whole of society. It is necessary to develop new ethical norms and control mechanisms that would not hinder science but guide it exclusively toward peaceful and responsible use. Ignoring these risks in the hope that "this is still a long way off" is an extremely irresponsible position.

Limitations of the study / Ограничения исследования

All data were obtained from public sources; therefore the article is strictly limited on these public sources only. / Все данные получены из открытых источников, поэтому статья строго ограничена только этими открытыми источниками.

References/Список источников

1. Darwin C. *The variation of animals and plants under domestication*. London: John Murray; 1868.
2. van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2018;19:213-28. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>
3. Su X, Wang H, Li Q, Chen Z. Extracellular Vesicles: A Review of Their Therapeutic Potentials, Sources, Biodistribution, and Administration Routes. *Int J Nanomedicine*. 2025;20:3175-99. <https://doi.org/10.2147/IJN.S502591>
4. Hu M, Han Y, Zhang X, Tian S, Shang Z, Yuan Z, et al. Extracellular vesicles for targeted drug delivery: advances in surface modification strategies and therapeutic applications. *J Transl Med*. 2025;23:1028. <https://doi.org/10.1186/s12967-025-07077-y>
5. Zhang J, Wu J, Wang G, He L, Zheng Z, Wu M, et al. Extracellular Vesicles: Techniques and Biomedical Applications Related to Single Vesicle Analysis. *ACS Nano*. 2023;17(18):17668-98. <https://doi.org/10.1021/acsnano.3c03172>
6. van Niel G, D'Angelo G, Raposo G, Rilla K, Tahara H, Théry C, et al. The power of imaging to understand extracellular vesicle biology *in vivo*. *Nat Methods*. 2021;18(9):1013-26. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01206-3>
7. Liu Y. Darwin's Pangenesis and the Lamarckian Inheritance of Acquired Characters. *Adv Genet*. 2018;101:115-44. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2018.05.005>

8. Liu Y. Natural Selection and Pangenesis: The Darwinian Synthesis of Evolution and Genetics. *Adv Genet.* 2018;102:121-42.
<https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2018.05.010>
9. Harris I, Immler S, Chapman T, Maklakov AA. Selection on the epigenome: small RNA inheritance in animal evolution. *Trends Genet.* 2025;41(9):804-16.
<https://doi.org/10.1016/j.tig.2025.04.007>
10. Vogt MC, Hobert O. Starvation-induced changes in somatic insulin/IGF-1R signaling drive metabolic programming across generations. *Sci Adv.* 2023;9(14):eade1817.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.ade1817>
11. Ivimey-Cook ER, Sales K, Carlsson H, Immler S, Chapman T, Maklakov AA. Transgenerational fitness effects of lifespan extension by dietary restriction in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Biol Sci.* 2021;288(1950):20210701.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2021.0701>
12. Супотницкий МВ. Опасность мРНК-технологий. *Вестник войск ПХБ защиты.* 2024;8(3):205-31. EDN: ifdujf.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-205-231>
- Supotnitskiy MV. mRNA Technologies Danger. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(3):205-31 (In Russian).
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-205-231>
13. Haase AD. An introduction to PIWI-interacting RNAs (piRNAs) in the context of metazoan small RNA silencing pathways. *RNA Biol.* 2022;19(1):1094-102.
<https://doi.org/10.1080/15476286.2022.2132359>
14. Chen LL, Kim VN. Small and long non-coding RNAs: Past, present, and future. *Cell.* 2024;187(23):6451-85.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.10.024>
15. Zhang M, Lu Z. tRNA modifications: greasing the wheels of translation and beyond. *RNA Biol.* 2025;22(1):1-25.
<https://doi.org/10.1080/15476286.2024.2442856>
16. Pliatska V, Loher P, Magee R, Telonis AG, Londin E, Shigematsu M, et al. MINTbase v2.0: a comprehensive database for tRNA-derived fragments that includes nuclear and mitochondrial fragments from all The Cancer Genome Atlas projects. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D152-D159.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkx1075>
17. Sharma U, Conine CC, Shea JM, Boskovic A, Derr AG, Bing XY, et al. Biogenesis and function of tRNA fragments during sperm maturation and fertilization in mammals. *Science.* 2016;351(6271):391-96.
<https://doi.org/10.1126/science.aad6780>
18. Goodarzi H, Liu X, Nguyen HC, Zhang S, Fish L, Tavazoie SF. Endogenous tRNA-Derived Fragments Suppress Breast Cancer Progression via YBX1 Displacement. *Cell.* 2015;161(4):790-802.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.053>
19. Holmes AD, Chan PP, Chen Q, Ivanov P, Drouard L, Polacek N, et al. A standardized ontology for naming tRNA-derived RNAs based on molecular origin. *Nat Methods.* 2023;20(5):627-8.
<https://doi.org/10.1038/s41592-023-01813-2>
20. Sur S, Pal JK, Shekhar S, Bafna P, Bhattacharyya R. Emerging role and clinical applications of circular RNAs in human diseases. *Funct Integr Genomics.* 2025;25(1):77.
<https://doi.org/10.1007/s10142-025-01575-4>
21. Yang L, Wilusz JE, Chen LL. Biogenesis and Regulatory Roles of Circular RNAs. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2022;38:263-89.
<https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-120420-125117>
22. Margvelani G, Maquera KAA, Welden JR, Rodgers DW, Stamm S. Translation of circular RNAs. *Nucleic Acids Res.* 2025;53(1):gkae1167.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkae1167>
23. Zhang J, Zhao F. Circular RNA discovery with emerging sequencing and deep learning technologies. *Nat Genet.* 2025;57(5):1089-102.
<https://doi.org/10.1038/s41588-025-02157-7>
24. Baugh LR, Day T. Nongenetic inheritance and multigenerational plasticity in the nematode *C. elegans*. *Elife.* 2020;9:e58498.
<https://doi.org/10.7554/eLife.58498>
25. Jones BC, Wood JG, Chang C, Tam AD, Franklin MJ, Siegel ER, et al. A somatic piRNA pathway in the *Drosophila* fat body ensures metabolic homeostasis and normal lifespan. *Nat Commun.* 2016;7:13856.
<https://doi.org/10.1038/ncomms13856>
26. Liu S, Sharma U. Sperm RNA Payload: Implications for Intergenerational Epigenetic Inheritance. *Int J Mol Sci.* 2023;24(6):5889.
<https://doi.org/10.3390/ijms24065889>

27. Dias BG, Ressler KJ. Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nat Neurosci.* 2014;17(1):89-96.
<https://doi.org/10.1038/nn.3594>
28. Szyf M. Lamarck revisited: epigenetic inheritance of ancestral odor fear conditioning. *Nat Neurosci.* 2014;17(1):2-4.
<https://doi.org/10.1038/nn.3603>
29. Mulligan CJ, Quinn EB, Hamadmad D, Dutton CL, Nevell L, Binder AM, et al. Epigenetic signatures of intergenerational exposure to violence in three generations of Syrian refugees. *Sci Rep.* 2025;15:5945.
<https://doi.org/10.1038/s41598-025-89818-z>
30. Quinn EB, Hsiao CJ, Maisha FM, Mulligan CJ. Low birthweight is associated with epigenetic age acceleration in the first 3 years of life. *Evol Med Public Health.* 2023;11(1):251-61.
<https://doi.org/10.1093/emph/eoad019>
31. Bédécarrats A, Chen S, Pearce K, Cai D, Glanzman DL. RNA from Trained Aplysia Can Induce an Epigenetic Engram for Long-Term Sensitization in Untrained Aplysia. *eNeuro.* 2018;5(3):ENEURO.0038-18.2018.
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0038-18.2018>
32. Lakota J, Jagla F, Pechánová O. Heart memory or can transplanted heart manipulate recipients brain control over mind body interactions? *Act Nerv Super Rediviva.* 2021;63:49-51.
33. Burton NO, Greer EL. Multigenerational epigenetic inheritance: Transmitting information across generations. *Semin Cell Dev Biol.* 2022;127:121-32.
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.08.006>
34. Yap YS, Patrizio P, Cimmino L, Sdrimas K, Telonis AG. The Small Non-Coding RNA Profile of Human and Mouse Sperm. *Noncoding RNA.* 2025;11(1):15.
<https://doi.org/10.3390/ncrna11010015>
35. Mehta P, Singh R. The composition of human sperm sncRNAome: a cross-country small RNA profiling. *Reprod Biol Endocrinol.* 2025;23:36.
<https://doi.org/10.1186/s12958-025-01358-3>
36. Pavelka J, Poláková S, Pavelková V, Galeta P. An epigenetic change in a moth is generated by temperature and transmitted to many subsequent generations mediated by RNA. *PLoS One.* 2024;19(3):e0292179.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0292179>
37. Herridge RP, Dolata J, Migliori V, de Santis Alves C, Borges F, Schorn AJ, et al. Pseudouridine guides germline small RNA transport and epigenetic inheritance. *Nat Struct Mol Biol.* 2025;32(2):277-86.
<https://doi.org/10.1038/s41594-024-01392-6>
38. Lin TY, Mehta R, Glatt S. Pseudouridines in RNAs: switching atoms means shifting paradigms. *FEBS Lett.* 2021;595(18):2310-22.
<https://doi.org/10.1002/1873-3468.14188>
39. Kierzek E, Malgowska M, Lisowiec J, Turner DH, Gdaniec Z, Kierzek R. The contribution of pseudouridine to stabilities and structure of RNAs. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(5):3492-501.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkt1330>
40. Li X, Ma S, Yi C. Pseudouridine: the fifth RNA nucleotide with renewed interests. *Curr Opin Chem Biol.* 2016;33:108-16.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.06.014>
41. Granados-Riveron JT, Aquino-Jarquín G. Engineering of the current nucleoside-modified mRNA-LNP vaccines against SARS-CoV-2. *Biomed Pharmacother.* 2021;142:111953.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111953>
42. Mulrone TE, Pöyry T, Yam-Puc JC, Rust M, Harvey RF, Kalmar L, et al. N1-methylpseudouridylation of mRNA causes +1 ribosomal frameshifting. *Nature.* 2024;625(7993):189-94.
<https://doi.org/10.1038/s41586-023-06800-3>
43. Rabbani M, Zheng X, Manske GL, Vargo A, Shami AN, Li JZ, et al. Decoding the Spermatogenesis Program: New Insights from Transcriptomic Analyses. *Annu Rev Genet.* 2022;56:339-68.
<https://doi.org/10.1146/annurev-genet-080320-040045>
44. Tirumalasetty MB, Bhattacharya I, Mohiuddin MS, Baki VB, Choubey M. Understanding testicular single cell transcriptional atlas: from developmental complications to male infertility. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2024;15:1394812.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1394812>
45. Kong W, Wei Y, Dong Z, Wang Z, Li J, Liu Y, et al. Role of size, surface charge, and PEGylated lipids of lipid nanoparticles (LNPs) on intramuscular delivery of mRNA. *J Nanobiotechnol.* 2024;22:553.
<https://doi.org/10.1186/s12951-024-02812-x>

46. Kong W, Wei Y, Dong Z, Liu W, Zhao J, Huang Y, et al. Role of size, surface charge, and PEGylated lipids of lipid nanoparticles (LNPs) on intramuscular delivery of mRNA. *J Nanobiotechnology*. 2024;22(1):553. <https://doi.org/10.1186/s12951-024-02812-x>

47. McCutcheon SR, Rohm D, Iglesias N, et al. Epigenome editing technologies for discovery and medicine. *Nat Biotechnol*. 2024;42:1199–217. <https://doi.org/10.1038/s41587-024-02320-1>

48. Roth GV, Gengaro IR, Qi LS. Precision epigenetic editing: Technological advances, enduring challenges, and therapeutic applications. *Cell Chem Biol*. 2024;6:S2451-9456(24)00309-X. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2024.07.007>

Acknowledgement / Благодарность

I would like to thank Dr. M.V. Supotnitskij for his helpful suggestions and scientific advice / Выражаю благодарность доктору М.В. Супотницкому за полезные советы и научные рекомендации.

Author's Contribution / Вклад автора

Elaboration of the concept of the paper; collection, analysis, and systematization of scientific literature; writing and edition of paper / Разработка концепции статьи; сбор, анализ и систематизация научной литературы; написание статьи.

Author's statement / Заявление автора

I am declaring that I prepared the article from sources freely available on the Internet and free available publications, figures, and other possible legal sources. I, as a sole 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 / Я заявляю, что подготовил статью из источников, находящихся в свободном доступе в Интернете, а также свободно доступных публикаций, рисунков и других возможных легальных источников. Я, как единственный автор, заявляю, что исследование проводилось при отсутствии каких-либо коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Peer review information / Сведения о рецензировании

The article has been double-blind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database. / Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Author / Об авторе

Centre of Experimental Medicine, SAS, Dubravska cesta 9, 841 04 Bratislava, Slovakia.

Ján Lakota. MD, PhD.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7088-488X>

Contact information for author: Ján Lakota; jan.lakota@savba.sk

Центр экспериментальной медицины, Словацкая Академия наук, Дубравская дорога, 9, 841 04 Братислава, Словакия.

Лакота Ян. MD, PhD.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7088-488X>

Контактная информация автора: Лакота Ян; jan.lakota@savba.sk



Алгоритм действий на месте химического инцидента для сохранения вещественных доказательств

В.В. Завьялов¹, А.А. Завьялова², Н.В. Завьялова¹, В.А. Ковтун¹, М.П. Шаройко¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации
111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
✉ e-mail: 27_nc_1@mil.ru

²Федеральное государственное казенное образовательное учреждение высшего образования «Московский университет Министерства внутренних дел Российской Федерации имени В.Я. Кикотя»
117997, г. Москва, ул. Академика Волгина, д. 12
✉ e-mail: support_mosu@mvd.ru

Основные моменты

- Установление вины в нарушении Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении (КЗХО) требует доказательства причастности конкретных лиц, чью ДНК необходимо идентифицировать по биологическим следам на месте инцидента.

- Дегазирующие рецептуры, применяемые при обработке места инцидента, могут разрушать ДНК, что делает невозможным генотипирование.

- Разработан алгоритм действий на месте химического инцидента, обеспечивающий сохранность биологических следов для последующего криминалистического анализа.

Актуальность. Обусловлена необходимостью объективного доказывания причастности лиц к химическим инцидентам через анализ ДНК-содержащих следов, что требует их защиты от разрушения.

Цель работы – научное обоснование алгоритма действий на месте химического инцидента для сохранения вещественных доказательств.

Источниковая база исследования. Публикации в рецензируемых научных журналах, в том числе доступные через глобальную сеть Интернет.

Метод исследования. Аналитический.

Результаты исследования. Определена криминалистическая значимость биологических следов с ДНК на месте химического инцидента. Нами оценены риски утраты ДНК-информации под воздействием дегазирующих рецептур. Установлено, что хлорсодержащие реагенты разрушают ДНК, тогда как составы на основе оксидов магния, титана, 2-аминоэтанола и гипохлорита кальция – нет. Разработан алгоритм, предусматривающий приоритетный сбор биоматериала до дегазации или применение рецептур, не разрушающих ДНК.

Заключение. Для сохранения доказательств до проведения криминалистического анализа необходимо исключить использование разрушающих ДНК дегазаторов или применять нейтральные составы.

Ключевые слова: биологические следы; дегазирующие рецептуры; дезинтаминанты; индекс деградации; КЗХО; криминалистические исследования; ликвидация последствий химического инцидента; расследование химического инцидента; сохранность доказательственной базы; STR профилирование; токсичные химикаты

Для цитирования: Завьялов В.В., Завьялова А.А., Завьялова Н.В., Ковтун В.А., Шаройко М.П. Алгоритм действий на месте химического инцидента для сохранения вещественных доказательств. Вестник войск РХБ защиты. 2025;9(4):322–344. EDN:unatfa.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-322-344>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: Н.В. Завьялова является членом редколлегии журнала (с 2017 г.). В.А. Ковтун является членом редсовета журнала (с 2017 г.). Это не повлияло на процесс рецензирования и его результаты.

© В.В. Завьялов, А.А. Завьялова, Н.В. Завьялова, В.А. Ковтун, М.П. Шаройко, 2025

Journal of NBC Protection Corps. 2025. V. 9. No 4

Использование искусственного интеллекта: авторы не использовали.

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ); федеральное государственное казенное образовательное учреждение высшего образования «Московский университет Министерства внутренних дел Российской Федерации имени В.Я. Кикотя» (Московский университет МВД России имени В.Я. Кикотя).

Поступила 25.06.2025 г. После доработки 16.08.2025 г. Принята к публикации 27.12.2025 г.

Standard procedure at chemical accident site to ensure protection of evidence

Vasily V. Zavyalov¹✉, Anna A. Zavyalova²✉, Natalya V. Zavyalova, Victor A. Kovtun, Maxim P. Sharoyko

¹27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky
of the Ministry of Defence of Russian Federation
Entuziastov Proezd, 19, Moscow 111024, Russian Federation
✉ e-mail: 27nc_1@mil.ru

²Moscow University of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation Named after V.Ya. Kikot
Akademika Volgina Str., 12, Moscow 117997, Russian Federation
✉ e-mail: support_mosu@mvd.ru

Highlights

- If we want to find someone guilty of violating the Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on their Destruction (Chemical Weapons Convention or CWC), we should prove the involvement of specific persons, whose DNA can be identified using biological traces left at the chemical accident site.

- Decontaminant mixtures, used at the chemical accident site can destroy the DNA and that makes genotyping impossible.

- The authors have elaborated special procedure that permits to preserve biological traces at the chemical accident site for further forensic analysis.

Relevance. It is crucial to provide objective evidence against persons who are involved in chemical accidents. The only way is to make a DNA assay of biological traces left at chemical accident site. That is why we should keep these traces intact and preserve their integrity.

Purpose of the study is to provide a scientific justification for the standard procedure that ensures protection of evidence at chemical accident site.

Study base sources. The authors have studied scientific publications including those, available on the Internet.

Method. Analytical method has been employed.

Results. The authors of this paper have outlined the forensic significance of biological traces with DNA at the chemical accident site. They have evaluated the risks of the DNA data loss, when the site is exposed to decontaminant agents. It has been proved that chlorine containing reagents destroy the DNA, whereas mixtures that contain magnesium oxide, titanium oxide, 2-aminoethanol and calcium hypochlorite are safe for the DNA. The authors of this paper have developed a procedure that permits either to collect biomaterial before decontamination or to use mixtures that are harmless to the DNA.

Conclusion. To preserve evidence for further forensic analysis it is vital to avoid using decontaminants that may destroy the DNA. In this case the neutral mixtures should be used.

Keywords: biological traces; chemical accident investigation; chemical accident remediation; Chemical Weapons Convention; decontaminants; decontaminant mixtures; degradation rate; evidence safety and integrity; forensic processing; STR profiling; toxic chemicals

Завьялов В.В., Завьялова А.А., Завьялова Н.В., Ковтун В.А., Шаройко М.П.
Zavyalov V.V., Zavyalova A.A., Zavyalova N.V., Kovtun V.A., Sharoyko M.P.

For citation: Zavyalov V.V., Zavyalova A.A., Zavyalova N.V., Kovtun V.A., Sharoyko M.P. Standard procedure at chemical accident site to ensure protection of evidence. *Journal of NBC Protection Corps.* 2025;9(4):322–344. EDN: unatfa.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-322-344>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: N.V. Zavyalova has been a member of the Journal Editorial Board (since 2017). V.A. Kovtun has been a member of the Journal Editorial Council (since 2017). These facts have not affected review process and final decision.

AI use: The authors did not use artificial intelligence.

Funding: 27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF);
Moscow University of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation Named after V.Ya. Kikot.

Received June 25, 2025. Revised August 16, 2025. Accepted December 27, 2025.

Расследование нарушений Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении (КЗХО)¹ требует доказывания вины конкретных лиц, поскольку международная ответственность государства наступает лишь после установления причастности его представителей. Уголовное преследование возможно только при наличии неопровержимых доказательств, соответствующих стандартам современного правосудия (презумпция невиновности, бремя доказывания на обвинении).

Наиболее достоверными доказательствами являются биологические следы с ДНК (кровь, слюна), которые могут сохраниться на боеприпасах, средствах доставки, одежде пострадавших или поверхностях в зоне инцидента. Однако их исследование осложнено необходимостью срочной дегазации – первичной обработки для нейтрализации токсичных веществ.

Проблема заключается в том, что дегазирующие составы могут разрушать ДНК в биологических следах, делая невозможной генетическую идентификацию преступника. Это ставит под угрозу:

- установление личности преступников,
- привлечение к ответственности государств (если исполнители действовали по приказу),
- легитимность обвинений (риск обвинения в провокации при недостатке доказательств).

Актуальность работы обусловлена необходимостью разработки алгоритмов сохранения ДНК-материала при проведении дегазации, что критически важно для об-

ективного расследования химических инцидентов.

Цель работы – научное обоснование алгоритма действий на месте химического инцидента для сохранения вещественных доказательств.

Метод исследования. Аналитический.

Источниковая база исследований. Публикации в научных журналах, в том числе доступные через глобальную сеть Интернет.

Поставленная цель достигалась:

- определением рисков потери криминалистической значимой ДНК-информации;
- разработкой алгоритма работы на месте химического инцидента, связанного с нарушением КЗХО.

Возможные риски потери криминалистически значимой ДНК-информации в биологических следах на месте химического инцидента. Процесс проведения криминалистических исследований в рамках расследования событий, связанных с применением токсичных химикатов в нарушение КЗХО, сопряжен со значительными препятствиями и сложностями. Одним из таких препятствий является определение общей стратегии криминалистического исследования следов, оставленных на месте инцидента, в том числе лицами, виновными в его совершении. Следует ли обследовать объекты в безопасных условиях, т.е. в специализированной лаборатории с подходящими помещениями и оборудованием, или перед криминалистической экспертизой их следует обеззаразить? Первый сценарий предполагает внедрение адаптированных подходов и методов, которые могут быть применены в условиях ограничений, накладываемых на инфраструктуру. Второй

¹ КЗХО принята Генеральной Ассамблеей ООН 30 ноября 1992 г. URL: https://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/chemweapons.shtml (дата обращения: 10.05.2025).

сценарий позволяет идеально применять методы, однако он сопряжен с риском того, что следы могут быть нарушены в результате процедуры обеззараживания [1–3]. Следовательно, важно изучить влияние дегазирующих рецептур и процедур на следы, что, в свою очередь, позволит принимать решения о том, какие объекты и следы следует собирать.

Среди множества следов, которые являются предметом исследования в ходе криминалистической экспертизы, ДНК стала ценным и незаменимым вещественным доказательством в различных типах дел [4, 5]. Однако ДНК может быть легко удалена или повреждена различными факторами [6–10], и лишь немногие клетки могут обеспечить достаточное количество ДНК для профилирования [11, 12]. ДНК подвержена деградации под воздействием факторов окружающей среды, таких как свет, тепло и влажность [9]. Воздействие ультрафиолетового излучения может повредить ДНК, повышенные температуры могут привести к денатурации и фрагментации, а высокий уровень влажности может способствовать деградации в результате реакций гидролиза, что приводит к потере нуклеотидных оснований, дезаминированию и расщеплению нити ДНК [8, 13]. Общими механизмами деградации являются гидролиз и окисление, в частности, активные формы кислорода и свободные радикалы, в частности гидроксильные радикалы, которые, как хорошо известно, вызывают деградацию ДНК [8, 14, 15]. Дополнительные факторы, такие как экстремальные уровни pH и микробная активность, могут способствовать фрагментации и модификации профилей ДНК [6, 8, 16]. Несмотря на эти проблемы, в ряде работ зарубежных криминалистов была показана возможность восстановления профилей ДНК с мест преступлений и предметов, подвергшихся воздействию экстремальных температур (например, поджог или самодельное взрывное устройство) [17–20] или повышенной влажности [21–24].

В ряде фундаментальных исследований изучалась способность восстанавливать профили ДНК после воздействия различных чистящих [5, 25–31], дезинфицирующих [32–34] средств или боевых биологических и химических агентов [33, 35–37]. Влияние чистящих средств на восстановление ДНК показывает изменчивую картину. Методы работы с субстратом, носителем ДНК, и формирования

выборки, наряду с аналитическими подходами, вносят значительные различия как в количестве ДНК, так и в способность восстанавливать профили [25–29]. Обычно исследуемыми чистящими средствами являются мыло и отбеливатель [30, 31]. Было показано, что пористые субстраты в целом обеспечивают более высокие показатели успешности восстановления профиля ДНК. Хлорированные чистящие средства, такие как отбеливатель, демонстрируют высокую тенденцию к разложению ДНК, что приводит к более низким показателям восстановления профиля [5].

В своем исследовании 2020 года Wilkinson с соавт. изучили влияние различных методов дегазации жидких и газообразных веществ на восстановление профиля ДНК. Примечательно, что формальдегид и озон существенно влияли на количество ДНК, препятствуя полному восстановлению профиля. Рецептуры MODEC MDF-500 и Bioxy-S были определены как наименее разрушительные средства для обеззараживания. Кроме того, в этом исследовании было подчеркнуто, что испаренная перекись водорода и гамма-облучение являются наименее разрушительными методами профилирования ДНК в присутствии биологических агентов [33].

Ионизирующие излучения обычно используются для нейтрализации биологических агентов [38]. Воздействие различных излучений на профилирование ДНК, таких как альфа-, бета- и гамма-облучение, а также ультрафиолетовое облучение, привело к различным результатам [34, 39–40]. Такие факторы, как применяемая доза, специфический протокол анализа ДНК, а также субстрат и носитель ДНК, вносят свой вклад в вариabельные результаты².

Что касается биологических поражающих агентов или боевых отравляющих веществ, то Timbers с соавт. [36] исследовали, как бактерии, эндоспоры, токсины и вирусы, сохраняются в процессе экстракции ДНК для генетического профилирования. Их результаты показали, что количество бактерий, вирусов и токсинов было снижено до неопределяемого уровня во время экстракции под действием буфера для лизиса. Тем не менее, жизнеспособные эндоспоры сохранялись и после экстракции. Реализация этапа фильтрации после выделения ДНК успешно устранила жизнеспособные споры без ущерба для ДНК человека. В исследовании отмечается,

² National Research Council / Strategies to Protect the Health of Deployed U.S. Forces: Force Protection and Decontamination, Washington, DC: The National Academies. Press; 1999. URL: <https://doi.org/10.17226/9717> (дата обращения: 09.05.2025).

что длительное загрязнение образцов определенными биологическими агентами препятствует возможности завершить генетическое профилирование, что подчеркивает важность быстрых и эффективных мер по обеззараживанию [36].

Боевые отравляющие вещества представляют собой сложное полотно интерференции, когда речь идет о ДНК. Wilkinson с соавт. [35] продемонстрировали, что некоторые агенты, такие как цианистый водород, зарин, фтороацетат натрия и диазинон, не ингибируют профилирование ДНК. Тем не менее, алкилирующая природа других веществ, таких как сернистый иприт и диметилсульфат, и окислительная природа других, таких как хлор и фосген, могут не только разрушать ДНК, но даже привести к полной потере генетического материала [35].

Детальное понимание того, как следы ДНК сохраняются на месте химического инцидента, призвано помочь сформулировать наиболее приемлемый алгоритм работы, направленный на формирование доказательственной базы расследования данного инцидента [4, 41, 42].

Экспериментальное исследование по криминалистическому генотипированию в условиях воздействия дегазирующих рецептур на объекты-носители ДНК. В недавно проведенном швейцарскими учеными (из Школы криминалистики Лозаннского университета и Федерального управления гражданской обороны Швейцарии) исследовании были использованы 16 различных средств дегазации образцов крови и слюны. Образцы крови и слюны были нанесены на марлю, а затем подвергнуты воздействию дегазирующих рецептур. Впоследствии были проведены экстракция, количественное определение и профилирование ДНК, что позволило получить представление о влиянии процедуры обеззараживания на профили ДНК таких биологических следов. Обеззараживающие средства включали в себя общедоступные чистящие средства, такие как мыло, вода и отбеливатель, а также специальные обеззараживающие средства, специально разработанные для служб быстрого реагирования и групп по ликвидации последствий РХБ-инцидентов для борьбы с химическими и биологическими боевыми агентами [3]. В качестве носителей ДНК были выбраны две жидкости организма: цельная человеческая кровь и человеческая слюна. Они были выбраны, поскольку обычно содержат большое количество ДНК [43] и в целом обеспечивают большую воспроизводимость, чем сенсорная ДНК для исследовательских целей [44]. Ис-

следование проводилось с использованием как чистой, так и двукратно разбавленной крови, а также чистой и двукратно разбавленной слюны.

В исследовании использовалась неразбавленная человеческая кровь, обработанная ЭДТА, полученная от одного донора через банк крови. Кровь хранилась в холодильнике при температуре 4 °С. Двукратное разведение крови готовили с половиной объема крови и половиной объема стерильной воды. Разбавленную кровь также хранили в холодильнике при температуре 4 °С между использованием. Для слюны был проведен однократный отбор слюны от человека-донора. Донору было поручено заполнить стерильную пробирку объемом 15 мл между 8 и 9 часами утра перед завтраком [45]. Слюну хранили в морозильной камере при температуре минус 80 °С, чтобы избежать бактериальной деградации ДНК и улучшить сохранность ДНК [46]. Для приготовления разбавленных образцов слюны перед каждым использованием готовили двукратное разбавление слюны половиной объема слюны и половиной объема стерильной воды. После отбора проб кровь и слюна помещались на хранение в холодильник или морозильную камеру. Далее пробы – 10 мкл неразбавленной и разбавленной крови и 40 мкл неразбавленной и разбавленной слюны, содержащих ДНК, наносили на расчетный центр квадратов трехслойной стерильной марли (Toppers 12, Systagenix) размером 1,5 см×1,5 см. Марлевые квадраты высушивали при комнатной температуре в течение ночи. Для каждого образца марлевые квадраты помещались отдельно в предварительно очищенные стеклянные чашки Петри. Марлевые квадраты и чашки Петри предварительно подвергались воздействию ультрафиолетового света (254 нм) в течение 30 минут для предотвращения загрязнения ДНК, остающегося на марле или чашках Петри. Дегазирующие рецептуры были выбраны таким образом, чтобы был представлен широкий спектр таких средств (таблица 1).

Марли подвергали воздействию дегазирующих рецептур различной продолжительности в соответствии с инструкциями производителя. Для погружения, на марлю в каждую чашку Петри, наливали по 15 мл дегазирующего вещества. Для распыляемых обеззараживающих средств, на марлю распыляли рецептуры до полного покрытия и впитывания. Порошки и средство RSDL высыпали на марли до полного их покрытия. Дегазацию проводили при комнатной температуре. После нанесения дегазирующих

рецептур марли были удалены и помещены в чистые чашки Петри с помощью стерилизованного пинцета, при этом никаких действий по удалению излишков дегазирующих рецептов с марли не предпринималось. Марлевые квадраты, содержащие ДНК, высушивали при комнатной температуре в течение ночи в закрытых чашках Петри, чтобы предотвратить контаминацию. Процедура была проведена в трех повторностях для каждого обеззараживающего средства и каждой комбинации жидкостей организма. Три образца крови и слюны были также равномерно нанесены на марлю для каждой концентрации без какой-либо обработки, для установления эталонных результатов (контроля) для каждой концентрации. Один чистый образец (т.е. марля без какой-либо ДНК) был проде-

газирован каждой рецептурой для чистоты эксперимента в качестве контроля [3].
Анализ ДНК проводили через ряд этапов: экстракция, количественная оценка, амплификация и секвенирование. Тем не менее, два конкретных этапа были особенно значимыми в данном исследовании. Во-первых, были собраны данные количественной оценки для изучения влияния обеззараживающих веществ на количество ДНК, которое может быть извлечено из этих образцов. Эти данные затем послужили основой для дальнейшей подготовки образца, определяя необходимое количество экстракта для амплификации. Впоследствии ампликоны подвергали анализу с помощью капиллярного электрофореза, при этом оценка восстановления профиля короткого tandemного повторения (STR) проводи-

Таблица 1 – Описание дегазирующих рецептов и их применение на основе инструкций производителей
Table 1. Description of decontaminating mixtures and their use according to manuals provided by manufacturers

№ п/п / No	Основной механизм дегазации / Basic decontamination mode	Дегазирующие рецепты (производитель/поставщик) / Decontaminating mixtures (manufacturer/supplier)	Действующие активные вещества / Active ingredients	Способ дегазации / Decontamination method	Экспозиция, мин / Exposure time, min
1	Физическое удаление / Physical removal	Вода* (водопроводная) / Tap water*	-	Погружение / Submersion	5
		Мыльная вода* ~0,1 % (по объему) (водопроводная вода с моющим средством «Handy») / Soapy water* ~0,1% (per volume) (tap water with «Handy» ^a detergent)	-	Погружение / Submersion	5
		Изопропанол* (Sigma-Aldrich >99,8 %) / Isopropyl alcohol* (Sigma-Aldrich >99,8%)	-	Погружение / Submersion	5
		SkinNeutrAll®* (Ilma Biochem) / SkinNeutrAll* (Ilma Biochem)	Аскорбиновая кислота / Ascorbic acid	Спрей / Spraying	5
2	Адсорбция+ Окисление / Adsorption+ Oxydation	CHpowder (Служба поддержки командования вооруженных сил Швейцарии) / CHpowder (Swiss Armed Forces officership support service)	Хлорированная известь (гипохлорит кальция), оксид магния / Chlorinated lime (calcium hypochlorite), magnesium oxide	Порошок / Powdering	1,5
		FastAct® (Enware)	Оксид магния, оксид титана / Magnesium oxide, titanium oxide	Порошок / Powdering	1,5
3	Нуклеофильное замещение / Nucleophilic substitution	GDS2000 (Karcher)	2-Аминоэтанол, диэтилентриамин / 2-aminoethanol diethylene triamine	Спрей / Spraying	10
		GD6 (OWR)	Аминоэтанол / Aminoethanol	Спрей / Spraying	10
		RSDL® (Emergent Bio)	2,3-бутандионмоноксим / 2,3-Butanedione monoxime	Восстановление ^b / Reduction ^b	2

Продолжение таблицы 1

№ п/п / No	Основной механизм дегазации/ Basic decontamination mode	Дегазирующие рецептуры (производитель/поставщик)/ Decontaminating mixtures (manufacturer/supplier)	Действующие активные вещества / Active ingredients	Способ дегазации / Decontamination method	Экспозиция, мин / Exposure time, min
4	Окисление / Oxidation	Alldecont (OWR)	Гипохлорит натрия / Sodium hypochlorite	Погружение / Submersion	2
		BX24 ~10 % (по массе на объем) (Cristianini) / BX24 ~10% (volume per mass) (Cristianini)	Дихлоризоцианурат / Dichloroisocyanurate	Погружение / Submersion	15
		Bleach (Potz)	Гипохлорит натрия / Sodium hypochlorite	Погружение / Submersion	5
		Wasa®-Soft & Clarina® ~2,5 % (по объему и по массе на объем) (Lysoform) / Wasa®-Soft & Clarina® ~2.5% (volume per volume and volume per mass) (Lysoform)	Тозилхлорамид натрия / Tosylchloramide sodium	Погружение / Submersion	2
		Virkon®S ~1 % (по массе) (Lanxess) / Virkon®S ~1% (in mass) (Lanxess)	Пентакалий бис(перокси- моносulfат) бис(суль- фат), бензолсульфоновая кислота / Pentapotasium bis(peroxymonosulfate) bis(sulfate), benzenesulfonic acid	Погружение / Submersion	10
		Vaprox разбавленный ~10 % (по объему) (Steris) / Vaprox diluted~10% (in volume) (Steris)	Перекись водорода / Hydrogen peroxide	Погружение / Submersion	15
		Вофастерил ~2 % (в/в) (Kesla) / Wofasteril~2% (i/v) (Kesla)	Надуксусная кислота / Peracetic acid	Спрей / Spraying	60
Примечание. *Исследован как метод удаления, но с возможностью гидролиза. ^a Швейцарский производитель моющих средств для мытья посуды Migros. ^b Изъято вместе с веществом. Таблица адаптирована авторами из работы I. Radgen-Morvant с соавт. [3]. Notes. *Studied as method of removal but with a possibility of hydrolysis. ^a Swiss manufacturer of dish wash detergents Migros. ^b Withdrawn along with the substance. The table is adapted by the authors of this paper from I. Radgen-Morvant et al. [3].					

лась путем комбинированного анализа каж-
дого дубликата [3].
ДНК швейцарские ученые извлекали из
каждой марли с помощью комбинированного
использования набора Investigator Lyse&Spin
Basket Kit (Qiagen AG) и QIAamp DNA Mini
Kit (Qiagen AG) в соответствии с процедурой,
установленной судебно-генетической лабо-
раторией, аккредитованной по стандарту
ISO 17025. Марли были помещены в трубки
с вращающимися корзинами. В каждую
пробирку добавляли 180 мкл ATL-буфера и

20 мкл протеиназы К. Затем пробирки под-
вергали интенсивному перемешиванию на
качалке и инкубировали в течение 1 ч при
56 °C при 500 об/мин на термокачалке (BioSan,
TS-100). Пробирки со спиновой корзиной
были подвергнуты окончательному центри-
фугированию через 5 мин при 12000 об/мин.
Затем спиновую корзину и марлю удаляли,
а ДНК очищали в соответствии с проце-
дурой, предусмотренной мини-набором
QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen AG) [48]. По-
ложительный контроль (мазок с 50 мкл

1/250 разбавленной крови от известного донора) и отрицательный контроль (пустая спиновая корзина) сопровождали каждую экстракцию.

Количественную оценку ДНК проводили с помощью набора Quantifiler Trio DNA Quantification Kit (Applied Biosystems от Thermofisher Scientific) в соответствии с инструкциями производителя. Количественное определение проводилось с помощью системы ПЦР в реальном времени QuantStudio 5 (Applied Biosystems – Thermofisher) и соответствующего программного обеспечения для анализа ПЦР в реальном времени HID. Каждый образец экстракции был количественно определен дважды, как показано на рисунке 1.

Для амплификации ДНК на 3×32-луночной ПЦР-системе ProFlex 3 (Applied Biosystems by LifeTechnologies – Thermofisher Scientific) использовался набор для амплификации ПЦР AmpFLSTR NGM SElect (Applied Biosystems by LifeTechnologies – Thermofisher Scientific). Выбранный набор нацелен на 16 локусов STR (короткий tandemный повтор) и амелогенин с использованием 5 мкл экстракта ДНК в общем объеме ПЦР 25 мкл, когда его концентрация составляла менее 0,1 нг/мкл. Если концентрация была выше, объем экстракта ДНК, добавляемого к объему ПЦР, уменьшали. При концентрации выше 0,75 нг/мкл образцы разбавляли для

получения концентрированного экстракта с концентрацией 0,5 нг/мкл. ДНК из каждой экстракции амплифицировали дважды с использованием одних и тех же условий (две репликации на образец, рисунок 1). Исследования сопровождалось положительным и отрицательным контролями

Программа термоциклирования включала в себя начальную денатурацию при температуре 95 °C в течение 11 мин, за которой следовали 30 циклов денатурации при температуре 94 °C в течение 20 с и отжиг при температуре 59 °C в течение 3 мин. Процесс завершался удлинением локусов при температуре 60 °C на 10 мин. После завершения реакции флаконы временно хранили в термическом амплификаторе, поддерживая температуру 4 °C в течение неопределенного времени, прежде чем они были помещены в морозильную камеру при температуре минус 20 °C.

Образцы готовили для анализа капиллярного электрофореза путем дозирования в каждую лунку 9,5 мкл Hi-Di formamide (Applied Biosystems) и 0,5 мкл GeneScan-600 LIZ (Applied Biosystems by LifeTechnologies – Thermofisher Scientific) и добавляли по 1 мкл каждого амплифицированного образца. Для 96-луночного планшета в нижней части каждой колонны было добавлено двенадцать стандартов аллельных лестниц. После переноса образцов планшеты были покрыты подушечками для перегородок и непосредственно загружены в генетический анализатор 3500 для секвенирования. Амплифицированная ДНК была проанализирована с помощью генетического анализатора 3500 (Applied Biosystems by LifeTechnologies – Thermofisher Scientific) в соответствии со стандартными процедурами.

Данные количественного анализа исследовались с помощью интегрированных инструментов, предоставляемых настольным программным обеспечением QuantStudio Design and Analysis, оценивая правильное усиление путем визуализации графика усиления и стандартной кривой на основе эталонных значений. Количественные значения и индекс деградации (DI) были получены в Excel. Количественные результаты сначала были изучены сами по себе, а затем сопоставлены с индексом деградации, предоставленным набором для количественного определения ДНК Quantifiler Trio. Этот DI оценивает деградацию ДНК путем фрагментации на основе соотношения между концентрацией малых и больших аутомомных ампликонов (т.е. в случае набора для количественного определения Trio, соответ-

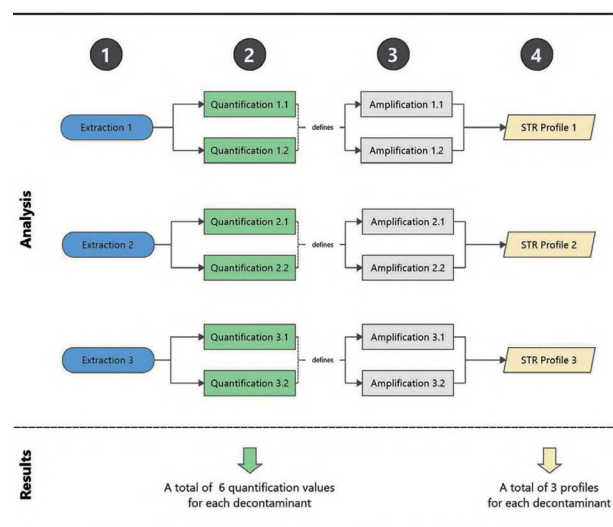


Рисунок 1 – Процесс сбора данных ДНК для каждого дегазирующего вещества и каждого разведения образца (рисунок адаптирован авторами из работы I. Radgen-Morvant с соавт. [3])

Figure 1: DNA data collection for each decontaminant agent and diluted sample (the figure is adapted by the authors of this paper from I. Radgen-Morvant et al. [3])

ственно аутосомная мишень 80.о. и «мишень деградации» 214.о.) [49]. Значения DI ниже порогового значения производителя 1,5–2 указывали на отсутствие деградации ДНК, а значения DI выше 10 указывали на сильную деградацию ДНК [49].

Следуя руководству пользователя QuantStudio³ и опираясь на предыдущие исследования S. Vernarecci с соавт. [50], было продемонстрировано, что сочетание количественного значения с DI может обеспечить надежное прогнозирование шансов на восстановление профиля. В случаях химических инцидентов с большим количеством образцов, комбинация количественных значений с DI может предоставить централизованную информацию для сортировки и помочь определить образец, который следует анализировать в первую очередь. Учитывая ожидаемую деградацию и чувствительность ко времени, которые могут быть важны в таких случаях, изучение этого подхода казалось привлекательным с учетом изучаемого контекста. На основе процесса прогнозирования S. Vernarecci с соавт. (рисунок 2), в сочетании с критериями оценки, установленными в таблице 2, проводилась оценка возможности предвидеть вероятность полного восстановления профиля с учетом количества ДНК и DI [50].

Для обработки данных профиля ДНК швейцарскими учеными использовалось программное обеспечение GeneMapper ID-X (v1.4, Life Technologies). Аналитические пороговые значения для интерпретации профильных данных были установлены на ос-

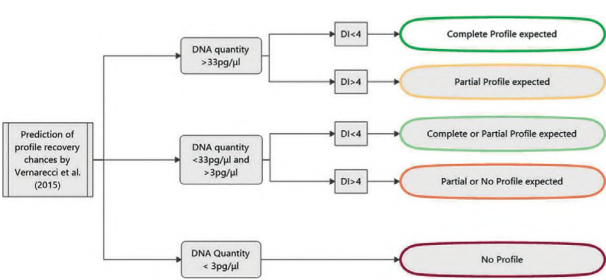


Рисунок 2 – Дерево прогнозирования восстановления профиля на основе опубликованных данных S. Vernarecci с соавт. [50]
Figure 2: DNA profile recovery forecast tree (constructed based on the data from S. Vernarecci et al. [50])

нове протоколов, применяемых швейцарской лабораторией, аккредитованной в области судебной генетики, для выявления следов в реальных делах. Аналитические пороги в GeneMapper были установлены на уровне 70 RFU (относительных единиц флуоресценции) для синего, желтого и зеленого флуорофора и 100 RFU для красного флуорофора.

После назначения программного обеспечения аллеля идентификация и исправление любых артефактов, включая подтягивание, впадение и выпадение, были проведены в соответствии с предоставленными протоколами. Для каждой экстракции определяется профиль ДНК на наличие аллеля, если в обоих анализах аллель правильно обнаружен и атрибутирован. Для окончательной оценки были определены три категории: полный профиль, частичный профиль и отсутствие

Таблица 2 – Категории оценки профилей ДНК
Table 2. Evaluation types for DNA profiles

Категория / Type	Описание / Description
Полный профиль / Full profile	Если все 16 локусов и маркер амелогенина имели каждый аллель рассматриваемого индивидуума, результат рассматривался как полный профиль / If all 16 locuses and amelogenin marker had each allele of the subject in question, the profile was considered a full one
Частичный профиль / Partial profile	Если по крайней мере 6 локусов имели все аллели рассматриваемого индивидуума, результат считался частичным профилем / If at least 6 locuses had all the alleles of the subject in question, the profile was considered a partial one
Нет профиля / No profile	Если менее 6 локусов имели все аллели рассматриваемого индивидуума, результат рассматривался как непрофильный / If less than 6 locuses had all the alleles of the subject in question, there was no profile
Примечание. Таблица составлена авторами на основе данных S. Vernarecci с соавт. [50]. Note. The table is compiled by the authors of this article based on the data from S. Vernarecci et al. [50].	

³ Thermo Fisher, Quantifiler™ HP and Trio DNA Quantification Kits - User Guide; 2018. URL: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/4485354.pdf> (дата обращения: 10.05.2025).

профиля в соответствии с критериями, представленными в *таблице 2*. Критерии были определены на основе рекомендаций по интерпретации, предоставленных швейцарской аккредитованной судебно-генетической лабораторией, и аналогично подходу, выбранному Helmus с соавт. [21]. Как полный, так и частичный профиль соответствуют требованиям, предъявляемым к отправке одного профиля в швейцарскую базу данных CODIS. Кроме того, наблюдалась форма профиля и отмечались элементы деградации ДНК. В частности, профили были изучены для выявления наличия «эффекта горнолыжного склона». Этот эффект может быть визуализирован на электроферограмме с помощью больших пиков в коротких ампликонах и малых пиков в длинных ампликонах и указывает на фрагментацию цепи ДНК и общую деградацию ДНК [13, 20, 51].

Все положительные и отрицательные контроли экстракции, а также все положительные и отрицательные контроли амплификации дали ожидаемые результаты (отсутствие аллелей в отрицательном контроле, полные и согласующиеся профили для положительного контроля экстракции и амплификации), что свидетельствует об успешном завершении всех этапов и позволяет констатировать успешный анализ экстракции, амплификации и капиллярного электрофореза [3]. Для количественной оценки стандарты

для калибровочной кривой соответствовали ожидаемым значениям, предоставленным производителем [51]. Эталонные образцы позволили получить полные профили и были использованы для оценки восстановления профиля для каждого обеззараживающего вещества. В пустом образце, обработанном исключительно обеззараживающими средствами, не было обнаружено присутствия ДНК, и, следовательно, из него не удалось извлечь профиль, что указывает на отсутствие загрязнения ДНК. Красный цвет крови стал первым визуальным признаком последствий воздействия дегазирующих средств (*таблица 3*). Однако, хотя эти наблюдения указывают на реакцию, они не обязательно указывают на их влияние на ДНК, присутствующую в крови [3].

В случае водопроводной и мыльной воды наблюдение за разжижением и растворением крови из марли позволяет предположить эффект смывания. Изменение цвета с красного на коричневый в случае применения Bleach, Aldecont, BX24 и WasaSoft & Clorina может проиллюстрировать предпочтительное окислительное действие на железосодержащие молекулы [52], и может указывать на ускоренное окислительное действие на гемоглобин и его превращение в метгемоглобин, который имеет темно-красно-коричневую окраску [53]. Присутствующая в крови ДНК также может быть повреждена [54, 55].

Таблица 3 – Визуальное наблюдение за марлей и реакцией крови с обеззараживающим веществом
Table 3. Visual inspection of gauze and change of blood after decontaminating agent exposure

Обеззараживающие средства / Decontaminating agent	Модификация проявления крови на марле / Changes of blood on the gauze
Вода / Water	Кровь частично растворена/вымыта / The blood is partially diluted/outwashed
Мыльная вода / Soapy water	Кровь частично растворена/вымыта / The blood is partially diluted/outwashed
Изопропанол / Isopropyl alcohol	Никаких изменений не замечено / There is no change detected
SkinNeutrAll	Никаких изменений не замечено / There is no change detected
CHpowder	Белый налет на крови из-за остатков порошка / The blood has a white bloom because of the powder debris
FastAct	Белый налет на крови из-за остатков порошка / The blood has a white bloom because of the powder debris
GDS2000	Никаких изменений не замечено / There is no change detected
GD6	Кровь приобретает розовую окраску и сворачивается / The blood discolours to pink and coagulates
RSDL	Кровь приобретает более темный цвет / The blood color becomes darker
Aldecont	Цвет крови меняется на коричневый / The blood color changes to brown
BX24	Цвет крови меняется на коричневый / The blood color changes to brown
Bleach	Цвет крови меняется на коричневый/зеленый / The blood color changes to brown/green
Wasa-Soft & Clarina	Кровь частично растворяется и цвет крови меняется на коричневый / The blood is partially diluted and the blood color changes to brown

Продолжение таблицы 3

Обеззараживающие средства / Decontaminating agent	Модификация проявления крови на марле / Changes of blood on the gauze
Virkon	Цвет крови меняется на желтый / The blood colour changes to yellow
Vaprox	Образовалась пена, и никаких видимых пятен крови не осталось / Foam appears and there are no visible signs of blood at all
Vofasteril	Цвет крови меняется на желтый / The blood colour changes to yellow
Примечание. Таблица адаптирована авторами из работы I. Radgen-Morvant с соавт. [3]. Note. The table is adapted by the authors of this article from I. Radgen-Morvant et al. [3].	

Vaprox, содержащий перекись водорода, привел к реакции пенообразования, в основном задокументированной как реакция с ферментом каталазой крови, которая приводит к высвобождению кислорода [56, 57]. После воздействия Vaprox на марле не осталось видимой крови, что указывает на возможную потерю ДНК [58]. Перекиси обычно реагируют через так называемую реакцию Фентона с формами железа, присутствующими в крови [59]. Этот путь реакции может способствовать окислительному процессу и изменению окраски крови к желтоватому оттенку. Кроме того, перекись водорода может привести к механизму реакции Габера-Вейса с ионами железа, в результате которой образуются гидроксильные радикалы. Эти радикалы обладают высокой реакционной способностью и способностью разрушать ДНК [60].

Для Vofasteril и Virkon наблюдалось изменение желтоватого цвета/исчезновение, что свидетельствует об их окислительном действии на кровь, хотя подробные механизмы не могут быть доказаны. Как и в случае с Vaprox, можно было бы ожидать потери ДНК с этими обеззараживающими веществами. GD6 индуцировал розовую окраску кровавых пятен, основной химический состав которых остается неясным, но можно ожидать эффекта связывания железа. Порошки (FastAct и CNpowder), изопропанол, GDS2000 и SkinNeutrAll визуально не воздействовали на пятна крови. Эти визуальные наблюдения за изменениями цвета указывают на реакции между кровью и обеззараживающими веществами. Тем не менее, сложная смесь крови исключает экстраполяцию воздействия этих обеззараживающих веществ на ДНК, содержащуюся в крови. Очевидно, что механизмы реакции могут быть разнообразными, что подчеркивает необходимость изучения того, как эти различные методы обеззараживания

влияют на судебно-медицинское профилирование ДНК [3].

Общее количество ДНК, выделенной швейцарскими учеными из неразбавленной и разбавленной крови, сильно варьировало от 0 до 8000 пг/мкл, в зависимости от используемого обеззараживающего средства (рисунок 3).

Для неразбавленной и разбавленной слюны было обнаружено, что количество восстановленной ДНК в целом ниже. Самая высокая концентрация была чуть ниже 3000 пг/мкл, а в некоторых образцах ДНК не обнаруживалась. По сравнению с образцами крови, образцы слюны демонстрировали меньшую вариабельность количественной оценки и, как правило, имели более низкие концентрации ДНК. Тем не менее, различия между тремя различными видами экстракции все же были заметны. Количественные реплики в рамках одной и той же экстракции, как правило, показали меньшие вариации для слюны, чем для крови, где наблюдалось до 85 % относительного стандартного отклонения (РСД) между репликами одной и той же экстракции [3].

В образцах неразбавленной крови только четыре деконтаминанта (RSDL, SkinNeutrAll, BX24 и Virkon) дали более двух репликантов с количественными результатами ниже 30 пг/мкл, что указывает на хорошее восстановление количества ДНК после обработки почти всеми деконтаминантами. В образцах разбавленной крови ДНК не была обнаружена ни в одном из репликатов BX24, Bleach и Virkon. В неразбавленных образцах слюны не была обнаружена ДНК ни в одном из шести репликатов отбеливателя и Virkon, а для BX24 и Vaprox наблюдались только очень низкие концентрации ДНК (от 0 до 14 пг/мкл). Для разбавленных образцов слюны, в дополнение к отбеливателю и Virkon, BX24 не давал восстанавливаемой ДНК, в то время

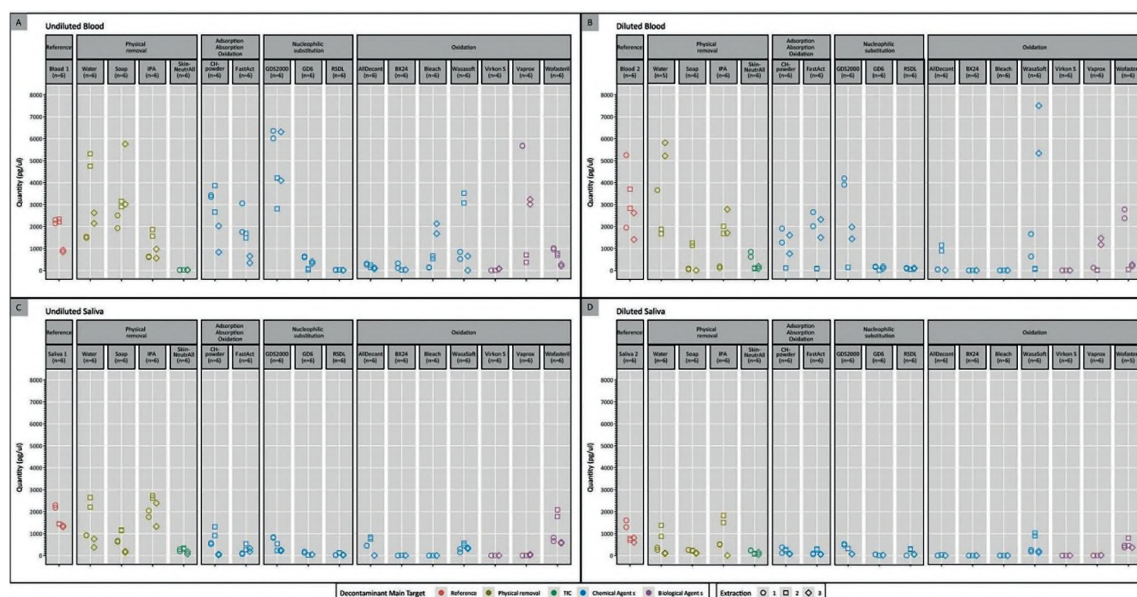


Рисунок 3 – Диаграмма рассеяния концентрации ДНК адаптирована авторами из работы I. Radgen-Morvant с соавт. [3]
Figure 3: DNA concentration scatter graph (the figure is adapted by the authors of this paper from I. Radgen-Morvant et al. [3])

как AlIdecont и Vaproх имели концентрации ДНК ниже 30 пг/мкл [3].

Кровь и слюна являются сложными жидкостями, и хотя кровь в целом содержит большое количество ДНК, ее состав также включает в себя различные белки и элементы, которые могут мешать в процессе экстракции и количественного определения, способствуя более высокой вариабельности количественных результатов ДНК. Предварительные тесты (результаты не показаны) также показали, что процесс экстракции может вызывать высокую вариабельность [11], как и субстрат, из которого извлекается ДНК. Первые тесты проводились с кровью, нанесенной на 100 % хлопчатобумажную ткань, как было протестировано Wilkinson с соавт. [33]. Тем не менее, эффективность экстракции была признана низкой, и поэтому в качестве альтернативы была использована марля. Это еще раз подчеркивает решающее влияние субстрата на успех в реальных случаях, как упоминают Sewell с соавт. [61].

Таким образом, наблюдаемая внутривариабельность может быть прослежена до первоначальных различий в количестве ДНК из образца на марле, процедуры экстракции и самого процесса количественного определения. Об этом свидетельствует внутривариабельность, наблюдаемая в эталонных образцах, которые не подвергались процессу обеззараживания, но все же демонстрируют значительную изменчивость. Тем не менее,

большое количество рекомбинантной ДНК было восстановлено. Продвижение по этой изменчивости имеет важное значение для того, чтобы определить, какие аспекты не могут быть отнесены к типичной изменчивости этих процессов.

Использовавшиеся швейцарскими учеными дегазирующие рецептуры, которые дали небольшое количество ДНК, особенно ценны для четкой интерпретации, поскольку они свидетельствуют о вредном воздействии дегазатора на восстановление ДНК, которое не может быть объяснено внутривыборочной вариацией или методом экстракции и количественной оценки ДНК. По количественным результатам всех четырех типов протестированных образцов Virkon оказал наиболее значительное негативное влияние, поскольку практически не была восстановлена ДНК ни для крови, ни для слюны. BX24 и Bleach проявили аналогичные свойства, поскольку из неразбавленной крови и слюны было восстановлено лишь минимальное количество ДНК, и не было восстановлен вообще генотип из разбавленных образцов. Для Vaproх относительно большое количество ДНК было восстановлено из неразбавленной крови, но количество было значительно ниже для разбавленной крови и образцов слюны. Изопропанол и WasaSoft/Chlorina и Vofasteril имели в целом высокие результаты количественного определения, но также имели высокую вариабельность в рамках различных

экстракций, что свидетельствует о влиянии на ДНК, хотя и менее выраженным и менее повторяемым образом.

Среди других обеззараживающих средств (т.е. мыла, GD6, RSDL, SkinNeutrAll и Alldecont) вариации и более низкие количественные значения ДНК позволяют предположить, что некоторые из них действительно разрушают или удаляют ДНК, хотя и не обязательно достаточно, чтобы установить четкую тенденцию. Вода, GDS2000, а также CNPowder и FastAct, по-видимому, не оказывали прямого влияния на количество доступного материала ДНК при нанесении на кровь.

Швейцарские ученые для дальнейшего изучения полученных результатов использовали значения DI, которые для образцов слюны в основном варьировались от 1 до 3, по сравнению с образцами крови, для которых большинство DI были ниже 1 (рисунок 4). Учитывая состав слюны с многочисленными ферментами, которые, как известно, разрушают ДНК, такой исход не является неожиданным [62].

Анализ результатов, полученных швейцарскими учеными-криминалистами. Образцы, которые показали высокие значения DI (>4), были образцами, продегазированными GD6, SkinNeutrAll, RSDL, Vaprox, Virkon и Vofasteril. Vaprox, Virkon и Vofasteril – это обеззараживающие средства, разработанные, в первую очередь, для эффективной борьбы с биологическими агентами и обычно используемые для борьбы с патогенами и дезинфекции поверхностей, но также находят применение и для деконтаминации токсичных химикатов, особенно – высокомолекулярных токсинов типа рицина⁴. Неудивительно, что они в отношении клеток человека воспроизводят такой же механизм дегазации, как и на микроорганизмы, что приводит к деградации ДНК. Использование дерева решений (рисунок 2) и пороговое значение DI, равное 4 (чтобы учесть возрастающую деградацию образцов слюны), только 49 из 384 количественных образцов имели значение DI выше 4. Большинство этих образцов были обеззаражены вофастерилом (рисунок 4).

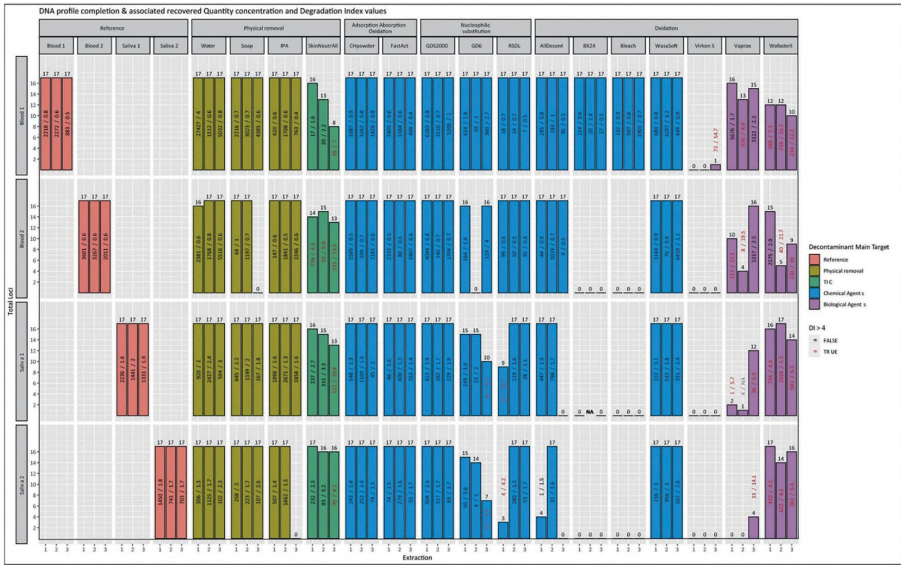


Рисунок 4 – Полное восстановление локусов и профиля. Среднее количественное определение и значения DI для каждого извлечения записаны в центре столбца. Извлечения, которые дали среднее значение DI выше 4, записываются красным цветом (рисунок адаптирован авторами из работы I. Radgen-Morvant с соавт. [3])

Figure 4: Full recovery for locuses and profile. Mean measurements and DI values for each extraction are written in the middle of the column. Extractions with mean DI > 4 are marked red (the figure is adapted by the authors of this paper from I. Radgen-Morvant et al. [3])

⁴ Arovet, Virkon S. 2022. URL: <https://www.arovet.ch/fr/produkte/virkon-s/> (дата обращения: 04.05.2025).
Kesla, Konzentrierte Peroxyessigsäure für die Desinfektion in Krankenhaus und Praxis – Wofasteril; 2016. URL: <https://www.kesla.de/produkte/wofasteril/> (дата обращения: 04.05.2025).
Steris / Vaprox Hydrogen Peroxide Sterilant | STERIS Life Sciences; 2022. URL: <https://www.sterislifesciences.com/products/equipment/vhp-sterilization-and-biodecontamination/vaprox-hydrogen-peroxide-sterilant> (дата обращения: 10.05.2025).

RSDL, GD6 и SKinNeutrAll примечательны тем, что, хотя различное количество ДНК могло быть восстановлено в образцах, продегазированных этими веществами, их DI предполагает, что произошла некоторая деградация ДНК, и в результате можно было ожидать частичных профилей. Применяя вышеупомянутые критерии решения S. Vernarecci с соавт. [50], профилирование STR после этих обеззараживающих веществ должно предусматривать только частичное восстановление профиля, что и было сделано. Объединив количество и индекс деградации ДНК и применив подход S. Vernarecci с соавт. [52], прогноз для полного, частичного или отсутствующего профиля совпал в 93 % случаев с полученными результатами профиля.

Для неразбавленной крови один де-контаминант (Virkon) не дал профиля, три (SkinNeutrAll, Vaprox и Vofasteril) дали частичные профили, в то время как 12 других дали полные профили ДНК (рисунок 4). Для разбавленных образцов крови наблюдались аналогичные тенденции, с двумя дополнительными дегазирующими веществами, BX24 и Bleach, что привело к отсутствию профиля ДНК. Второе извлечение неразбавленного образца слюны для BX24 привело к получению профиля с несколькими аллелями, которые не могли быть отнесены к донору. Интерпретация этого профиля была затруднена, и, чтобы избежать ложной интерпретации, он не рассматривался далее (помечен как NA на рисунке 4). Образцы, подвергшиеся воздействию GD6, привели к получению двух частичных профилей, хотя отсутствовал только один локус, а при одном извлечении профиль ДНК не был восстановлен. Для одного образца разбавленной крови, подвергшейся воздействию мыла, профиль не был восстановлен.

Для неразбавленной слюны 7 обеззараживающих веществ дали полные профили для всех трех удалений. CHN Powder, FastAct, GDS2000, WasaSoft/Clorina и вода обеспечили полное восстановление профиля как для неразбавленных, так и для разбавленных образцов слюны и в целом не показали никаких признаков деградации ДНК. BX24, Bleach и Virkon не дали никаких характеристик ни для неразбавленной, ни для разбавленной слюны. В то время как одна экстракция мылом не дала четкий профиль ДНК для неразбавленной крови, аналогичная ситуация имела место при одной экстракции разбавленной слюны под воздействием изопропанола, где не было восстановлено ДНК или профиль ДНК.

Аналогичные тенденции наблюдались между неразбавленными и разбавленными

образцами слюны. GD6, SkinNeutrAll и Vofasteril получили по три частичных профиля. RSDL позволил восстановить два полных профиля и один частичный профиль для обеих концентраций слюны. Alldecont получил два полных профиля, хотя одна экстракция не привела к профилю для неразбавленной слюны и только один полный профиль для разбавленной слюны. Использование Vaprox не приводило к восстановлению профиля для разбавленной слюны и позволяло только одно частичное восстановление профиля для неразбавленной слюны.

Исследование пораженных маркеров на предмет частичных профилей выявило симптоматический «эффект горнолыжного склона» на них. Что касается неразбавленной крови, то все три обеззараживающих вещества с частичными профилями (т.е. Vaprox, Vofasteril и SkinNeutrAll) продемонстрировали этот эффект, подчеркивая повреждение ДНК. Не препятствуя восстановлению полных профилей, «эффект горнолыжного склона» также наблюдался на электрофореграммах неразбавленных образцов крови, обеззараженных GD6.

Для разбавленной крови и образцов слюны указанный эффект снова был замечен для Vofasteril, Vaprox, GD6 и SkinNeutrAll в соответствии со значениями $DI \geq 4$, что привело к частичному восстановлению профиля, как и ожидалось при использовании подхода S. Vernarecci с соавт. [50].

В образцах слюны, подвергшихся воздействию RSDL, наблюдались дополнительные признаки «эффекта горнолыжного склона». При одном экстрагировании неразбавленной и разбавленной слюны, подвергшейся воздействию RSDL, наблюдалась сильная деградация, приводящая к частичному профилю для неразбавленного образца и отсутствию профиля для разбавленного.

Образцы, подвергшиеся воздействию Vaprox, продемонстрировали снижение восстановления профиля при уменьшении количества ДНК. В то время как из неразбавленных образцов крови были выделены три частичных профиля с разумным количеством локусов, из разбавленных образцов слюны не удалось получить никаких профилей. Alldecont и GD6 показали схожие с Vaprox тенденции к деградации. Все три экстракции дали полные профили неразбавленных образцов крови на оба обеззараживающих вещества. Однако для разбавленной слюны Alldecont допускал только одно полное восстановление профиля и два без профилей, в то время как GD6 приводил к частичным

профилям для всех трех экстракций. По мере того, как доступность генетического материала уменьшалась, шансы на восстановление профиля для этих трех обеззараживающих веществ уменьшались. Кроме того, доступная ДНК была более деградированной, о чем свидетельствуют более высокие случаи выпадения аллелей в более длинных ампликонах для этих деконтаминантов.

SkinNeutrAll и Wofasteril⁵, с другой стороны, имели схожие тенденции с достаточно высоким количеством ДНК, восстанавливаемой как в крови, так и в слюне, но с высокими значениями DI. Это привело к частичным профилям и визуальному уменьшению реакции на размер аллеля для маркеров более длинных ампликонов.

Итак, в контексте сценариев химических инцидентов, связанных с применением токсичных химикатов в нарушение КЗХО, эффективная сортировка доказательств имеет решающее значение для определения приоритетов ресурсов и оптимизации процесса криминалистических исследований для обеспечения расследования указанных инцидентов надежной доказательственной базой. Использование дегазирующих средств играет важную роль в этом процессе, направленном на быстрое и эффективное удаление отравляющих веществ для обеспечения безопасности людей, иногда не уделяя приоритетного внимания предметам, имеющим отношение к криминалистике. В нескольких исследованиях изучалось влияние деградированных или сложных образцов на способность выполнять последующее профилирование ДНК [6, 19, 22–24, 63–69]. Тенденции, наблюдаемые в ходе описанных в настоящей работе экспериментов, проведенных швейцарскими учеными, согласуются с существующими исследованиями [25–28, 33, 35], подчеркивая эффективность специфических дегазирующих средств в удалении ДНК. В частности, хлор и перекись водорода отрицательно влияют на профилирование ДНК, что согласуется с результатами исследования М. Nilsson с соавт. [28], который установил, что Virkon является наиболее эффективным средством уничтожения ДНК в следах на месте преступления. Различие между газообразной и жидкой формами в окислительных реакциях, особенно в отношении перекиси водорода, было описано М. Finnegan с соавт. [69].

Физические методы удаления, такие как вода, мыльная вода и изопропанол, в целом не препятствовали профилированию ДНК. Тем не менее, одна экстракция после воздействия мыла и одна экстракция после воздействия изопропанола не дали никакой ДНК. В реальных сценариях важно учитывать, что физическое действие средств по очистке часто включает в себя поток, который может привести к механическому удалению. Это потенциально может осложнить восстановление ДНК, хотя в анализируемом исследовании влияние оказалось минимальным. Время контакта этих обеззараживающих веществ также может играть ключевую роль, поскольку вода может вызывать реакции гидролиза на ДНК при длительном контакте.

SkinNeutrAll – это обеззараживающее средство, предназначенное для воздействия на различные токсичные промышленные химикаты (TIC) и может быть особенно актуально при тайном лабораторном обнаружении химических аварий⁶. Результаты показали вредное влияние на последующую типизацию STR с восстановлением в основном частичных профилей. Тем не менее, большинство из этих частичных профилей содержали достаточную информацию, чтобы их можно было использовать для целей сравнения. Хотя значения DI для GD6 и RSDL указывали на деградацию ДНК, в целом хорошие профили (полный или частичный профиль с высоким числом маркеров) могли быть восстановлены, и деградация все больше влияла на профилирование с уменьшением количества ДНК. Кроме того, GDS2000 никак не влиял на профилирование ДНК, независимо от количества. Точно так же порошки показали незначительное влияние на возможность профилирования ДНК.

Ограничением исследования может быть период времени, используемый для контакта с дегазирующими веществами. Прямое их воздействие на образцы крови и слюны было кратким в соответствии с указанным производителем временем эффективности (таблица 1). Тем не менее, после дегазации образцы высушивали в течение 24 часов, при этом остаточные дегазирующие вещества в это время все еще могли оказывать свое воздействие на образцы. Несмотря на то, что эти временные рамки относительно короткие,

⁵ Simplyforensic. The Impact of Water Exposure on Touch DNA Persistence. Simplyforensic; 2023.

⁶ European Commission. Final report summary - GIFT CBRN (generic integrated forensic toolbox for CBRN incidents) / FP7 / CORDIS Eur. Comm.; 2018. URL: <https://cordis.europa.eu/project/id/608100/reporting> (дата обращения: 04.05.2025).

EST biochem, Notfallsprays, EST Biochem GmbH (n.d.). URL: <https://www.est-biochem.com/shop> (дата обращения: 10.05.2025).

они являются вероятными в контексте химического инцидента, когда образцы ДНК считаются высокоприоритетными и быстро анализируются после сбора.

Проведенное швейцарскими учеными исследование позволило переоценить и показать что результаты количественной оценки сами по себе не являются надежным предиктором для полного восстановления профиля. В некоторых случаях было восстановлено небольшое количество ДНК, но были получены полные профили, и, наоборот, в других случаях было восстановлено большое количество ДНК, но получен только частичный профиль (рисунки 4). Таким образом, важно учитывать взаимосвязь между количеством ДНК и деградацией генома, чтобы оценить влияние конкретных ситуаций, в нашем случае процедур обезвреживания.

Сочетание значений количественного определения и индекса деградации, полученных с помощью наборов для количественного определения, проведения количественной оценки и количественного анализа ПЦР, может обеспечить стабильную оценку для реальных случаев, что позволяет проводить качественную сортировку в ситуациях с большим объемом образцов. Эта информация помогает в выборе оптимальных критериев для анализа STR-локусов, тем самым повышая вероятность успешного профилирования. В случаях деградации или малого количества ДНК можно предусмотреть индивидуализацию мишеней с помощью специализированной амплификации коротких STR или использования методов, альтернативных типированию STR ядерной ДНК. Кроме того, представленные швейцарскими криминалистами результаты свидетельствуют о том, что подход, предложенный S. Vernarecci с соавт. [50], использование порогового значения индекса деградации, равного 4, для набора количественной оценки Quantifiler Trio, является актуальным. Такой подход обеспечивает гибкость, позволяя использовать образцы, которые могут быть более деградированными, например, слюну.

Таким образом, из приведенного исследования, выполненного швейцарскими криминалистами, можно заключить, что дегазация с помощью окисления перекисью водорода, надуксусной кислотой или пероксимоносульфатом, как и использование хлорированных дегазирующих средств, обычно затрудняет последующее профилирование ДНК. С другой стороны, дегазирующие средства на органической основе или химические порошковые дегазирующие рецептуры вряд

ли будут препятствовать профилированию ДНК, и в случае их применения на месте химического инцидента есть хорошие шансы получить пригодные для использования профили для идентификации виновных в нем лиц.

Рекомендуемый алгоритм работы на месте химического инцидента, связанного с нарушением КЗХО. Исходя из приведенного анализа представленной зарубежными учеными-криминалистами информации, а также с учетом целей и задач расследования химического инцидента, связанного с применением токсичных химикатов в нарушение КЗХО, для одновременного обеспечения сохранности и возможности проведения полноценного экспертного исследования имеющейся на месте инцидента криминалистически значимой информации, локализации и эффективной ликвидации последствий инцидента, а также устранения угрозы для жизни и здоровья людей, животных и предотвращения дальнейшего загрязнения окружающей среды представляется целесообразным выполнять работы на месте инцидента в следующем порядке.

В первую очередь необходимо провести химическую разведку места инцидента, установить вид токсичного химиката, его концентрацию, степень химической зараженности местности, зданий, сооружений, предметов, а также степень угрозы для окружающей местности в случае, если мероприятия по дегазации не будут начаты незамедлительно. Если такая опасность будет оценена как значительная, в частности в случае применения свертотоксичных отравляющих веществ, обладающих одновременно достаточной и стойкостью, и летучестью, например, зомана, ви-икс или им подобных токсичных химикатов, то проведение дегазации необходимо начать немедленно, но с использованием только тех дегазирующих рецептур, которые не разрушают химическую структуру ДНК в следах биологического происхождения, которые могут быть оставленными на месте инцидента причастными к нему лицами. Опыт, полученный зарубежными учеными химиками-криминалистами, показал, что такие рецептуры существуют, например, в Швейцарии, а анализ их химической основы свидетельствует, что подобного рода свойствами могут обладать и рецептуры, которые уже имеются и на снабжении Вооруженных Сил Российской Федерации. Впрочем разработка таких рецептур может стать предметом отдельных научных исследований в системе Минобороны России с принятием по результатам на снабжение новых дегазирующих рецептур

с рассматриваемыми заданными целевыми свойствами.

Следующим этапом должно быть проведено тщательное обследование места инцидента на предмет выявления возможных следов лиц, причастных к его совершению. Особое внимание должно быть уделено выявлению следов, исследование которых может однозначно идентифицировать причастных к нему лиц, в первую очередь следов биологического происхождения, которые могут содержать ДНК-информацию. При выявлении данных следов следует, при наличии такой возможности, провести их предварительное исследование непосредственно на месте инцидента. При этом необходимо исключить полное израсходование вещества следа, так как в ходе непосредственно судебного следствия может потребоваться проведение повторных и уточняющих криминалистических экспертиз для подтверждения выводов исследований, проведенных на месте инцидента либо в лаборатории сразу после его локализации. Важно отметить, что образцы всех следов, в частности биологического происхождения – например, кровь и слюна – должны быть изъяты и упакованы для направления на дальнейшее исследование в лаборатории, в том числе аккредитованные в ОЗХО, в своем первоначальном виде, без обработки дегазирующими рецептурами, либо в крайнем случае обработаны только теми рецептурами, которые не разрушают вещество следа, особенно ДНК. В этой связи лаборатории, в которые будут направлены данные следы, должны иметь право (аккредитацию) на работу с объектами, подвергшимися заражению токсичными химикатами. Вместе с тем стоит обратить внимание на необходимость обеспечения проведения предварительного исследования биологических следов и генотипирования непосредственно на месте химического инцидента, что повысит оперативность его расследования в части установления причастных к нему, и особенно – виновных в нем лиц, для скорейшего их задержания и предания суду, а также принятия действенных мер международно-правового характера в случае, если данные лица действовали не в частном порядке, а как государственные служащие, выполнявшие преступные приказы своего руководства.

В распоряжении мобильных диагностических групп Минобороны России имеются мобильные комплексы ДНК-анализа на основе полимеразной цепной реакции, однако в настоящее время как они сами, так и использующие их специалисты в большей степени

«заточены» на выявление биологических поражающих агентов, а не генотипирование лиц, оставивших тот или иной биологический след. В этой связи целесообразно официально расширить функционал указанных групп, предусмотрев проведение ДНК-исследований в целях выделения из следов биологического происхождения генотипа оставившего данные следы лица, причастного к химическому инциденту, связанному с нарушением КЗХО. Это позволит проводить такие исследования непосредственно на месте химического инцидента, причем прямо во время его осмотра. Кроме того, аналогичным образом следует расширить функционал и химико-аналитической лаборатории 27 Научного центра имени академика Н.Д. Зелинского Министерства обороны Российской Федерации, аккредитованной в Организации по запрещению химического оружия, а также уведомить об этом официально данную Организацию. Это позволит проводить значительную часть комплекса криминалистических исследований и экспертиз, действительно необходимых для обеспечения расследований химических инцидентов, в одном научно-исследовательском учреждении.

До выявления, фиксации, изъятия и(или) проведения хотя бы предварительного исследования следов причастных к химическому инциденту лиц, мероприятия по специальной обработке на месте инцидента не проводятся. Однако все меры обеспечения безопасности персонала, привлекаемого к работе на месте химического инцидента по выявлению, протоколированию и исследованию обнаруженной криминалистически значимой информации, в первую очередь следов, в частности биологического происхождения, должны быть приняты и неукоснительно соблюдаться. Все сотрудники должны быть в соответствующих степени реальной опасности в средствах индивидуальной защиты, все оборудование должно быть пригодно к использованию по назначению в условиях химического заражения, а после проведения всех необходимых процедур подлежит дегазации вместе с использованной персоналом защитной одеждой. После завершения всех процедур, связанных с осмотром места химического инцидента, выявлением и исследованием следов, которые могут помочь установить виновных в нем лиц, следует провести специальную обработку места инцидента в порядке, предусмотренном соответствующими наставлениями и руководствами до полной ликвидации последствий инцидента.

Особо необходимо отметить, что все процедуры, связанные с выявлением, фиксацией, изъятием, а также исследованием оставленных на месте химического инцидента причастными к нему лицами следов должны осуществляться в строгом соответствии с действующим процессуальным законодательством. В противном случае результаты их исследования будут признаны недопустимыми доказательствами, полученными незаконным путем, и изъяты из доказательственной базы расследования химического инцидента, что не позволит привлечь к ответственности за данный инцидент даже реально виновных в нем лиц, а следовательно и применить меры международно-правового характера в отношении государств, чьими служащими эти лица являлись.

Стоит напомнить, что даже часть нацистских преступников, представших перед Нюрнберским международным военным трибуналом, была частично, а некоторые даже полностью оправданы за недоказанность вины, которая при этом казалась очевидной. Для недопущения ухода от ответственности лиц и государств, виновных в нарушении КЗХО, все мероприятия, связанные с расследованием химических инцидентов, должны осуществляться в строгом соответствии с законодательно установленными для уголовного судопроизводства процессуальными процедурами, к которым относится в том числе и проведение криминалистических исследований и экспертиз. Применение данного принципа гарантирует неотвратимость привлечения к ответственности виновных в нарушении Конвенции о запрещении химического оружия, что является необходимым для укрепления режима соблюдения международных обязательств в области химического разоружения.

Заключение

В результате проведенного анализа материалов зарубежных криминалистов изучена

возможность получения пригодных для криминалистической идентификации профилей ДНК из крови и слюны, подвергшихся воздействию различных применяемых за рубежом дегазирующих рецептур. Установлено, что дегазирующие рецептуры на основе хлора оказывают пагубное воздействие на профилирование ДНК, а на основе оксидов магния и титана, 2-аминоэтанола, диэтилентриамин, гипохлорита кальция – не влияли на профилирование ДНК. Предложен алгоритм работы на месте указанного химического инцидента, использование которого позволит достичь полноты и достоверности криминалистических исследований для обеспечения объективности расследования такого инцидента и неотвратимости привлечения к ответственности виновных в нем лиц, не снижая эффективности мер по локализации и ликвидации его последствий. Главным в данном алгоритме является то, что до выявления, фиксации, изъятия и(или) проведения хотя бы предварительного исследования следов причастных к химическому инциденту лиц, мероприятия по специальной обработке на месте инцидента не проводятся либо проводятся только с использованием тех дегазирующих рецептур, которые не оказывают воздействие на профилирование ДНК, выделенного из следов биологического происхождения, оставленных на месте инцидента.

Практическая значимость работы

Изложенные в статье результаты научных теоретических и экспериментальных исследований могут быть использованы в качестве типовой криминалистической методики при расследовании военных преступлений, связанных с нарушением Конвенции о запрещении химического оружия и сопряженных с применением отравляющих веществ или иных химических поражающих агентов, фактически используемых в качестве химического оружия.

Ограничения исследования / Limitations of the study

Данный аналитический обзор имеет ряд ограничений, а именно: 1) исследование основывается на анализе открытых источников, включая литературные источники, технические описания, инструкции по применению, открытую научную и публицистическую литературу; 2) анализа научной и публицистической литературы, технических описаний и инструкций по использованию проб крови и слюны, для получения из них ДНК, подвергшихся воздействию различных применяемых за рубежом дегазирующих рецептур, может не хватить для полной оценки результатов как для количественного определения ДНК, так и профилирования ДНК / This analytical review has a number of limitations, such as: (1) the study is based on the analysis of open sources, including academic sources, technical specifications, user manuals and available scientific publications and opinion pieces; (2) the analysis of scientific academic sources and publications, technical specifications and user manuals that describe how deal with blood and saliva samples to obtain the DNA that have

been exposed to foreign decontaminant agents may not cover all aspects needed for proper evaluation of both DNA quantitative measurement and DNA profiling.

Список источников / References

1. Kummer N, Metzger C. Investigations forensiques lors d'incidents atomiques, biologiques et chimiques en Suisse: Contexte et réflexions préliminaires. *Revue Internationale de Criminologie et de Police Technique et Scientifique*. 2019;484.
2. Kummer N, Augustyns B, Van Rompaey D, De Meulenaere K. Forensic investigation of incidents involving chemical threat agent: Presentation of the operating procedure developed in Belgium for a field-exercise. *Forensic Sci Int*. 2019;299:180-6.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.03.037>
3. Radgen-Morvant I, Curty C, Kummer N, Delémont O. Effects of chemical & biological warfare agent decontaminants on trace survival: Impact on DNA profiling from blood and saliva. *Forensic Sci Int*. 2024;364:112206.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2024.112206>
4. Baechler S. Study of criteria influencing the success rate of DNA swabs in operational conditions: a contribution to an evidence-based approach to crime scene investigation and triage. *Forensic Sci Int Genet*. 2016;20:130-9.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.10.009>
5. Van Oorschot RA, Ballantyne KN, Mitchell RJ. Forensic trace DNA: a review. *Investig Genet*. 2010;1:14.
<https://doi.org/10.1186/2041-2223-1-14>
6. Alaeddini R, Walsh SJ, Abbas A. Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA: A review. *Forensic Sci Int Genet*. 2010;4:148-57.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.09.007>
7. Poetsch M, Markwerth P, Konrad H, Bajanowski T, Helmus J. About the influence of environmental factors on the persistence of DNA: a long-term study. *Int J Legal Med*. 2022;136:687-93.
<https://doi.org/10.1007/s00414-022-02800-6>
8. Dash HR, Shrivastava P, Lorente JA, editors. *Handbook of DNA Profiling*. Singapore: Springer Singapore; 2022.
<https://doi.org/10.1007/978-981-16-4318-7>
9. Goodwin W, editor. *Forensic DNA Typing Protocols*. New York, NY: Springer New York; 2016.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3597-0>
10. Bukyya JL, Tejasvi MLA, Avinash A, Talwade P, Afroz MM, Pokala A, et al. DNA Profiling in Forensic Science: A Review. *Glob Med Genet*. 2021;8:135-43.
<https://doi.org/10.1055/s-0041-1728689>
11. Kanokwongnuwut P, Martin B, Taylor D, Kirkbride KP, Linacre A. How many cells are required for successful DNA profiling? *Forensic Sci Int Genet*. 2021;51:102453.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102453>
12. Bäumer C, Fisch E, Wedler H, Reinecke F, Korfhage C. Exploring DNA quality of single cells for genome analysis with simultaneous whole-genome amplification. *Sci Rep*. 2018;8:7476.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25895-7>
13. Schulze Johann K, Bauer H, Wiegand P, Pfeiffer H, Vennemann M. Detecting DNA damage in stored blood samples. *Forensic Sci Med Pathol*. 2022;19:50-9.
<https://doi.org/10.1007/s12024-022-00549-3>
14. Butler JM. *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. Amsterdam Heidelberg: Elsevier, Academic Press; 2012.
<https://doi.org/10.1016/C2011-0-04189-3>
15. Whiteman M, Hong HS, Jenner A, Halliwell B. Loss of oxidized and chlorinated bases in DNA treated with reactive oxygen species: implications for assessment of oxidative damage in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;296:883-9.
[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)02018-1](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)02018-1)
16. Dembinski GM, Picard CJ. Effects of microbial DNA on human DNA profiles generated using the PowerPlex® 16 HS system. *J Forensic Leg Med*. 2017;52:208-14.
<https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.09.010>
17. Abrams S, Reusse A, Ward A, Lacapra J. A simulated arson experiment and its effect on the recovery of DNA. *Can Soc Forensic Sci J*. 2008;41:53-60.
<https://doi.org/10.1080/00085030.2008.10757164>
18. Phetpeng S, Kitpipit T, Thanakiatkrai P. Systematic study for DNA recovery and profiling from common IED substrates: From laboratory to casework. *Forensic Sci Int Genet*. 2015;17:53-60.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.03.007>

19. Galijasevic AA. *DNA recovery potential in simulated fire debris evidence* [Master thesis]. Boston: University of Boston; 2022.
20. O'Hagan A, Calder R. DNA and fingerprint recovery from an arson scene. *Forensic Res Criminol Int J*. 2020;8:15-29.
<https://doi.org/10.15406/frcij.2020.08.00303>
21. Helmus J, Zorell S, Bajanowski T, Poetsch M. Persistence of DNA on clothes after exposure to water for different time periods – a study on bathtub, pond, and river. *Int J Legal Med*. 2018;132:99-106.
<https://doi.org/10.1007/s00414-017-1695-2>
22. Korzik ML, De Alcaraz-Fossoul J, Adamowicz MS, San Pietro D. Preliminary study: DNA transfer and persistence on non-porous surfaces submerged in spring water. *Genes*. 2023;14:1045.
<https://doi.org/10.3390/genes14051045>
23. Zupanič-Pajnič I, Marrubini G, Pogorelc BG, Zupanc T, Previderè C, Fattorini P. On the long term storage of forensic DNA in water. *Forensic Sci Int*. 2019;305:110031.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.110031>
24. Graham E, Adamowicz M. *Effects of different types of water on the degradation rate of human DNA in bone and tissue*. University of New Haven; 2015.
25. Bright J-A, Cockerton S, Harbison S, Russell A, Samson O, Stevenson K. The Effect of cleaning agents on the ability to obtain DNA profiles using the identifiler™ and PowerPlex® Y multiplex kits. *J Forensic Sci*. 2011;56:181-5.
<https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01564.x>
26. Harris KA, Thacker CR, Ballard D, Court DS. The effect of cleaning agents on the DNA analysis of blood stains deposited on different substrates. *Int Congr Ser*. 2006;1288:589-91.
<https://doi.org/10.1016/j.ics.2005.09.171>
27. Li VWH, Toogood H, Ryan S, Meakin GE. The effects of various household cleaning methods on DNA persistence on mugs and knives. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser*. 2019;7:277-8.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2019.09.109>
28. Nilsson M, De Maeyer H, Allen M. Evaluation of different cleaning strategies for removal of contaminating DNA molecules. *Genes*. 2022;13:162.
<https://doi.org/10.3390/genes13010162>
29. Thabet HZ, Ghandour NM, Salama RH. Effect of some cleaning products on blood DNA retrieval from cloth. *Egypt J Forensic Sci Appl Toxicol*. 2018;18:53-66.
<https://doi.org/10.21608/ejfsat.2018.16992>
30. Kemp BM, Smith DG. Use of bleach to eliminate contaminating DNA from the surface of bones and teeth. *Forensic Sci Int*. 2005;154:53-61.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.11.017>
31. Tuccinardi A. *Investigating the Efficacy of DNA Damage with Bleach in Forensic Laboratories and at Crime Scenes* [Honors thesis]. New Haven: University of New Haven; 2020.
32. Fréreau CJ, Dalpé C. Simulated radioactive decontamination of biological samples using a portable DNA extraction instrument for rapid DNA profiling. *Forensic Sci Int*. 2016;259:161-78.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.12.026>
33. Wilkinson D, Holowachuk S, Corbett C, Antonation K, Rostek L, Wotherspoon A, et al. Effect of decontamination agents following biological contamination on fingerprints, footwear, documents and DNA. *Can Soc Forensic Sci J*. 2020;53:173-209.
<https://doi.org/10.1080/00085030.2020.1834753>
34. Hoile R, Banos C, Colella M, Walsh SJ, Roux C. Gamma irradiation as a biological decontaminant and its effect on common fingerprint detection techniques and DNA profiling. *J Forensic Sci*. 2010;55:171-7.
<https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01233.x>
35. Wilkinson DA, Sweet D, Fairley D. Recovery of DNA from exhibits contaminated with chemical warfare agents: a preliminary study of the effect of decontamination agents and chemical warfare agents on DNA. *Can Soc Forensic Sci J*. 2007;40:15-22.
<https://doi.org/10.1080/00085030.2007.10757148>
36. Timbers J, Wilkinson D, Hause CC, Smith ML, Zaidi MA, Laframboise D, et al. Elimination of bioweapons agents from forensic samples during extraction of human DNA. *J Forensic Sci*. 2014;59:1530-40.
<https://doi.org/10.1111/1556-4029.12561>
37. Wilkinson D, Hulst AG, De Reuver LPJ, Van Krimpen SH, Van Baar BML. The fate of the chemical warfare agent during DNA extraction. *J Forensic Sci*. 2007;52:1272-83.
<https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2007.00569.x>
38. Boone CM. *Present state of CBRN decontamination methodologies*. 2007.

39. Shaw K, Sesardić I, Bristol N, Ames C, Dagnall K, Ellis C, et al. Comparison of the effects of sterilisation techniques on subsequent DNA profiling. *Int J Legal Med.* 2008;122:29-33.
<https://doi.org/10.1007/s00414-007-0159-5>
40. Monson KL, Ali S, Brandhagen MD, Duff MC, Fisher CL, Lowe KK, et al. Potential effects of ionizing radiation on the evidentiary value of DNA, latent fingerprints, hair, and fibers: a comprehensive review and new results. *Forensic Sci Int.* 2018;284:204-18.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.01.012>
41. Comte J, Baechler S, Gervais J, Lock E, Milon M-P, Delémont O, et al. Touch DNA collection – performance of four different swabs. *Forensic Sci Int Genet.* 2019;43:102113.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.06.014>
42. Socratous E, Graham EAM. DNA reviews: DNA identification following CBRN incidents. *Forensic Sci Med Pathol.* 2008;4:255-8.
<https://doi.org/10.1007/s12024-008-9066-4>
43. Khare P, Raj V, Chandra S, Agarwal S. Quantitative and qualitative assessment of DNA extracted from saliva for its use in forensic identification. *J Forensic Dent Sci.* 2014;6:81.
<https://doi.org/10.4103/0975-1475.132529>
44. Ramsey M. *Persistence of touch DNA for forensic analysis.* National Institute of Justice; 2022.
45. Durdiaková J, Kamodyová N, Ostatníková D, Vlková B, Celec P. Comparison of different collection procedures and two methods for DNA isolation from saliva. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50.
<https://doi.org/10.1515/cclm.2011.814>
46. Karched M, Bhardwaj RG, Pauline EM, George S, Asikainen S. Effect of preparation method and storage period on the stability of saliva DNA. *Arch Oral Biol.* 2017;81:21-5.
<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.04.011>
47. Samie L, Champod C, Glutz V, Garcia M, Castella V, Taroni F. The efficiency of DNA extraction kit and the efficiency of recovery techniques to release DNA using flow cytometry. *Sci Justice.* 2019;59:405-10.
<https://doi.org/10.1016/j.scijus.2019.02.003>
48. Qiagen. QIAamp® DNA Mini and Blood Mini. Handbook. 2025.
49. Holmes AS, Houston R, Elwick K, Gangitano D, Hughes-Stamm S. Evaluation of four commercial quantitative real-time PCR kits with inhibited and degraded samples. *Int J Legal Med.* 2018;132:691-701.
<https://doi.org/10.1007/s00414-017-1745-9>
50. Vernarecci S, Ottaviani E, Agostino A, Mei E, Calandro L, Montagna P. Quantifiler® Trio Kit and forensic samples management: A matter of degradation. *Forensic Sci Int Genet.* 2015;16:77-85.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.12.005>
51. Butler JM. STR Profiles. In: Butler JM, editor. *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation.* Elsevier; 2015. p. 109-27.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405213-0.00005-1>
52. Gwozdzinski K, Pieniazek A, Gwozdzinski L. Reactive oxygen species and their involvement in red blood cell damage in chronic kidney disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:6639199.
<https://doi.org/10.1155/2021/6639199>
53. Urakov A, Urakova N, Nikolenko V, Belkharoeva R, Achkasov E, Kochurova E, et al. Current and emerging methods for treatment of hemoglobin related cutaneous discoloration: a literature review. *Heliyon.* 2021;7:e05954.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05954>
54. Castelló A, Francés F, Verdú F. DNA Evidence Uncompromised by Active Oxygen. *Sci World J.* 2010;10:387-92.
<https://doi.org/10.1100/tsw.2010.47>
55. Edler C, Krebs O, Gehl A, Palatzke K, Tiedemann N, Schröder AS, et al. The effect of bleaching agents on the DNA analysis of bloodstains on different floor coverings. *Int J Legal Med.* 2020;134:921-7.
<https://doi.org/10.1007/s00414-020-02250-y>
56. Bragg SA, Armstrong KC, Xue Z-L. Pretreatment of whole blood using hydrogen peroxide and UV irradiation. Design of the advanced oxidation process. *Talanta.* 2012;97:118-23.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.04.004>
57. White DC, Teasdale PR. The oxygenation of blood by hydrogen peroxide: in vitro studies. *Br J Anaesth.* 1966;38:339-44.
<https://doi.org/10.1093/bja/38.5.339>
58. Rynkowska A, Stępnik J, Karbownik-Lewińska M. Fenton reaction-induced oxidative damage to membrane lipids and protective effects of 17β-estradiol in porcine ovary and thyroid homogenates. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17:6841.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17186841>

59. Sadrzadeh SM, Graf E, Panter SS, Hallaway PE, Eaton JW. Hemoglobin. A biologic fenton reagent. *J Biol Chem*. 1984;259:14354-6.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)42604-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)42604-4)
60. Marrone A, Ballantyne J. Changes in dry state hemoglobin over time do not increase the potential for oxidative DNA damage in dried blood. *PLoS ONE*. 2009;4:e5110.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005110>
61. Sewell J, Quinones I, Ames C, Multaney B, Curtis S, Seeboruth H, et al. Recovery of DNA and fingerprints from touched documents. *Forensic Sci Int Genet*. 2008;2:281-5.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2008.03.006>
62. Finnis J, Murphy C, Davidson G, Alexander K, Lewis J, Boyce M, et al. Enzyme activity, DNA degradation and drying times of semen, saliva and vaginal material. *Sci Justice*. 2023;63:663-70.
<https://doi.org/10.1016/j.scijus.2023.09.001>
63. Bannick K. *Mechanisms to Combat DNA Degradation* [Honors project]. Bowling Green: Bowling Green State University; 2021.
64. Butler JM. Low-Level DNA and Complex Mixtures. In: Butler JM, editor. *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation*. Elsevier; 2015. p. 159-82.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405213-0.00007-5>
65. Hughes-Stamm SR, Ashton KJ, Van Daal A. Assessment of DNA degradation and the genotyping success of highly degraded samples. *Int J Legal Med*. 2011;125:341-8.
<https://doi.org/10.1007/s00414-010-0455-3>
66. Gouveia N, Brito P, Bogas V, Serra A, Bento AM, Lopes V, et al. The effect of different levels of degradation and DNA concentrations on the quality of genetic profiles. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser*. 2017;6:e428-e9.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2017.09.151>
67. McCord B, Opel K, Funes M, Zoppis S, Jantz LM. *An Investigation of the Effect of DNA Degradation and Inhibition on PCR Amplification of Single Source and Mixed Forensic Samples*. U.S. Department of Justice; 2011.
68. Elwick K, Gauthier Q, Rink S, Cropper E, Kavlick MF. Recovery of DNA from fired and unfired cartridge casings: comparison of two DNA collection methods. *Forensic Sci Int Genet*. 2022;59:102726.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2022.102726>
69. Finnegan M, Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C, Maillard J-Y. Mode of action of hydrogen peroxide and other oxidizing agents: differences between liquid and gas forms. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:2108-15.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkq308>

Вклад авторов / Authors' contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **В.В. Завьялов** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи; **А.А. Завьялова** – сбор и научный анализ данных литературы по проблематике статьи, переработка текста рукописи; **Н.В. Завьялова** – научный анализ и редактирование текста рукописи; **В.А. Ковтун** – научный анализ текста рукописи, окончательное утверждение концепции статьи и текста рукописи; **М.П. Шаройко** – критический анализ и корректура концепции рукописи. / All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contributions are as follows: **V.V. Zavyalov** has formulated the concept of the study, has written the text of the article; **A.A. Zavyalova** has collected and analyzed the scientific data on the topic, has revised the text; **N.V. Zavyalova** has analyzed and edited the text of the article; **V.A. Kovtun** has analyzed the text of the article, has approved a final version of the article for publication; **M.P. Sharoyko** has made amendments to the concept of the article and has analyzed the text of the article, has made a critical review of the text.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе. / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации, 111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19.

Завьялов Василий Владимирович. Старший научный сотрудник, канд. хим. наук.

Завьялов В.В., Завьялова А.А., Завьялова Н.В., Ковтун В.А., Шаройко М.П.
Zavyalov V.V., Zavyalova A.A., Zavyalova N.V., Kovtun V.A., Sharoyko M.P.

Завьялова Наталья Васильевна. Главный научный сотрудник, профессор, д-р биол. наук.
Шаройко Максим Петрович. Заместитель начальника Центра, канд. техн. наук.
Ковтун Виктор Александрович. Начальник Центра, доцент, канд. хим. наук.

Федеральное государственное казенное образовательное учреждение высшего образования «Московский университет Министерства внутренних дел Российской Федерации имени В.Я. Кикотя», 117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Волгина, д. 12.

Завьялова Анна Александровна. Доцент, канд. хим. наук.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_l@mil.ru

Контактное лицо: Завьялов Василий Владимирович; 27 nc_l@mil.ru

27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of Russian Federation, Entuziastov Proezd, 19, Moscow 111024, Russian Federation.

Vasily V. Zavyalov. Senior Researcher. Cand. Sci. (Chem.).

Maxim P. Sharoyko. Deputy Head of the Centre. Cand. Sci. (Techn.).

Natalya V. Zavyalova. Leading Researcher. Dr. Sci. (Biol.), Professor.

Victor A. Kovtun. Head of the Centre. Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor.

Moscow University of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation Named after V.Ya. Kikot, Akademika Volgina str., 12, Moscow 117997, Russian Federation.

Anna A. Zavyalova. Docent. Cand. Sci. (Chem.).

Contact information for all authors: 27 nc_l@mil.ru

Contact person: Vasily V. Zavyalov; 27nc_l@mil.ru



Структурная идентификация и сравнительная оценка содержания метаболитов инкапаситанта ВЗ в моче и плазме крови крыс

И.И. Коваленко, А.С. Ярлыченко, Я.В. Ставитская, Н.А. Колосова,
И.В. Рыбальченко, А.М. Григорьев✉

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика
Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации,
111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
✉ e-mail: 27nc_1@mil.ru

Основные моменты

- в зоне специальной военной операции отмечается применение украинскими вооруженными и террористическими формированиями нелетальных отравляющих веществ, что является нарушением Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении (КЗХО);

- разработан хромато-масс-спектрометрический способ, позволяющий установить факт отравления ВЗ и его аналогами по их метаболитам в моче и плазме крови.

Актуальность. Начиная с 2022 г., в зоне СВО дважды фиксировались случаи обнаружения вещества ЕА-3167, структурного и функционального аналога инкапаситанта ВЗ, включенного в Список 2 КЗХО. Отмечены случаи отравления российских военнослужащих. Несмотря на давнее открытие самого ВЗ, сведения о его метаболизме и возможных маркерах отравления, опубликованные в открытых источниках, крайне неполны и недостаточны.

Цель работы – обнаружение и структурная идентификация метаболитов ВЗ в моче и плазме крови крыс; оценка относительного содержания ВЗ и его метаболитов.

Материалы и методы. Жидкостная и газовая хроматография-масс-спектрометрия высокого разрешения. Оценка относительного содержания метаболитов ВЗ проводилась исходя из величин интенсивностей (площадей) пиков метаболитов в условиях жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии высокого разрешения. Определялись характеристики метаболитов, характерных для отравления ВЗ.

Результаты. В моче и плазме крови крыс предположительно идентифицировали более 40 метаболитов ВЗ, образованных в результате окислительных и (частично) гидролитических модификаций исходной молекулы. Структуры окисленных метаболитов фазы I содержали до четырех дополнительных атомов кислорода, входящих в состав гидроксильных групп на фенильных остатках и N-оксида. Метаболиты фазы I подвержены интенсивному конъюгированию с образованием О-метильных и глюкуронидированных форм, а также их комбинаций. Было найдено, что содержание ряда метаболитов в моче (в том числе глюкуронида дигидроксильированного метилированного метаболита) увеличивалось вплоть до 24 ч после экспонирования. Неизменный ВЗ присутствовал в моче крыс лишь в небольших концентрациях.

Выводы. Для подтверждения отравления ВЗ методом хроматографии-масс-спектрометрии наиболее удобны моногидроксильированные, N-окисленные и дигидроксильированные метилированные формы. При значительном времени после отравления рекомендуется обнаружение глюкуронидов моногидроксильированных и дигидроксильированных метилированных метаболитов.

Практическая значимость работы. Разработанный подход позволяет объективно подтверждать факт отравления инкапаситантом ВЗ и его аналогами по стабильным метаболитам в биосредах. Результаты работы имеют важное прикладное значение для химико-аналитического обеспечения контроля за соблюдением КЗХО и судебно-медицинской экспертизы.

Ключевые слова: ВЗ; ЕА-3167; газовая хроматомасс-спектрометрия; жидкостная хромато-масс-спектрометрия; инкапаситанты; метаболиты; крысы; специальная военная операция; точные массы

Для цитирования: Коваленко И.И., Ярлыченко А.С., Ставитская Я.В., Колосова Н.А., Рыбальченко И.В., Григорьев А.М. Структурная идентификация и сравнительная оценка содержания метаболитов инкапаситанта ВЗ в моче и плазме крови крыс. Вестник войск РХБ защиты. 2025;9(4):345–369. EDN:mingwu.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-345-369>

© И.И. Коваленко, А.С. Ярлыченко, Я.В. Ставитская, Н.А. Колосова, И.В. Рыбальченко, А.М. Григорьев, 2025

Коваленко И.И., Ярлыченко А.С., Ставитская Я.В., Колосова Н.А., Рыбальченко И.В., Григорьев А.М.
Kovalenko I.I., Iarlychenko A.C., Stavitskaya Y.V., Kolosova N.A., Rybalchenko I.V., Grigoryev A.M.

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: И.В. Рыбальченко является членом редколлегии журнала (с 2017 г.). А.М. Григорьев является членом редколлегии журнала (с 2024 г.). Это не повлияло на процесс рецензирования и окончательное решение.

Использование искусственного интеллекта: авторы не использовали.

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ).

Поступила 10.10.2025 г. После доработки 16.11.2025 г. Принята к публикации 27.12.2025 г.

Structural identification and comparative assessment of the content of BZ incapacitant metabolite in rat urine and blood plasma

Irina I. Kovalenko, Aleksey S. Iarlychenko, Jana V. Stavitskaya, Nataliya A. Kolosova, Igor V. Rybalchenko, Andrej M. Grigoryev✉

27 Scientific Center Named after Academician N.D. Zelinsky
of the Ministry of Defence of Russian Federation
Entuziastov Proezd, 19, Moscow 111024, Russian Federation
✉ e-mail: 27nc_1@mil.ru

Highlights

- use of non-lethal chemical agents by Ukrainian armed and terrorist formations has been documented in the Special Military Operation zone, constituting a violation of the Chemical Weapons Convention;
- a chromatographic-mass spectrometric method has been developed to confirm exposure to BZ and its analogs through identification of their metabolites in urine and blood plasma.

Relevance. Since 2022, two instances of EA-3167 detection have been recorded in the SMO zone - a structural and functional analog of the incapacitating agent BZ listed in Schedule 2 of the CWC. Cases of intoxication among Russian military personnel have been reported. Despite BZ being known for decades, information about its metabolism and potential exposure markers in open sources remains extremely limited and insufficient.

Purpose of the study is to detect and structurally identify BZ metabolites in rat urine and blood plasma; to assess the relative content of BZ and its metabolites.

Materials and Methods. High-resolution liquid and gas chromatography-mass spectrometry. Evaluation of relative metabolite content was based on peak intensity (area) measurements under HPLC-HRMS conditions. Characteristics of metabolites specific to BZ exposure were determined.

Results. Over 40 BZ metabolites formed through oxidative and (partially) hydrolytic modifications.

Conclusion. For of the parent molecule were tentatively identified in rat urine and plasma. Structures of Phase I oxidized metabolites contained up to four additional oxygen atoms incorporated as hydroxyl groups on phenyl residues and N-oxide. Phase I metabolites undergo intensive conjugation forming O-methylated and glucuronidated forms, and their combinations. Levels of several metabolites in urine (including glucuronide of dihydroxylated methylated metabolite) increased up to 24 hours post-exposure. Unchanged BZ was present in rat urine only in minor concentrations. forensic confirmation of BZ exposure using chromatography-mass spectrometry, monohydroxylated, N-oxidized, and dihydroxylated methylated forms are most suitable. When significant time has passed after exposure, detection of glucuronides of monohydroxylated and dihydroxylated methylated metabolites is recommended.

Practical significance of the work. The developed approach allows for the objective confirmation of poisoning by the incapacitating agent BZ and its analogues through the detection of stable metabolites in biological samples. The results are of high practical importance for chemical-analytical support in monitoring compliance with the Chemical Weapons Convention and for forensic medical examination.

Структурная идентификация и сравнительная оценка содержания метаболитов инкапаситанта BZ в моче...
Structural identification and comparative assessment of the content of BZ incapacitant metabolite in rat urine...

Keywords: accurate masses; BZ; EA-3167; gas chromatography-mass spectrometry; incapacitant; liquid chromatography-mass spectrometry; metabolites; rat

For citation: Kovalenko I.I., Iarlychenko A.C., Stavitskaya Y.V., Kolosova N.A., Rybalchenko I.V., Grigoryev A.M. Structural identification and comparative assessment of the content of BZ incapacitant metabolites in rat urine and blood plasma. *Journal of NBC Protection Corps*. 2025;9(4):345–369. EDN: mingwu. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-345-369>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: I.V. Rybalchenko has been a member of the Journal Editorial Board (since 2017). A.M. Grigoryev has been a member of the Journal Editorial Board (since 2024). These facts have not affected review process and final decision.

AI use: The authors did not use artificial intelligence.

Funding: 27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Received October 10, 2025. Revised November 16, 2025. Accepted December 27, 2025.

В последние годы в ходе локальных конфликтов воюющими сторонами предпринимаются попытки обхода строгих ограничений, установленных Конвенцией о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении (КЗХО)¹. При этом наблюдается повышение интереса среди криминальных и террористических кругов к нелетальным отравляющим веществам (ОВ). В частности, к ним относятся ОВ психохимического действия, воздействующие на определенные биохимические процессы, связанные с функционированием периферической и центральной нервной системы человека.

Одним из таких веществ является 3-хинуклидинил бензилат (BZ, QNB), синтезированный в 50-годах прошлого века фармацевтической компанией Hoffman-La Roche в качестве возможного спазмолитического средства, рисунок 1. Впоследствии в 1960-х гг. это вещество было принято на вооружении армии США в качестве ОВ психохимического действия под шифром BZ [1]. По терминологии КЗХО вещество BZ относится к инкапаситантам (incapacitants, «выводящие из строя») и включено в Список 2 приложения по химикатам к тексту Конвенции².

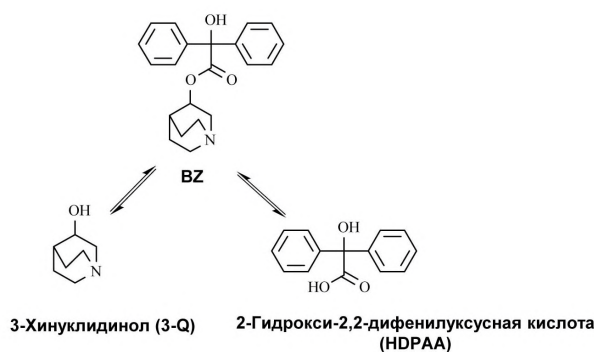


Рисунок 1 – Структурные формулы BZ и продуктов его гидролиза [3]

Figure 1: The structural formulas of BZ and its hydrolysis products [3]

Токсическое действие BZ обусловлено блокированием процесса связывания ацетилхолина с мускариновыми холинэргическими рецепторами³ (константа ассоциации КА для BZ составляет $5,28 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ [2], что более, чем в 30 раз превышает константу ассоциации для атропина). BZ – антагонист мускариновых рецепторов, а симптомы отравления включают сухость во рту, тахикардию, спутанность

¹ OPCW. Annex of Chemicals. Schedule 2. URL: <https://www.opcw.org/chemical-weapons-convention/annexes/annex-chemicals/schedule-2> (дата обращения: 12.08.2025).

² OPCW. Annex of Chemicals. Schedule 2. URL: <https://www.opcw.org/chemical-weapons-convention/annexes/annex-chemicals/schedule-2> (дата обращения: 12.08.2025).

³ National Research Council (US) Panel on Anticholinesterase Chemicals; National Research Council (US) Panel on Anticholinergic Chemicals. Possible Long-Term Health Effects of Short-Term Exposure to Chemical Agents: Vol. 1. Anticholinesterases and Anticholinergics. Washington (DC): National Academies Press (US); 1982. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK217774/> (дата обращения: 18.09.2025).

сознания, потерю ориентации, гиперактивное дезорганизованное поведение, бессвязную речь, галлюцинации [1, 3]. В зависимости от дозы отдельные признаки поражения сохраняются до нескольких суток. Исследование действия ВЗ на человека с использованием добровольцев осуществлялось в армии США в период 1955–1975 гг. [4].

ВЗ вызывает поражение при ингаляционном, пероральном и венозно-артериальном поступлении в организм. Выводящая из строя доза при вдыхании аэрозоля (IC_{50}) составляет 60,1 мг·мин/м³⁴. Поведенческая и когнитивная дисфункция наблюдается при пероральном введении 3–7 мкг/кг, при этом рассчитанная для человека LD_{50} составляет ~5 мг/кг [3].

Реальная опасность применения ВЗ в боевых условиях привела к приятию на снабжение Советской армии в 1973 г. индикаторной трубки ИТ-46 для определения аэрозоля ВЗ в воздухе, в рецептуре которой использовалась цветная реакция на третичный азот с реактивом Драгендорфа⁵.

Высокая аффинность к мускариновым холинэргическим рецепторам характерна и для структурных аналогов ВЗ [5, 6], что привело к использованию этих соединений в *nesterases* and *Anticholinergics*. Washington (DC): National Academies Press (US); 1982. URL: веществом EA-3167, являющемся функциональным и структурным аналогом ВЗ [11, 12], а в 2023 г. у диверсантов ВСУ были изъяты ампулы, содержащие это вещество⁶.

В солевой форме ВЗ заметно растворим в воде, хотя растворимость зависит от вида противоиона. Как сложный эфир, ВЗ подвержен гидролизу в водной среде. В кислых растворах (до pH~5) ВЗ весьма стабилен (период полураспада более 10000 ч), но при снижении кислотности скорость гидролиза быстро возрастает, и в физиологических условиях (37 °C, pH 7,4) эта величина примерно равна 95 ч [3]. Описанные свойства ВЗ и характер продуктов его гидролиза – 3-хинуклидинола (3-Q) и 2-гидрокси-2,2-дифенилуксусной кислоты (NDPAA) определяли стратегию анализа с целью выявления применения ВЗ и/или определения его содержания в техно-

генных объектах и в объектах окружающей среды. В ранних работах [13, 14] применяли метод ГХ-МС, который требовал проведения дериватизации, обычно заключавшейся в триметилсилилировании (TMS). В недавних работах [15, 16] было описано применение новых дериватирующих агентов для определения 3-Q и NDPAA. Почти одновременно с публикацией работ по ГХ-МС ВЗ и продуктов его гидролиза появились сообщения, предлагающие применение метода ЖХ-МС [17, 18]. Все перечисленные публикации фокусировались на оптимизации методов подготовки проб и условий инструментального анализа трех известных и хорошо охарактеризованных соединений, определяемых в небиогенных средах.

Значительно сложнее выглядит задача, требующая диагностического подтверждения отравления ВЗ и/или его аналогами, включающая обнаружение как самого неизмененного соединения, так и возможных его маркеров в биологических объектах – в первую очередь, в моче и крови. В конце прошлого века, ввиду недостаточной разработанности и малой доступности ЖХ-МС ее решали методом ГХ-МС [19–21]. Тогда же было отмечено, что ВЗ подвержен интенсивному метаболизму и его содержание в моче очень мало, но среди определяемых метаболитов были названы только продукты гидролиза и, возможно, глюкуронид ВЗ. Поиск остальных возможных метаболитов был затруднен ограничениями метода ГХ-МС.

Согласно нашим данным, на протяжении длительного времени после публикации работ [19–21] (около 30 лет) в доступных источниках не было сделано никаких публикаций по детальному исследованию метаболизма ВЗ с применением метода ЖХ-МС. Эта ситуация приводила к ошибочному мнению об ограниченности списка метаболитов только двумя-тремя соединениями. Лишь недавно (2020 г.) была опубликовано сообщение о гораздо более тщательном исследовании метаболизма ВЗ для крыс и *in vitro* [22]. Авторы привели список ряда мочевых метаболитов фазы I, имеющих гидролизную и окислительную природу и метаболитов фазы II –

⁴ National Research Council. 2013. *Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals: Vol. 14*. Washington (DC): National Academies Press (US); 1982. URL: <https://doi.org/10.17226/18313> (дата обращения: 05.09.2025).

⁵ Сизиков СН, ред., Смирнов АО, Щеглов ОФ, Рыбальченко ИВ и др. *Индикация, технические средства химической, неспецифической биологической разведки и химического контроля*. Учебное пособие. ВА РХБЗ, Кострома; 2009. 491 с.

Sizikov SN, Ed, Smirnov AO, Shcheglov OF, Rybalchenko IV, et al. *Indication, technical means of chemical, non-specific biological exploration and chemical control*. Training manual. NBC Protection Corps, Kostroma; 2009. 491 p.

⁶ URL: https://vk.com/video-147097724_456242348 (дата обращения: 12.08.2025).

продуктов глюкуронидирования и метилирования. К сожалению, этот список не содержал данных, касающихся наблюдаемого содержания (площадей пиков) найденных метаболитов, что не позволяет сделать правильный выбор биомаркеров ВЗ и оптимизировать условия анализа. Поскольку работа [22] основана на применении ЖХ-МС, то она не содержит никакой информации о ГХ-МС характеристиках метаболитов ВЗ, которая необходима при учете сравнительной простоты и дешевизны этого метода.

Вообще, следует отметить несомненный интерес, проявляемый исследователями в отношении ВЗ в недавнее время: кроме исследования мочевого метаболизма, та же группа представила работы по определению ВЗ в плазме крови крыс и исследованию токсикокинетики [23, 24].

Цель работы – обнаружение и структурная идентификация метаболитов ВЗ в моче и плазме крови крыс, а также оценка относительного содержания метаболитов ВЗ.

Для достижения данной цели:

- проведена оценка относительного содержания метаболитов ВЗ, включая степень глюкуронидирования исходя из величин интенсивностей (площадей) пиков метаболитов в условиях ЖХ-МС высокого разрешения (ЖХ-МСВР);

- определены ГХ-МС характеристики некоторых метаболитов ВЗ и предложены способы подготовки проб при анализе мочи.

Материалы и методы

Реактивы и материалы. В работе пользовались ацетонитрилом (для ВЭЖХ, Scharlab, S.L., Испания), формиатом аммония и му-

равьиной кислотой (для ВЭЖХ, Sigma-Aldrich, Германия), бис(триметилсилил) трифторацетамид с добавкой триметилхлорсилана (BSTFA + 1% TMCS, ООО «Хевел Технолоджи», Россия). Деионизированную воду (18,2 МОм) получали с помощью системы очистки Milli-Q Advantage A10 (Merck, Германия). Патроны для твердофазной экстракции были марки ISOLUTE C18(EC), 100 мг × 1 мл (Biotage, Швеция). Все другие реагенты и растворители (квалификация не ниже х.ч.) были приобретены в Химмед (Россия).

Экспонирование крыс. В эксперименте использовали пять беспородных крыс-самцов с массой тела в диапазоне 269–343 г. За сутки до экспонирования животных переставали кормить при свободном доступе к воде. ВЗ вводили в виде раствора в диметилсульфоксиде; для получения холостых образцов использовали растворитель. Общая схема экспонирования и отбора приведена в таблице 1.

Кровь стабилизировали ЭДТА и центрифугировали для получения плазмы. До проведения анализа (не более недели) пробы хранили при 4 °С.

Условия содержания экспериментальных животных и проведения экспонирования соответствовали ГОСТ 33216-2014⁷.

Подготовка проб. Для ЖХ-МСВР к моче или плазме (100 мкл) добавляли холодный ацетонитрил (500 мкл), перемешивали и помещали в морозильную камеру (15 мин, –15 °С). Отбирали верхний слой жидкости (450 мкл), упаривали при температуре не выше 45 °С и сухой остаток растворяли в смеси ацетонитрила и воды (100 мкл, 1:9 об.).

Таблица 1 – Условия экспонирования крыс
Table 1. Conditions for the administration of BZ to rats

№ / No	Доза ВЗ, мг/кг / BZ dose, mg/kg	Концентрация, мг/мл / Concentration, mg/mL	Объект и время отбора (ч) / Object and time of sampling (h)			
			Моча / Urine			Кровь / Blood
Внутрижелудочное введение / Intragastric administration						
1	10	3	4	8	24	24
2	10	3	4	8	24	24
Внутривенное введение / Intravenous administration						
3	2	2	4	8	24	24
4	2	2	–	–	–	0,5
5	–	–	4	8	24	24

⁷ ГОСТ 33216–2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/62388/> (дата обращения: 10.01.2024).

Этот способ позволяет минимизировать искажение состава проб.

Для ГХ-МС мочу (600 мкл) подщелачивали водным аммиаком до pH 9–10 и экстрагировали этилацетатом (1 мл). Органическую фазу упаривали досуха и растворяли остаток в этилацетате (100 мкл) или дериватизировали. Дериватизацию проводили двумя способами. При триметилсилилировании (TMS) сухой остаток растворяли в смеси этилацетата и BSTFA+1% TMCS (100 мкл, 1:1 об.) с последующим нагреванием (60 °C, 20 мин). При ацетилировании раствор остатка в смеси уксусного ангидрида и пиридина (100 мкл, 1:1 об.) нагревали (70 °C, 20 мин), далее раствор упаривали досуха и остаток растворяли в этилацетате (100 мкл).

Твердофазную экстракцию проводили после очистки патрона (2 мл метанола) и кондиционирования (2 мл воды, подщелоченной водным аммиаком до pH 9–10). Пробу (0,6 мл мочи) загружали после подщелачивания до pH 9–10. Далее патрон промывали водой (pH 9–10), сушили под умеренным вакуумом (2 мин) и элюировали ацетоном (1 мл). Полученную смесь в ацетоне упаривали досуха и остаток обрабатывали так же, как и при жидкостной экстракции. Присутствие аналитов в смывах контролировали методом ЖХ-МСВР.

Жидкостная хроматография-масс-спектрометрия. Использовали жидкостной хроматограф Vanquish, связанный с масс-спектрометром высокого разрешения типа квадруполь-орбитальная ионная ловушка Orbitrap Exploris 480 (Thermo Scientific, США). Пробы разделяли на колонке Acclaim RSLC 120 C18 (100 мм×2,1 мм, 2,2 мкм, Thermo) двумя фазами А и Б в градиентном режиме согласно программе: начальные условия 1% Б, 0,4 мин (1% Б), 3,4 мин (21% Б), 7,4 мин (29% Б), 12,4 мин (64% Б), 14,4 мин (99% Б), 16,4 мин (99% Б), 16,5 мин (1% Б), 19 мин (1% Б). Обе фазы, А (1% об. ацетонитрила в воде) и Б (1% об. воды в ацетонитриле) содержали 5 мМ формиата аммония и 0,1% об. муравьиной кислоты. Скорость потока элюента была 0,5 мл/мин, температура колонки 40 °C, объем вводимой пробы 5 мкл.

Для гидрофильной хроматографии (HILIC) применяли колонку Acquity BEH Amide (150 мм×2,1 мм, 1,7 мкм, Waters, США) при элюировании теми же фазами согласно программе: начальные условия 95% Б, 0,4 мин (95% Б), 7,4 мин (50% Б), 8,4 мин (50% Б), 8,5 мин (95% Б), 13 мин (95% Б). Скорость потока была 0,4 мл/мин и остальные условия те же. Перед введением пробы мочи разводили ацетонитрилом в соотношении 1:99 об.

Масс-спектрометр работал в режиме нагрываемой электрораспылительной ионизации (ЭРИ) с источником OptaMax NG. Потоки азота в каналах завесочного (Sheath), дополнительного (Aux) и продувочного (Sweep) газа были 50, 10 и 1 усл. ед. соответственно; температуры распыления и трубки переноса ионов, 350 и 325 °C соответственно; напряжение при распылении в положительном и отрицательном режимах, 3500 и 2500 В соответственно. Азот также использовали для высокоэнергетичной диссоциации, индуцируемой соударением (HCD). Масс-спектрометрическое разрешение составляло 60000 и 15000 для режимов MS¹ и MS² соответственно.

Для оценки содержания метаболитов использовали площади пиков на хроматограммах точных масс протонированных (депротонированных) молекул. Следует отметить, что такая оценка не является строго количественной, но позволяет проводить ориентировочные сравнения содержания близких по структуре аналитов в идентичных условиях определения.

Газовая хроматография-масс-спектрометрия. Для анализа проб данным методом применяли две системы.

Первая состояла из газового хроматографа 8890, соединенного с моноквадрупольным масс-спектрометром 5977B (Agilent Technologies, США). Пробы разделяли на колонке HP-5ms UI (30 м×0,25 мм×0,25 мкм, Agilent) согласно температурной программе: 50 °C (1 мин), 100 °C (99°/мин, 1 мин), 300 °C (35°/мин, 12 мин). Скорость потока газ-носителя (гелий, постоянный поток) была 1 мл/мин, температура испарителя (режим ввода без деления потока) 270 °C, объем вводимой пробы 1 мкл. Масс-спектрометр работал в режиме электронной ионизации (ЭИ) с высокоэффективным ионным источником (HES, 70 эВ) при температурах источника и квадрупольа 230 и 150 °C соответственно. Эту систему использовали для общего поиска метаболитов.

Вторую систему применяли для подтверждения структурной идентификации. Она состояла из хроматографа Trace 1610, соединенного с масс-спектрометром Orbitrap Exploris GC 240 типа квадруполь-орбитальная ионная ловушка (Thermo). Пробы разделяли на колонке TR-5ms (30 м×0,25 мм×0,25 мкм, Thermo) при той же температурной программе, скорости потока газ-носителя и условиями ввода проб. Масс-спектрометр был настроен на режим электронной ионизации (70 эВ) при температуре источника 280 °C и разрешении 60000.

Индексы удерживания измеряли относительно смеси n-алканов в диапазоне C₁₀–C₃₆.

Результаты и обсуждение
Общие характеристики мочевого метаболита BZ. Всего обнаружили около 60 метаболитов BZ, и для дальнейшего детального рассмотрения выбраны только наиболее актуальные соединения по критериям высокой интенсивности и структурного разнообразия, *рисунок 2*. Все идентифицированные соединения разделены на группы согласно основной метаболической модификации: в фазе I это гидролиз и последовательное окисление, в фазе II – глюкуронидирование и метилирование.

Ранее мы отмечали, что метаболическому окислению подвержены, в первую очередь, алифатические остатки ксенобиотика, в то время как окисление (гидроксилирование) ароматических остатков затруднено [12]. Так, для EA-3167 наблюдали окисление преимущественно цикlopентильного, а не фенильного остатка. Окисление третьего остатка – хинуклидина – протекало в основном после цикlopентильного остатка. В отличие от EA-3167, молекула BZ имеет две фенильные группы, и алифатическая часть представлена только хинуклидиновым остатком.

В исследуемой моче крыс были обнаружены метаболиты BZ, содержащие до пяти дополнительных атомов кислорода, причем наиболее интенсивными были однократно и двукратно окисленные метаболиты. При увеличении числа приобретенных атомов кислорода общая интенсивность метаболитов быстро снижается (в сотни раз для окисленного пятикратно). Пятикратно окисленные метаболиты не рассматривали.

Структурное отличие BZ от EA-3167 выражается в интенсивном метаболизме фазы II: глюкуронидировании и метилировании. Все рассмотренные полигидроксильные метаболиты метилированы однократно; содержание полиметилированных метаболитов было незначительным. Метилированные метаболиты могут быть дополнительно глюкуронидированы и, следовательно, являться продуктами двукратного прохождения фазы II метаболизма. Сульфатированные метаболиты

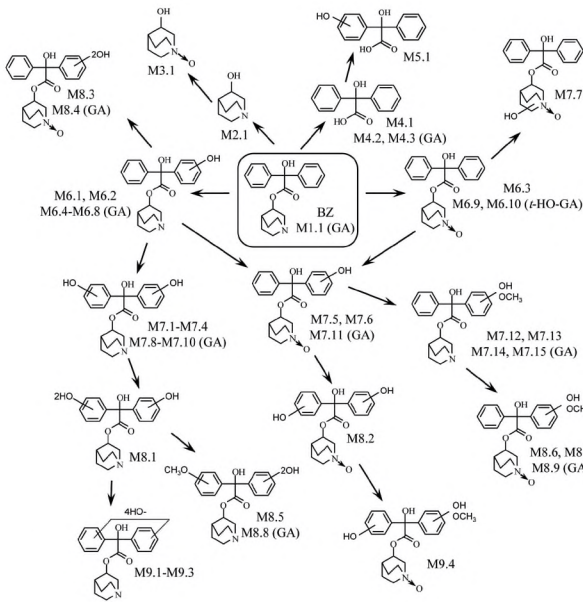


Рисунок 2 – Общая схема образования мочевых метаболитов BZ для крыс (GA – глюкуронид) (данные авторов)
Figure 2: General scheme of formation of urinary BZ metabolites in rats (GA, glucuronide) (authors' data)

литы фазы II были найдены также, но их интенсивность невелика.
ЖХ-МС/ВР характеристики идентификации метаболитов BZ для режима МС¹ перечислены в *таблице 2*. Результаты внутренней нормировки (%) по площадям пиков метаболитов для каждого образца мочи приведены в *таблице на рисунке 3*. Эти данные ограничены нижним пределом 2%.

Неизмененный BZ, продукты гидролиза и возможного окисления. При фрагментации протонированная молекула BZ отщепляет воду за счет третичной гидроксильной группы (ион с *m/z* 320, *рисунок 4А*), и этот процесс является общим для большинства рассмотренных соединений. Элиминирование муравьиной кислоты (ион с *m/z* 292) можно объяснить только внутримолекулярной перегруппировкой. Масс-спектр BZ весьма характерен. Ионы с *m/z* 209 и 183 соответствуют остатку гидроксидифениллоксоэтана и продукту элиминирования СО, соответственно. Ион с *m/z* 128 является про-

Таблица 2 – ЖХ-МС/ВР характеристики BZ и его метаболитов
Table 2. LC-HRMS characteristics of BZ and its metabolites

Метаболит (вещество) / Metabolite(substance)	Метаболическая реакция / Metabolic reaction	Брутто-формула / Brutto formula	Теор. m/z / Calc. m/z	Δ m/z	RT, мин / RT, min
BZ	–	C ₂₁ H ₂₃ NO ₃	338,1751	-0,3	6,61
M1.1	Глюкуронидирование / Glucuronidation	C ₂₇ H ₃₁ NO ₉	514,2072	-1,1	6,31

Продолжение таблицы 2

Метаболит (вещество) / Metabolite(substance)	Метаболическая реакция / Metabolic reaction	Брутто-формула / Brutto formula	Теор. m/z / Calc. m/z	Δ m/z	RT, мин / RT, min
BZ	–	C ₂₁ H ₂₃ NO ₃	338,1751	-0,3	6,61
M1.1	Глюкуронидирование / Glucuronidation	C ₂₇ H ₃₁ NO ₉	514,2072	-1,1	6,31
M2.1 (3-Q)	Гидролиз / Hydrolysis	C ₇ H ₁₃ NO	128,1070	-0,1	0,52
M3.1 (3-Q N-оксид)	Гидролиз+N-окисление / Hydrolysis + N-oxidation	C ₇ H ₁₃ NO ₂	144,1019	-0,4	0,54
M4.1 (HDPAA)	Гидролиз / Hydrolysis	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	227,0714	0,5	9,07
M4.2	Гидролиз+ GA / Hydrolysis + GA	C ₂₀ H ₂₀ O ₉	403,1035	-0,9	6,60
M4.3	Гидролиз+ GA / Hydrolysis + GA	C ₂₀ H ₂₀ O ₉	403,1035	-0,8	6,94
M5.1	Гидролиз +гидроксילирование / Hydrolysis + hydroxylation	C ₁₄ H ₁₂ O ₄	243,0663	-0,1	5,81
M6.1	Гидроксילирование / Hydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	354,1700	-1,3	4,91
M6.2	Гидроксילирование / Hydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	354,1700	-0,8	5,05
M6.3	N-окисление / N-oxidation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	354,1700	-1,1	6,77
M6.4	Гидроксילирование + GA / Hydroxylation + GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₀	530,2021	-1,7	4,09
M6.5	Гидроксילирование + GA / Hydroxylation + GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₀	530,2021	-1,4	4,30
M6.6	Гидроксילирование + GA / Hydroxylation + GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₀	530,2021	-1,6	4,33
M6.7	Гидроксילирование + GA / Hydroxylation + GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₀	530,2021	-1,6	4,84
M6.8	Гидроксילирование + GA/ Hydroxylation + GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₀	530,2021	-0,2	4,97
M6.9	N-окисление+ GA (трет-НО-) / N-oxidation + GA (tert-HO-)	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₀	530,2021	-0,9	5,82
M6.10	N-окисление+ GA (трет-НО-) / N-oxidation + GA (tert-HO-)	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₀	530,2021	-0,9	5,89
M7.1	Дигидроксילирование / Dihydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	370,1649	-0,9	3,63
M7.2	Дигидроксילирование / Dihydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	370,1649	-0,9	4,09
M7.3	Дигидроксילирование / Dihydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	370,1649	-1,2	4,46
M7.4	Дигидроксילирование / Dihydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	370,1649	-1,2	4,59
M7.5	Гидроксילирование + N-окисле- ние / Hydroxylation + N-oxidation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	370,1649	-1,3	5,00
M7.6	Гидроксילирование + N-окисле- ние / Hydroxylation + N-oxidation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	370,1649	-1,1	5,07
M7.7	Гидроксילирование (хину- клидин) + N-окисление / Hydroxylation (quinuclidine) + N-oxidation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	370,1649	-0,9	5,80
M7.8	Дигидроксילирование + GA / Dihydroxylation + GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₁	546,1970	-1,3	2,95

Продолжение таблицы 2

Метаболит (вещество) / Metabolite(substance)	Метаболическая реакция / Metabolic reaction	Брутто-формула / Brutto formula	Теор. m/z / Calc. m/z	Δ m/z	RT, мин / RT, min
M7.9	Дигидроксилирование + GA / Dihydroxylation + GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₁	546,1970	-1,3	4,00
M7.10	Дигидроксилирование + GA / Dihydroxylation + GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₁	546,1970	-0,8	4,19
M7.11	Гидроксилирование + N-окис- ление+ GA / Hydroxylation + N-oxidation+ GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₁	546,1970	-1,4	4,30
M7.12	Дигидроксилирование + Me / Dihydroxylation + Me	C ₂₂ H ₂₅ NO ₅	384,1806	-1,1	5,03
M7.13	Дигидроксилирование + Me / Dihydroxylation + Me	C ₂₂ H ₂₅ NO ₅	384,1806	-1,5	5,15
M7.14	Дигидроксилирование + Me+ GA / Dihydroxylation + Me+ GA	C ₂₈ H ₃₃ NO ₁₁	560,2126	-1,3	4,24
M7.15	Дигидроксилирование + Me+ GA / Dihydroxylation + Me+ GA	C ₂₈ H ₃₃ NO ₁₁	560,2126	-1,4	4,41
M8.1	Тригидроксилирование / Trihydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₆	386,1598	-1,3	3,12
M8.2	Дигидроксилирование + N-о- кисление / Dihydroxylation + N-oxidation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₆	386,1598	-1,3	3,62
M8.3	Дигидроксилирование + N-о- кисление / Dihydroxylation + N-oxidation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₆	386,1598	-1,1	4,59
M8.4	Дигидроксилирование + N-о- кисление+ GA / Dihydroxylation + N-oxidation+ GA	C ₂₇ H ₃₁ NO ₁₂	562,1919	-1,4	4,14
M8.5	Тригидроксилирование + Me / Trihydroxylation + Me	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	400,1755	-1,4	3,82
M8.6	Дигидроксилирование + N-о- кисление + Me / Dihydroxylation + N-oxidation+ Me	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	400,1755	-1,5	5,13
M8.7	Дигидроксилирование + N-о- кисление + Me / Dihydroxylation + N-oxidation+ Me	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	400,1755	-1,3	5,20
M8.8	Тригидроксилирование + Me + GA / Trihydroxylation + Me + GA	C ₂₈ H ₃₃ NO ₁₂	576,2076	-1,3	3,13
M8.9	Дигидроксилирование+ N-окис- ление+ Me + GA / Dihydroxylation + N-oxidation + Me + GA	C ₂₈ H ₃₃ NO ₁₂	576,2076	-1,5	4,39
M9.1	Тетрагидроксилирование / Tetrahydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₇	402,1547	-0,5	3,70
M9.2	Тетрагидроксилирование / Tetrahydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₇	402,1547	-0,9	4,38
M9.3	Тетрагидроксилирование / Tetrahydroxylation	C ₂₁ H ₂₃ NO ₇	402,1547	-1,0	4,48
M9.4	Тригидроксилирование + N-о- кисление + Me / Trihydroxylation + N-oxidation+ Me	C ₂₂ H ₂₅ NO ₇	416,1704	-0,7	3,85
Примечание. TGA – глюкуронидирование; Me – метилирование; RT – время удерживания. Представлены данные авторов. Note. GA, glucuronidation; Me, methylation; RT, retention time. Authors' data.					

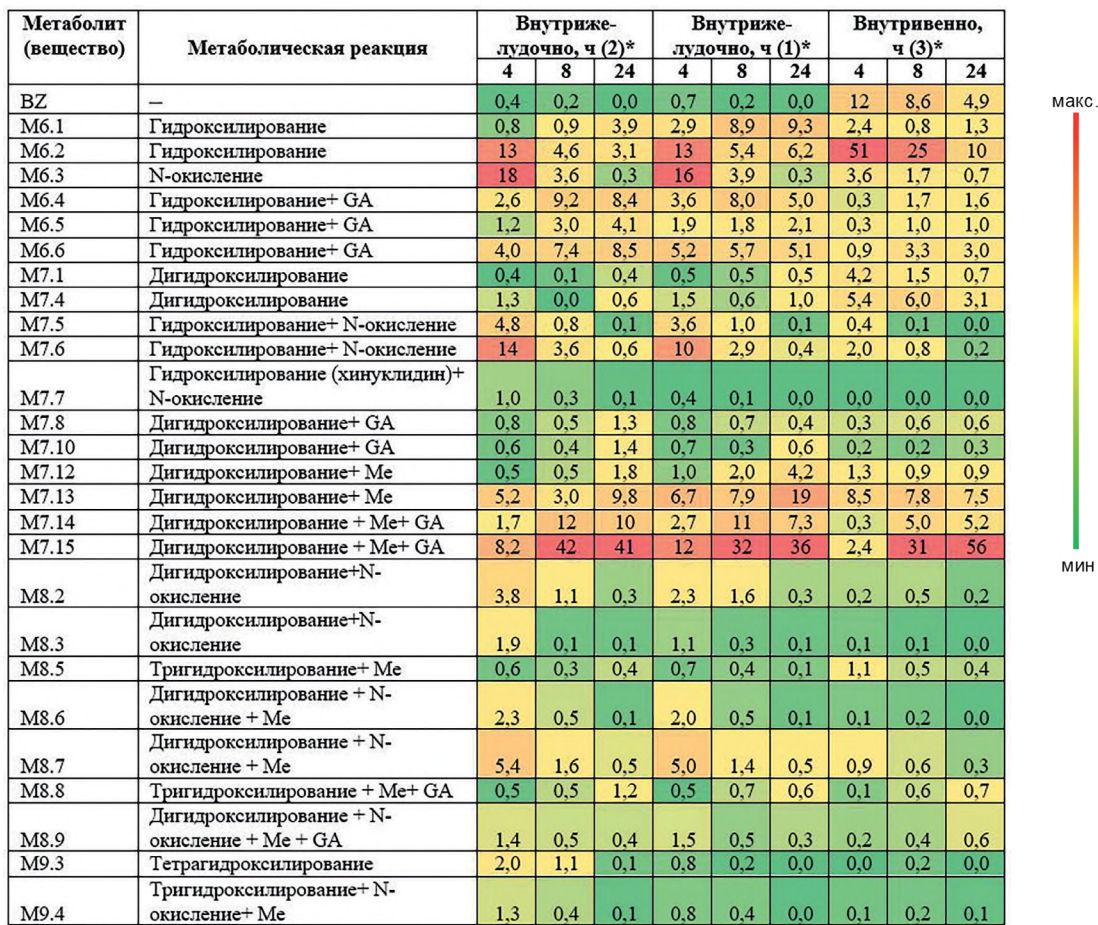


Рисунок 3 – Площади пиков метаболитов BZ в моче крыс (внутренняя нормировка, %). *Нумерация крыс приве-
дена в скобках. GA– глюкуронидирование; Me – метилирование (данные авторов)
Figure 3: The peak areas of BZ metabolites in rat urine (internal normalization, %). * Rat numbering is given in parentheses.
GA, glucuronidation; Me, methylation (authors' data)

тонированным 3-Q, а m/z 110 – продуктом его дегидратации. Несколько необычным вы-
глядит образование ион-радикала с m/z 111,
возможно, связанное с изначальным прото-
нированием атома азота. Эти ионы и про-
дукты их метаболических модификаций в
дальнейшем применялись для структурной
идентификации метаболитов.
Ранее сообщалось, что лишь небольшая
доля BZ экскретируется с мочой в неизмен-
ном состоянии (около 3% исходной дозы)
[21]. Относительное содержание BZ в моче
после внутрижелудочного введения мало
(относительные площади его пиков менее
1%, рисунок 3), но становится заметным при
внутривенном введении (около 14% для 4 ч).
Этот факт объясняется различием путей вы-
ведения BZ: при внутрижелудочном экспо-
нировании исходное вещество подвержено
окислительному метаболизму в печени, куда
после абсорбции оно транспортируется кро-
вотоком через воротную вену.

Молекула BZ имеет третичную гидро-
ксильную группу и, следовательно, может
образовывать метаболиты фазы II. Фрагмен-
тация обнаруженного глюкуронида BZ (M1.1,
рисунок 4Б) подобна фрагментации исходного
соединения. В начале этого процесса про-
исходит элиминирование остатка глюкуро-
новой кислоты и получающийся масс-спектр
почти не содержит ее фрагментов, поэтому
на рисунке 4 и далее наличие остатка глюку-
роновой кислоты указано только в обозна-
чениях метаболитов. BZ глюкуронидирован
в средней степени (около 30%, таблица 3)
и только при условии внутрижелудочного
введения по тем же причинам, что и для от-
носительного содержания неизмененного BZ
в моче.
BZ – сложный эфир, и простейшим вари-
антом его метаболизма является гидролиз,
причем этот процесс может проходить уже в
крови ввиду активности кровяных эстераз.
Содержание получающихся 3-Q (M2.1) и

HDPAА (M4.1) не рассматривали ввиду кардинальных отличий способов определения: 3-Q почти не удерживается в гидрофобном ЖХ-режиме, а для регистрации HDPAА и ее производных необходима отрицательная ионизация. Тем не менее, можно отметить, что площади пиков 3-Q были доминирующими для всех мочевых образцов, а пиков HDPAА (равно как и ее производных) – наоборот, очень малыми. Оба соединения мало пригодны для диагностики отравления BZ в том числе из-за малой характеристичности, хотя обнаружение 3-Q (хорошо заметного компонента) должно быть причиной дополнительных исследований.

Выше было отмечено, что гидроксирование проходит преимущественно по алифатическим, а не ароматическим остаткам исходного соединения. Однако – несмотря на предельный характер остатка 3-Q – мы не обнаружили его гидроксированных метаболитов. При разделении образцов мочи в гидрофильном режиме (HILIC) обнаружили только одно соединение (M3.1, рисунок 4B), масса которого соответствует добавке одного атома кислорода к 3-Q. Оно предположительно идентифицировано как N-оксид ввиду легкого элиминирования радикала гидроксила (рисунок 4Г) от протонированной молекулы с образованием катион-радикала с

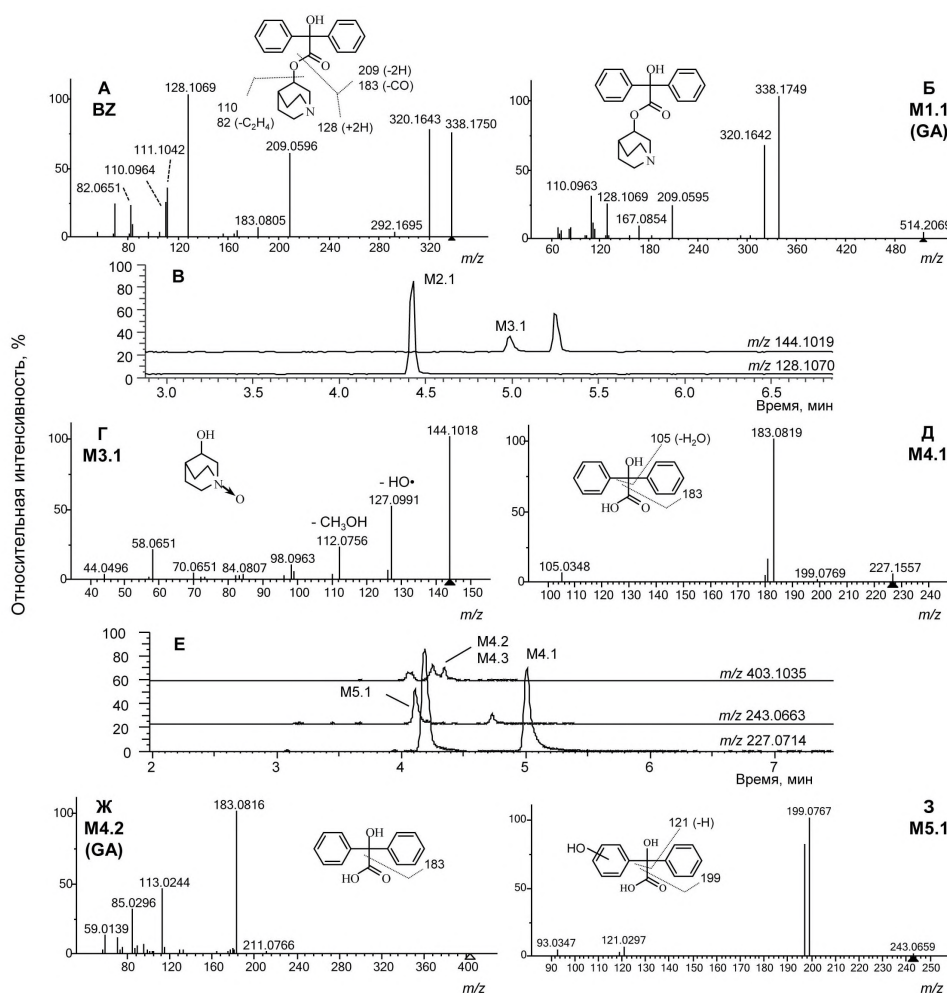


Рисунок 4 – ЖХ-МСВР (ЭРИ) масс-спектры BZ (А), глюкуронида BZ (метаболит M1.1) (Б), 3-хинуклидиол-N-оксида (M3.1) (Г), HDPAА (M4.1, отрицательная ионизация) (Д), глюкуронида HDPAА (M4.2, отрицательная ионизация) (Ж), гидроксированной HDPAА (M5.1, отрицательная ионизация) (З). Хроматограммы ЖХ-МСВР мочи крыс с 3-хинуклидиолом и его N-оксидом (HILIC) (В) и метаболитами – производными HDPAА (отрицательная ионизация) (Е) (данные авторов)

Figure 4: LC-HRMS(ESI) mass spectra of BZ (A), BZ glucuronide (metabolite M1.1) (Б), 3-quinuclidinol-N-oxide (M3.1) (Г), HDPAА (M4.1, negative ionization) (Д), HDPAА glucuronide (M4.2, negative ionization) (Ж), hydroxylated HDPAА (M5.1, negative ionization) (З). LC-HRMS chromatograms of rat urine with 3-quinuclidinol and its N-oxide (HILIC) (В) and HDPAА-derived metabolites (negative ionization) (Е) (authors' data)

m/z 127. Как отмечено выше, образование ион-радикалов нехарактерно для фрагментации ионов с изначальным отсутствием неспаренных электронов, и в данном случае объясняется двумя факторами: слабой связью между азотом и кислородом и протонируемостью атома кислорода в N-оксиде. Соединение, элюирующееся после метаболита М3.1 на хроматограмме *m/z* 144, является биогенным, и в его масс-спектре присутствуют ионы, характерные для М3.1.

Фрагментация НДПАА (М4.1, отрицательная ионизация) проста и сводится к отщеплению молекулы CO₂ (ион с *m/z* 183) и дальнейшему образованию иона с *m/z* 105, характерному для гидроксилированных фенолсодержащих соединений, и стабильного, скорее всего, благодаря формированию

ароматического семичленного цикла (ион тропилия). НДПАА глюкуронидирована в средней степени (около 40–50%), причем – как и для 3-*Q* – степень глюкуронидирования снижается при внутривенном введении ВЗ, *таблица 3*. Основной ион в масс-спектре глюкуронидов НДПАА (М4.2 и М4.3) с *m/z* 183 соответствует декарбоксилированной НДПАА, остальные ионы образованы фрагментацией глюкуроновой кислоты. Пути фрагментации гидроксилированной НДПАА (*М5.1*, *рисунок 43*) подобны исходному соединению.

Моногидроксилирование и N-окисление. Судя по относительным площадям пиков, моногидроксилирование и N-окисление – одно из основных направлений мочевого метаболизма ВЗ, причем вклады обоих процессов сопоставимы. Два пика (М6.1 и

Таблица 3 – Медианные значения степеней глюкуронидирования и метилирования (%) ВЗ и его метаболитов
Table 3. Median values of the degrees of glucuronidation and methylation (%) of ВЗ and its metabolites

Вид фазы I (вещество) / Type of phase I (substance)	Вид фазы II / Type of phase II	Способ экспонирования (номер крысы) / Administration method (rat number)			Продукты / Products
		В/жел. (1) / I/gast. (1)	В/жел. (2) / I/gast. (2)	В/вен. (3) / I/ven. (3)	
– (ВЗ)	Глюкуронидирование / Glucuronidation	26	27	0	М1.1
Гидролиз (НДПАА) / Hydrolysis (NDPAA)	Глюкуронидирование / Glucuronidation	48	38	22	М4.2, М4.3
Моногидроксилирование / Monohydroxylation	Глюкуронидирование / Glucuronidation	75	44	19	М6.4-М6.8
N-окисление/ N-oxidation	Глюкуронидирование (трет-ОН) / Glucuronidation (tert-OH)	1	1	0	М6.9, М6.10
Дигидроксилирование/ Dihydroxylation	Глюкуронидирование / Glucuronidation	73	42	11	М7.8-М7.10
Моногидроксилирование + N-окисление / Monohydroxylation + N-oxidation	Глюкуронидирование / Glucuronidation	4	6	4	М7.11
Дигидроксилирование / Dihydroxylation	Метилирование / Methylation	90	89	52	М7.12, М7.13
Дигидроксилирование / Dihydroxylation	Глюкуронидирование + метилирование / Glucuronidation + methylation	81	65	80	М7.14, М7.15
Тригидроксилирование / Trihydroxylation	Метилирование / Methylation	97	93	80	М8.5
Дигидроксилирование + N-окисление / Dihydroxylation + N-oxidation	Глюкуронидирование / Glucuronidation	34	22	31	М8.4
Дигидроксилирование + N-окисление / Dihydroxylation + N-oxidation	Метилирование / Methylation	84	86	91	М8.6, М8.7
Дигидроксилирование + N-окисление / Dihydroxylation + N-oxidation	Глюкуронидирование + метилирование / Glucuronidation + methylation	62	61	50	М8.8

Продолжение таблицы 3

Вид фазы I (вещество) / Type of phase I (substance)	Вид фазы II / Type of phase II	Способ экспонирования (номер крысы) / Administration method (rat number)			Продукты / Products
		В/жел. (1) / I/gast. (1)	В/жел. (2) / I/gast. (2)	В/вен. (3) / I/ven. (3)	
Дигидроксилирование + N-окисление / Dihydroxylation + N-oxidation	Глюкуронидирование + метилирование / Glucuronidation + methylation	20	20	35	M8.9
Примечание. В/жел. – внутрижелудочно; В/вен. – внутривенно. Данные авторов. Note. I/gast, intragastric; I/ven, intravenous. Authors' data.					

М6.2) около времени удерживания 5 мин (рисунок 5) принадлежат изомерам, гидроксильным по фенильному остатку. Об этом свидетельствует наличие интенсивного иона с m/z 128 (неизменный 3-Q) и группа ионов с m/z 225, 209 и 181, образующихся при фрагментации гидроксильного остатка гидроксидифенилоксэтана, рисунок 6А. Метаболиты М6.1 и М6.2 глюкуронидированы в средней и в высокой степени, причем степень глюкуронидирования при внутривенном введении снижается более, чем в два раза. Масс-спектры глюкуронидов (рисунок 6В) содержат интенсивные пики ионов с m/z 354, образующихся при элиминировании глюкуроновой кислоты, а основные пути фрагментации подобны свободным метаболитам.

Метаболит М6.3 идентифицировали как N-оксид ВЗ, и его фрагментация несколько необычна. Ион с m/z 183 соответствует остатку дифенилметанола (как и для неизме-

ненного ВЗ), а ион с m/z 144 – остатку 3-Q с дополнительным атомом кислорода. Согласно проведенному МС³, окисленный остаток 3-Q дегидратируется (m/z 126) и элиминирует атом кислорода от N-оксида (m/z 110). Кроме того, в масс-спектре МС³ иона m/z 144 присутствует продукт отщепления радикала гидроксила (ион с m/z 127), что позволяет сделать уверенный вывод об идентичности структуры иона с m/z 144 и N-оксидированного 3-Q (метаболита М3.1).

Ион-радикал с m/z 243 (C₁₅H₁₇O₂N^{•+}) образуется при формальном последовательном элиминировании фенола и радикала гидроксила от протонированной молекулы. Этот несколько необычный процесс обусловлен, скорее всего, слабой связью N-O и протонированностью N-оксида. Последнее подтверждено ростом удерживания метаболита М6.3 при увеличении рН фазы А. В масс-спектре МС³ иона с m/z 243 присутствуют

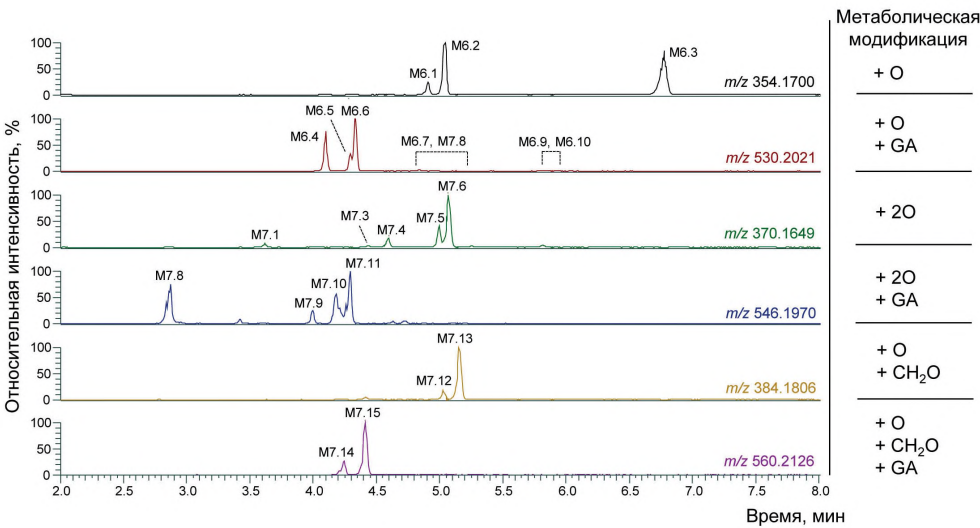


Рисунок 5 – Хроматограммы ЖХ-МСВР мочи с метаболитами групп М6 и М7 (данные авторов)
Figure 5: LC-HRMS chromatogram of urine with group M6 and M7 metabolites (authors' data)

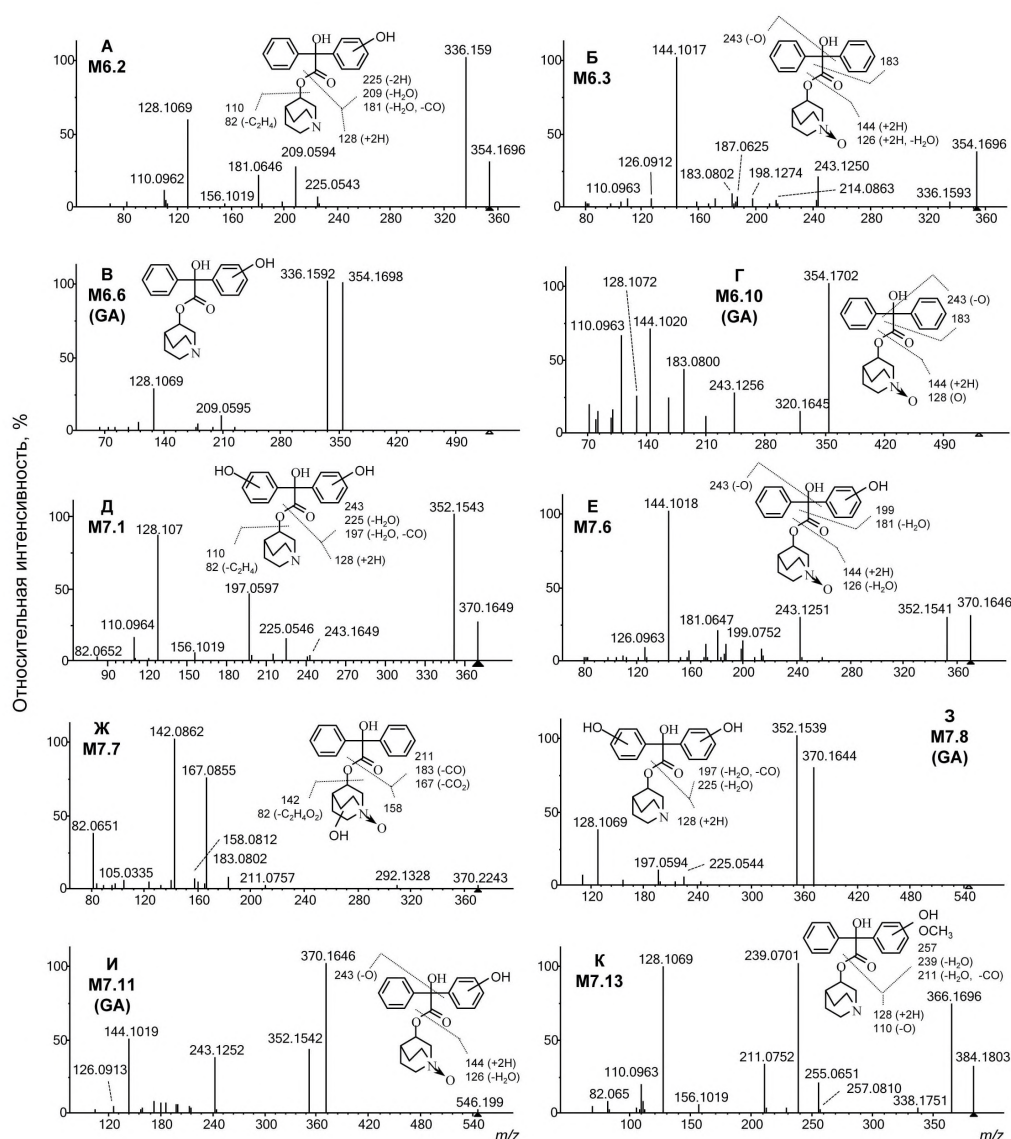


Рисунок 6 – ЖХ-МС/МС (ЭРИ) масс-спектры метаболитов групп M6 и M7 (данные авторов)
Figure 6: LC-HRMS (ESI) mass spectra of group M6 and M7 metabolites (authors' data)

фрагментные ионы, образованные элиминированием радикалов с m/z 214 ($C_{13}H_{12}O_2N^+$, отщепление этила) и 198 ($C_{14}H_{16}N^+$, выброс CO_2 и протона), а также нейтрального бутена (m/z 187, $C_{11}H_9O_2N^+$). Эти процессы и существование ионов с m/z 143 ($C_{10}H_9N^+$) и m/z 130 ($C_9H_8N^+$) в масс-спектре иона m/z 243 свидетельствуют о перегруппировке. Выброс CO_2 отмечали также при ЭИ (см. далее).

Сделанные выводы полностью согласуются с результатами работы [22]. В отличие от метаболитов, гидроксированных по фенильному остатку, M6.3 почти не глюкуронидован. Два его глюкуронида (M6.9 и M6.10), обнаруженных в следовых концентрациях,

имеют значительное удерживание и образованы глюкуронидированием третичной гидроксильной группы. Интересно отметить, что в их масс-спектрах присутствуют ионы с m/z 144 и 128, соответствующие окисленному и неизмененному остаткам 3-Q (рисунок 6Г). Это обусловлено легкостью элиминирования атома кислорода при гетеролитическом разрыве связи N-O и подтверждается наличием в масс-спектре M6.10 подобной пары ионов (m/z 354 и 320), имеющих разницу в один атом кислорода и молекулы воды.

Хроматографическое удерживание N-оксида больше, чем у метаболитов, гидроксированных по фенильному остатку

(M6.3>M6.1, M6.2) ввиду делокализации гидрофильных участков по всей структуре для последних: гидроксильная группа – на фенильном остатке и протонированный атом азота – в 3-Q. Это правило соблюдается и для полигидроксилированных метаболитов.

Относительное содержание фенилгидроксилированного M6.2 и N-оксида M6.3 сопоставимо при внутрижелудочном введении и малых временах отбора мочи (4 и 8 ч); однако, при внутривенном введении всегда преобладал M6.2. Согласно нашему опыту, метаболиты M6.1–M6.3 и их глюкурониды представляют наибольший интерес ввиду высокой вероятности обнаружения их в метаболическом профиле человека.

Метилированные моногидроксилированные метаболиты не обнаружили.

Дигидроксилирование, N-окисление и дополнительное метилирование. Пути фрагментации метаболитов этой группы в целом подобны предыдущей. Метаболиты, дигидроксилированные по фенильным остаткам весьма многочисленны как ввиду изомерии положения, так и возможной диастереомерии. В этом и в следующих разделах будут рассмотрены только наиболее интенсивные и структурно-разнообразные формы.

Как было отмечено выше, метаболиты гидроксилированные по фенильным остаткам (M7.1–M7.4), удерживаются слабее N-оксидов M7.5 и M7.6. Их относительное содержание невелико. В масс-спектрах M7.1–M7.4 присутствуют как интенсивные пики ионов с m/z 128 (неизмененный остаток 3-Q), так и группа пиков ионов, характеризующих остаток тригидроксидифенилоксотана (m/z 243, 225, 215 и 197), рисунок 6Д. Ион, соответствующий самому остатку (m/z 243), малоинтенсивен, но при его дегидратации (m/z 225) и последующем элиминировании CO (m/z 197) образуются более интенсивные ионы, устойчивость которых определяется образованием дополнительных кратных связей и сопряжением в дифенильной системе. Метаболиты, дигидроксилированные по фенильным остаткам, глюкуронидированы в средней и высокой степени (около 42–73%) только для внутрижелудочного введения, в то время как для внутривенного введения степень глюкуронидирования невысока (около 11). Фрагментация глюкуронидов M7.8–M7.10 подобна метаболитам фазы I.

Содержание метаболита M7.6 (моногидроксилирование фенильного остатка и N-окисление) велико и подобно содержанию моногидроксилированных метаболитов. В его масс-спектре присутствует интенсивный пик иона, соответствующего N-окисленному

остатку 3-Q (m/z 144) и пик ион-радикала с m/z 243, рассмотренного выше с продуктами распада. N-Окисленные метаболиты с дополнительной гидроксильной группой на фенильном остатке (M7.5 и M7.6) почти не глюкуронидированы.

Метаболит M7.7 малоинтенсивен и заметен только после внутрижелудочного введения BZ. Однако его структура представляет интерес из-за наличия двух приобретенных атомов кислорода на остатке 3-Q. Данный вывод основан на существовании иона с m/z 158 ($C_7H_{12}O_3N^+$) и продукта элиминирования атома кислорода от него (m/z 142, $C_7H_{12}O_2N^+$). Ион с m/z 82 ($C_5H_8N^+$) образован разрушением части хинкулидинольного бицикла с отщеплением $C_2H_4O_2$. Можно уверенно предположить, в структуре M7.6 один атом кислорода принадлежит N-оксиду, а второй – гидроксильной группе на остатке 3-Q, и сделать вывод о возможности гидроксилирования хинкулидинового остатка по крайней мере, после N-окисления. Глюкуронид метаболита M7.7 не обнаружили.

В отличие от метаболитов – продуктов однократного окисления, рассмотренных в предыдущем разделе, двукратно окисленные метаболиты подвержены интенсивному метилированию (образование M7.12 и M7.13, до 90%), а метилированные продукты – интенсивному глюкуронидированию (>65%). В данном случае интересно отметить, что преимущественно метилируются метаболиты, дигидроксилированные по фенильным кольцам. Метаболиты, моногидроксилированные фенильному кольцу и впоследствии метилированные, также были обнаружены, но не включены в описание из-за очень малой интенсивности.

В масс-спектре наиболее интенсивного метаболита M7.13 присутствует интенсивный пик иона с m/z 128 (неизмененный остаток 3-Q) и ряд пиков, характеризующих дигидроксилированный метилированный гидроксидифенилоксотановый остаток (m/z 211, 239, 257). Их массы отличаются от такого же набора для дигидроксилированного M7.1 на метиленовую группу. Все эти ионы также представлены в масс-спектре глюкуронида M7.15 (рисунок 7А), что позволяет сделать вывод о сходстве структур M7.13 и агликона метаболита M7.15 без учета положения гидроксильных групп в пределах фенильных остатков. Метаболит M7.15, в котором одна гидроксильная группа метилирована, а другая глюкуронидирована, доминирует в большинстве образцов мочи (исключая самые ранние, т.е. собранные в течение 4 часов после экспонирования). Содержание M7.15 и его минор-

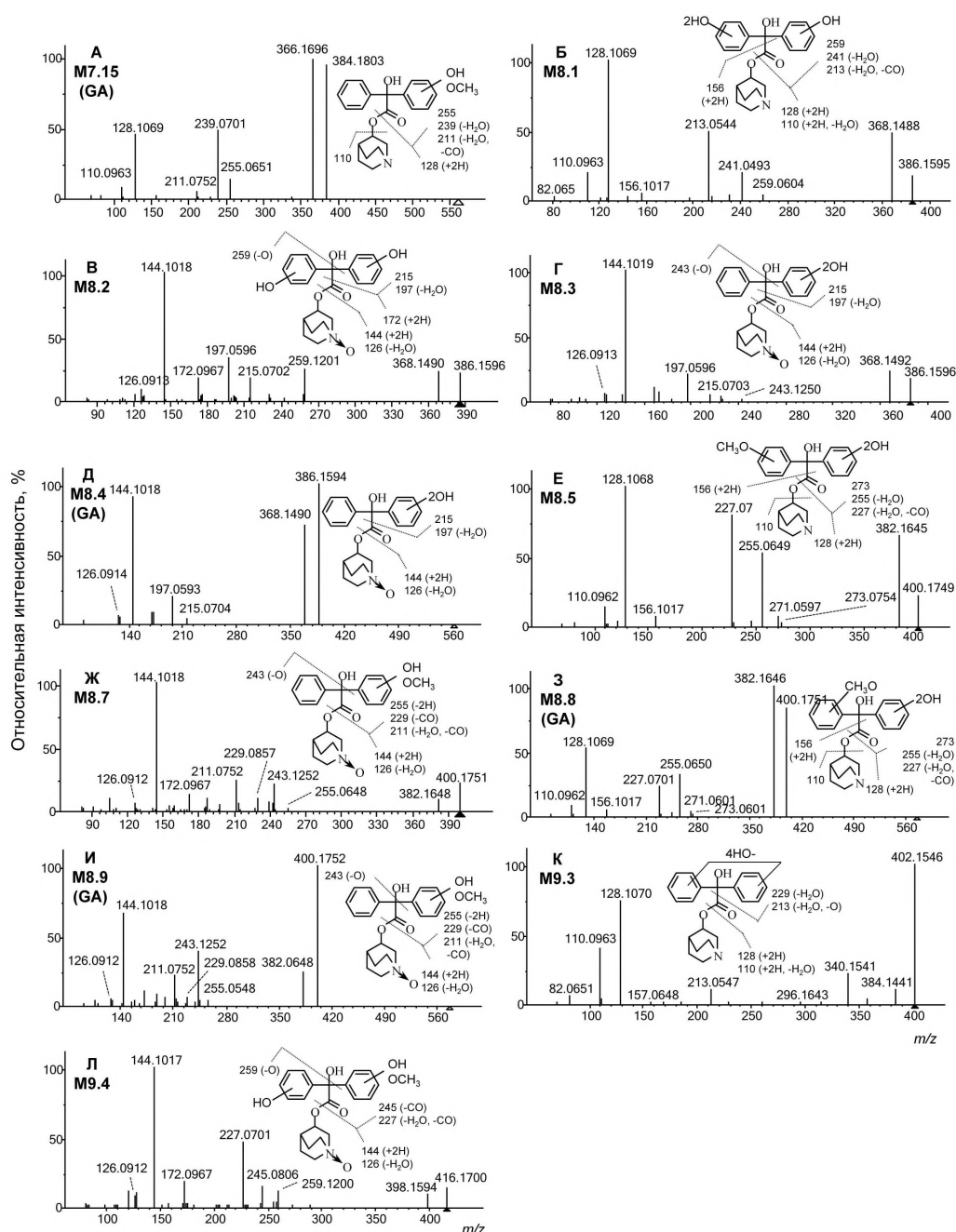


Рисунок 7 - ЖХ-МС/П (ЭРИ) масс-спектры метаболитов групп М7-М9 (данные авторов)
Figure 7: LC-HRMS (ESI) mass spectra of group M7-M9 metabolites (authors' data)

ного изомера М7.14 (как абсолютное, так и относительное) растет со временем, прошедшем с момента экспонирования. В меньшей степени такое поведение характерно и для свободных форм (М7.12, М7.13).

Тригидроксилирование, N-окисление и дополнительное метилирование. Содержание метаболита М8.1, имеющего три гидроксильные группы на фенильных остатках (рисунок 7Б), весьма мало, и это подтверждает тезис о меньшей вероятности повторного

гидроксилирования одного остатка. Содержание метаболитов-N-оксидов М8.2 и М8.3, в структурах которых две гидроксильные группы находятся на фенильных остатках, значительно выше. В данном случае можно точно сказать, что у метаболита М8.3 обе гидроксильные группы расположены на одном фенильном остатке ввиду наличия иона с m/z 243 в масс-спектре, а у М8.2 – на разных, так как масса подобного фрагмента увеличена на массу атома кислорода (m/z 259),

рисунки 7В и 7Г. Глюкурониды метаболитов М8.1 и М8.2 малоинтенсивны, а приведенный на рисунке 7Д масс-спектр (М8.4) возможно, следует отнести к глюкурониду метаболита М8.3 ввиду соответствия времени удерживания (меньше, чем у свободной формы) и сходства фрагментации. Степень глюкуронидирования умеренная (<34%). Хроматограммы мочи с этими метаболитами изображены на рисунке 8.

Перечисленные метаболиты представлены и в метилированных формах, причем степени метилирования высоки (>80%). Масс-спектр метилированного производного для метаболита с тремя гидроксильными группами на фенильных кольцах (М8.5) представлен на рисунке 7Е. Основные пути его фрагментации подобны путям для возможной свободной формы (М8.1). Масс-спектр М8.5 не позволяет установить расположение приобретенных функциональных групп, и существование метоксигруппы на одном из фенильных колец при дигидроксиксировании другого является только предположением, основанном на возможных стерических затруднениях при метилировании. Относительное содержание М8.5 невелико, а степень глюкуронидирования подобных структур (тригидроксированных по фенильным кольцам и метилированных) средняя (около 50–60%). Масс-спектр глюкуронидированной метилированной формы (метаболит М8.8, рисунок 7З) весьма подобен масс-спектру метилированной формы с поправкой на остаток глюкуроновой кислоты.

Содержание другого метилированного метаболита (М8.7, N-оксид) гораздо выше, чем М8.5. Согласно масс-спектру М8.7

(рисунок 7Ж) и наличию иона с m/z 243, в его структуре гидроксильная и метокси-группа расположены на одном фенильном кольце. Как и для М8.1, степень метилирования высока, а степень последующего глюкуронидирования наоборот, умеренная (<35%, метаболит М8.9).

Тетрагидроксирование, N-окисление и дополнительное метилирование. Четырехкратно окисленные метаболиты BZ (М9.1–М9.3) – группа, представляющая наименьший интерес в практическом плане из-за малого содержания и наибольших отличий от исходного соединения. Поэтому далее описаны только наиболее интенсивные представители этой группы. У метаболитов М9.1–М9.3 все четыре гидроксильные группы расположены на фенильных кольцах, и остаток 3-Q неизменен (в масс-спектре пики ионов с m/z 128 и 110, рисунок 7К). Эта структура подтверждается наличием иона с m/z 229 ($C_{13}H_9O_4^+$); более интенсивный ион с m/z 213, брутто-формула которого соответствует формальному элиминированию атома кислорода от m/z 229, по-видимому, относится к другому пути фрагментации. Ионы с m/z 358 и 340 свидетельствуют о выбросе CO_2 (во втором случае – с дегидратацией), что уже отмечено выше для распада иона с m/z 243. В данном случае выброс CO_2 происходит из протонированной молекулы.

Необычным также выглядит отсутствие N-окисленных структур среди метаболитов с четырьмя приобретенными атомами кислорода; возможно, N-окисление характерно только для достаточно гидрофобных соединений. Глюкурониды тетрагидроксированных метаболитов не обнаружили, что

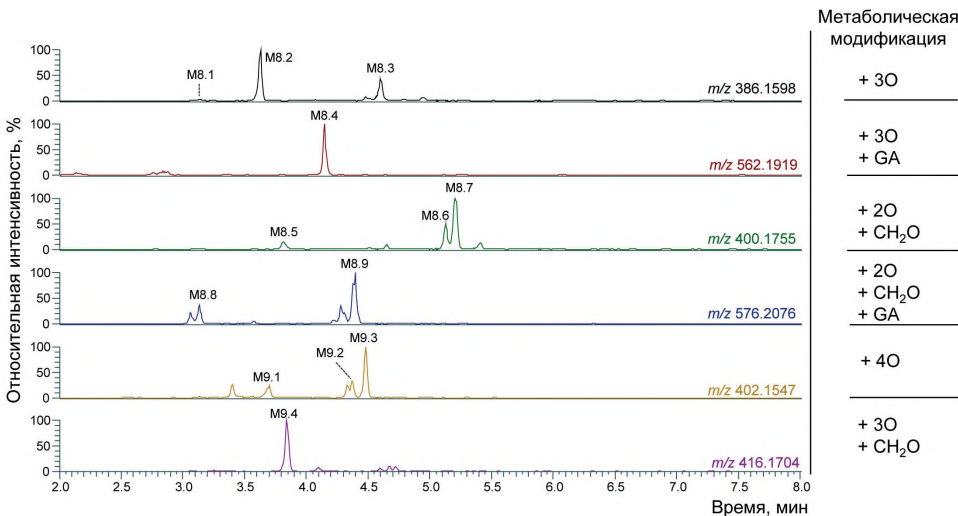


Рисунок 8 – Хроматограммы ЖХ-МСВР мочи с метаболитами групп М8 и М9 (данные авторов)
Figure 8: LC-HRMS chromatogram of urine with group M8 and M9 metabolites (authors' data)

выглядит реалистичным при учете значительной гидрофильности этих структур.

Среди продуктов метилирования четырехкратно окисленных метаболитов преобладает N-оксид (M9.4, *рисунок 7Л*), и его фрагментация мало отличается от других метилированных метаболитов. Содержание M9.4 сопоставимо со свободной четырехкратно окисленной формой M9.3.

Неизменный BZ и его метаболиты в плазме крови. При анализе крови для достоверного определения причин интоксикации желательно обнаружение неизменного токсиканта. Разумеется, хроматографический пик BZ имел наибольшую площадь в пробе, отобранной через наименьшее время после экспонирования (0,5 ч, крыса № 4). В этой пробе относительное содержание метаболитов было невысоким, *рисунок 9* (указаны только метаболиты с относительной площадью пиков более 1%). В остальных пробах плазмы крови, отобранных через 24 ч, неизменный BZ содержался в следовых концентрациях (в 400–1000 раз меньше), и для его определения необходимы высокочувствительные методы с регистрацией масс-спектров МС².

Во всех пробах, отобранных через сутки, доминирует метаболит M7.14, являющийся продуктом дигидроксилирования и последующих метилирования и глюкуронидирования. Это соединение можно считать предпочтительным для диагностики по анализу крови, если после интоксикации прошло значительное время. Однако – при учете возможной разницы в метаболизме человека и крыс – обращать внимание на наличие неизменного BZ. Метаболиты M6.4 и M6.5

(моногидроксилированные глюкуронидированные формы) также могут быть полезны для диагностики при учете высокой вероятности их присутствия в крови человека.

ГХ-МС, BZ и его метаболиты в моче.

Анализ мочи методом ГХ-МС требует дополнительной подготовки проб, включающей перевод компонентов в органический растворитель и, возможно, дериватизации. Третьичная гидроксильная группа BZ может быть дериватизирована, но целесообразность этой процедуры невысока: в условиях ГХ-МС BZ элюируется узким пиком, а выход деривата (в нашем случае это триметилсилилирование в присутствии BSTFA) недостаточен. Такое поведение BZ и его метаболитов определяется малой стерической доступностью третичного гидроксила.

Точное сопоставление изомерных метаболитов, детектируемых в условиях ЖХ-МС и ГХ-МС обычно затруднительно, но и не является необходимым. Поэтому метаболитам, детектируемым при ГХ-МС, были присвоены самостоятельные наименования. Масс-спектры (ЭИ) метаболитов BZ и дериватов приведены на *рисунках 10 и 11*; на втором из них также изображены ГХ-МС хроматограммы проб мочи.

Пробы готовили двумя способами, основанными на жидкостно-жидкостной (ЖЖЭ) и твердофазной экстракции (ТФЭ). Степень экстрагирования оценивали методом ЖХ-МСВР по остаточному содержанию метаболитов в водной фазе. При ЖЖЭ она была более 84% для BZ, моно- и дигидроксилированных метаболитов с расположением гидроксильных групп на фенильных кольцах (M6.1, M6.2, M7.1) и продуктов метилирования (M7.12, M7.13, M7.14, M7.15, M8.8).

Метаболит (вещество)	Метаболическая реакция	Внутрижелудочно		Внутривенно	
		24ч (3)	0,5 ч (4)	24 ч (1)	24 ч (2)
BZ	–	10	96	4,3	0,9
M6.2	Гидроксилирование	0,6	1,1	0,9	0,7
M6.3	N-окисление	0,6	0,5	3,3	0,3
M6.4	Гидроксилирование+ GA	2,5	0,1	11	10
M6.6	Гидроксилирование+ GA	3,4	0,4	11	7,9
M7.8	Дигидроксилирование+ GA	0,0	0,1	0,6	3,8
M7.9	Дигидроксилирование+ GA	0,0	0,0	0,6	1,8
M7.11	Гидроксилирование + N-окисление+ GA	0,0	0,0	1,5	1,8
M7.12	Дигидроксилирование + Me	2,3	0,1	1,2	1,2
M7.13	Дигидроксилирование + Me	3,2	0,5	2,5	1,4
M7.14	Дигидроксилирование + Me + GA	7,3	0,1	4,4	8,1
M7.15	Дигидроксилирование + Me + GA	69	1,0	56	58
M8.8	Тригидроксилирование + Me + GA	0,7	0,1	0,7	2,9

Рисунок 9 – Площади пиков метаболитов BZ в плазме крови крыс (внутренняя нормировка, %). Нумерация крыс приведена в скобках. GA – глюкуронидирование; Me – метилирование (данные авторов)
Figure 9: The peak areas of BZ metabolites in rat plasma (internal normalization, %). Rat numbering is shown in parentheses GA, glucuronidation; Me, methylation (authors' data)

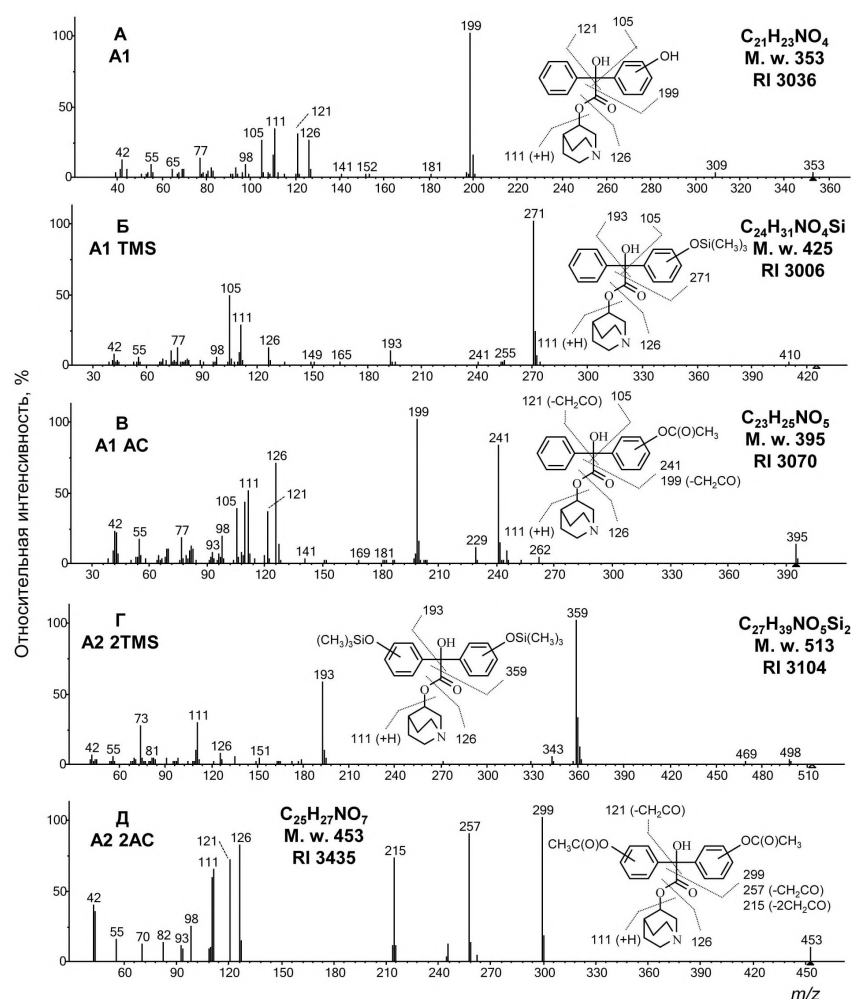


Рисунок 10 – ГХ-МС (ЭИ) масс-спектры метаболитов BZ и их дериватов (TMS – триметилсилилирование, AC – ацетилирование) (данные авторов)

Figure 10: GC-MS (EI) mass spectra of BZ metabolites and their derivatives (TMS, trimethylsilylation, AC, acetylation) (authors' data)

М7.13). N-окисленные метаболиты (интенсивные М6.3, М7.5, М7.6) экстрагировались значительно хуже (<25%). При ТФЭ получили качественно подобный результат при степени экстрагирования больше 63% для гидроксильных метаболитов и больше 45% для метилатов; N-окисленные метаболиты экстрагировались так же плохо (около 14%). Эти метаболиты не элюировались в условиях ГХ по причине малой температурной стабильности.

Идентификация всех описанных ниже соединений была подтверждена регистрацией точных масс трех ионов масс-спектра; при выборе ионов предпочтение отдавали молекулярным ионам, а при их отсутствии –

наиболее тяжелым, характеристичным и интенсивным. ГХ-МС характеристики метаболитов и их дериватов приведены в таблице 4. Следует отметить некоторую разницу в виде масс-спектров (ЭИ), получаемых на монохромных инструментах и орбитальных ионных ловушках: для последних относительная интенсивность тяжелых ионов несколько ниже, и поэтому малоинтенсивные молекулярные ионы могут отсутствовать. В целом для всех рассмотренных далее соединений молекулярные ионы малоинтенсивны, либо отсутствуют.

Масс-спектр BZ (ЭИ) приведен в библиотеках mainlib (NIST)⁸ и osad_ms_2025, а фрагментация метаболитов проходит, в целом, по

⁸ NIST/EPA/NIH 20 Mass Spectral Library. National Institute of Standards and Technology Mass Spectrometry Data Center. Gaithersburg, USA. URL: <https://chemdata.nist.gov/dokuwiki/doku.php?id=chemdata:start> (дата обращения: 12.08.2025).

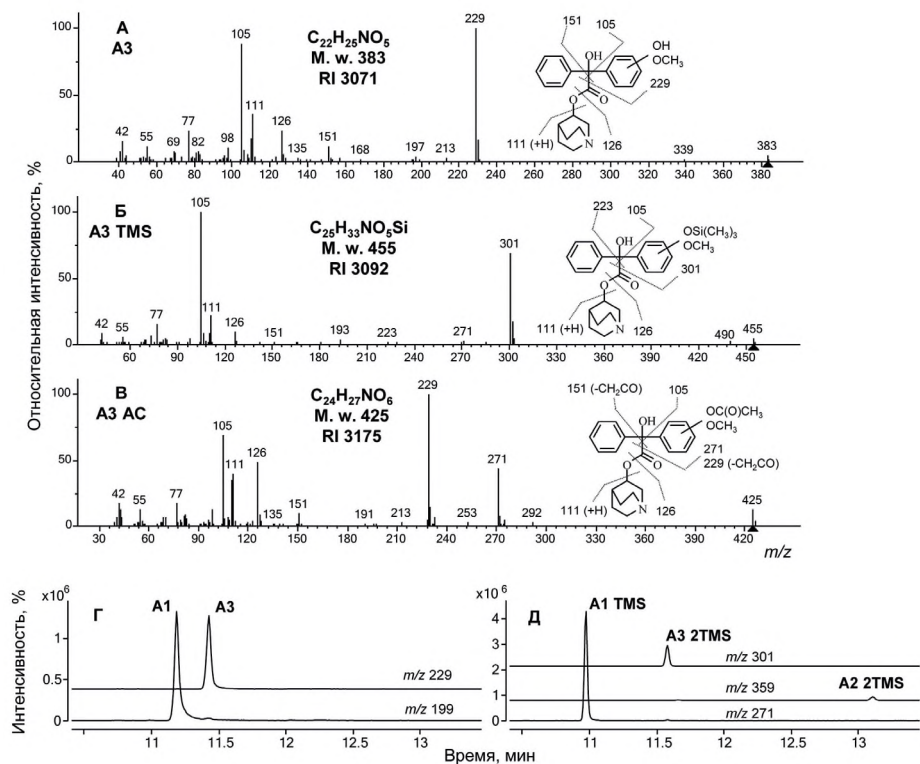


Рисунок 11 – ГХ-МС (ЭИ) масс-спектры метаболитов ВЗ и их дериватов (TMS–триметилсилилирование, АС – ацетилирование) (А–В). Масс-хроматограммы (ГХ-МС, ЭИ) мочи с метаболитами ВЗ (Г, Д) (данные авторов)
Figure 11: GC-MS (EI) mass spectra of BZ metabolites and their derivatives (TMS, trimethylsilylation, AC, acetylation) (A–B). Mass-chromatograms (GC-MS, EI) of urine with BZ metabolites (Г, Д) (authors' data)

тем же путям. В масс-спектрах всех идентифицированных соединений присутствует ион с m/z 126 ($C_7H_{12}NO^+$), соответствующий остатку 3-Q, и ион-радикал с m/z 111 ($C_7H_{13}N^+$), образующийся при миграции протона третичной гидроксильной группы к остатку хинуклидинола. Такой путь образования ион-радикала с m/z 111 подтверждается его отсутствием в масс-спектрах тематических соединений с дериватизированным третичным гидроксилем. Ввиду того, что такой же ион образуется и при ЭРИ (ЖХ-МС), хотя в этом случае он малоинтенсивен, можно сделать вывод об общей стабильности ион-радикала хину клидина.

Разрыв связи между карбонильной группой и остатком дифенилметанола ведет к образованию интенсивных ионов, масса

Таблица 4 – ГХ-МС характеристики метаболитов ВЗ и их дериватов.
Параметры удерживания даны для первой (моноквадрупольной) ГХ-МС системы
Table 4. GC-MS characteristics of BZ metabolites and their derivatives. Retention parameters are given for the first GC-MS system (single quadrupole)

Метаболит / Metabolite	Брутто-формула молекулы / Molecular brutto formula	Брутто-формула иона / Ionic brutto formula	Теор. m/z / Calc. m/z	Отклонение, $\Delta m/z$ / Mass shift, $\Delta m/z$	Удерживание / Retention	
					Время, мин / Time, min	Индекс / Index
A1	$C_{21}H_{23}NO_4$	$C_{20}H_{23}NO_2$	309,1723	0,01	11,19	3036
		$C_{13}H_{11}O_2$	199,0754	0,19		
		$C_7H_{12}NO$	126,0913	0,17		
A1 TMS	$C_{24}H_{31}NO_4Si$	$C_{23}H_{28}NO_4Si$	410,1782	0,03	10,97	3006
		$C_{16}H_{19}O_2Si$	271,1149	-0,73		
		$C_7H_{12}NO$	126,0913	-0,44		

Продолжение таблицы 4

Метаболит / Metabolite	Брутто-формула молекулы / Molecular brutto formula	Брутто-формула иона / Ionic brutto formula	Теор. m/z / Calc. m/z	Отклонение, Δm/z / Mass shift, Δm/z	Удерживание / Retention	
					Время, мин / Time,min	Индекс / Index
A1 AC	C ₂₃ H ₂₅ NO ₅	C ₂₃ H ₂₅ NO ₅	395,1727	-0,37	11,44	3070
		C ₁₅ H ₁₃ O ₃	241,0859	0,13		
		C ₇ H ₁₂ NO	126,0913	0,11		
A2 2TMS	C ₂₇ H ₃₉ NO ₅ Si ₂	C ₂₆ H ₃₆ NO ₅ Si ₂	498,2127	0,17	11,68	3104
		C ₁₉ H ₂₇ O ₃ Si ₂	359,1493	-0,26		
		C ₇ H ₁₂ NO	126,0913	0,11		
A2 2AC	C ₂₅ H ₂₇ NO ₇	C ₁₇ H ₁₅ O ₅	299,0914	2,2	14,94	3435
		C ₁₅ H ₁₃ O ₄	257,0808	0,50		
		C ₇ H ₁₂ NO	126,0913	0,23		
A3	C ₂₂ H ₂₅ NO ₅	C ₂₁ H ₂₅ NO ₃	339,1829	-0,10	11,43	3071
		C ₁₄ H ₁₃ O3	229,0859	-0,39		
		C ₇ H ₁₂ NO	126,0913	-0,07		
A3 TMS	C ₂₅ H ₃₃ NO ₅ Si	C ₂₄ H ₃₀ NO ₅ Si	440,1888	0,01	11,58	3092
		C ₁₇ H ₂₁ O ₃ Si	301,1254	-0,47		
		C ₇ H ₁₂ NO	126,0913	-0,13		
A3 AC	C ₂₄ H ₂₇ NO ₆	C ₂₄ H ₂₇ NO ₆	425,1833	0,07	12,18	3175
		C ₁₆ H ₁₅ O ₄	271,0965	0,27		
		C ₇ H ₁₂ NO	126,0913	0,11		
Примечание. BTMS – триметилсилилирование; AC – ацетилирование. Данные авторов. Note. TMS, trimethylsilylation; AC, acetylation. Authors' data.						

которых определяется состоянием этого остатка. Для неизмененного ВЗ она равна 183 и увеличивается до 199 (+16) при моногидроксилировании и до 229 (+32, +14) – при дигидроксилировании и метилировании, рисунки 10А и 11А. Дериватизация ведет к увеличению этих масс на массы остатков дериватизирующих агентов. Особенностью масс-спектров дериватов ТМС можно назвать элиминирование метила с образованием ионов с *m/z* [M-15]; такие ионы присутствуют в масс-спектрах, даже если отсутствуют молекулярные ионы. Для дериватов АС наблюдается легкое элиминирование карбена

(C₂H₂O), в результате чего в масс-спектрах появляются интенсивные ионы с разницей масс 42 Да, рисунки 9В, 9Д и 10В. Ионы с *m/z* 105 (C₇H₅O⁺) могут являться ароматическими семичленными циклами (ион тропиля), что объясняет их значительную интенсивность. Они образуются только при наличии неизмененного фенильного остатка и поэтому отсутствуют в масс-спектрах дериватов дигидроксилированного метаболита А2, рисунки 10Г и 10Д.
Интересной особенностью фрагментации производных ВЗ можно считать выброс молекулы CO₂ из молекулярного иона (*m/z* 309 и

339 для А1 и А3 соответственно), что наблюдали и в условиях ЭРИ (ЖХ-МСВР, см. выше). Для этого необходима внутримолекулярная перегруппировка, и она, возможно, обусловлена наличием объемных остатков у одного атома углерода.

Ввиду явного улучшения форм хроматографических пиков (рисунки 11Г и 11Д), дериватизацию следует считать весьма желательной для повышения чувствительности и селективности обнаружения. Дериватизация TMS выглядит более предпочтительной ввиду меньшего удерживания по сравнению с АС (для АС деривата метаболита А2 индекс удерживания 3435). Тем не менее, для любого способа дериватизации рекомендуется применять быстрое повышение температуры колонки и значительную максимальную температуру (не менее 300 °С).

Временные профили экскреции ВЗ и его метаболитов с мочой и общие закономерности. Зависимости экскреции токсиканта и его метаболитов с мочой могут иметь сложный характер, определяемый всей совокупностью факторов – от абсорбции до почечной элиминации, включая биотрансформацию и возможное депонирование [25]. Обычно временные профили содержания неизмененного вещества и его метаболитов в моче имеет вид колоколообразной кривой, максимум которой достигается через несколько часов после экспонирования и зависит от концентрации в крови [26]. Это общее правило соблюдается для неизмененного ВЗ и большинства метаболитов; тем не менее, в поведении ряда метаболических форм были отмечены значительные отличия. На рисунке 12 приведены зависимости площадей хроматографических пиков некоторых метаболитов от времени сбора мочи после экспонирования (данные нормированы к моче, собранной в течение 4 ч).

Можно отметить, что пиковая концентрация для ВЗ и для гидроксилированного N-оксида М7.6 наблюдается падение концентрации с увеличением времени для обоих способов экспонирования. Это поведение характерно для большего числа метаболитов при внутрижелудочном введении и почти половины – при внутривенном. С другой стороны, для глюкуронида моногидроксилированной формы (М6.6) и, тем более, для глюкуронида дигидроксилированной метилированной формы (М7.15) отмечен рост, причем для последнего – очень значительный, при обоих способах экспонирования. Этот результат коррелирует с относительной концентрацией метаболитов в плазме крови (рисунк 9), и – в целом – свидетельствует о малом вкладе

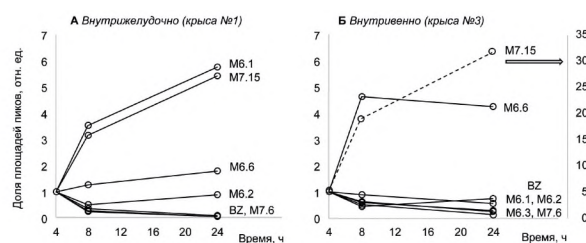


Рисунок 12 – Зависимость площадей хроматографических пиков ВЗ и некоторых метаболитов от времени после внутрижелудочного (А) и внутривенного (Б) введения. Данные нормированы к 4 ч (ЖХ-МСВР, крыса № 2); зависимость для метаболита М7.15 (Б) относится к правой шкале ординат (данные авторов)
Figure 12: Dependence of the areas of chromatographic peaks of BZ and some metabolites on the time after intragastric (A) and intravenous (Б) administration. The data are normalized to 4 hours (LC-HRMS, rat No. 2); the dependence for the metabolite M7.15 (6) belongs to the right ordinate scale (authors' data)

процесса абсорбции в формирование мочевых профилей. Максимум концентраций подобных метаболитов в моче следует ожидать после 24 ч, что позволяет использовать эти формы как долговременные биомаркеры отравления ВЗ. Наблюдаемые зависимости находятся в полном соответствии с длительностью психоактивного действия ВЗ, отмеченного в работах [3, 4]. Можно предположить депонирование ряда метаболитов ВЗ в тканях, но, к сожалению, нам ничего неизвестно об их психоактивности.

Необычное поведение в плане экскреции можно отметить также для простейших моногидроксилированных изомерных форм (М6.1 и М6.2), различающееся от способа экспонирования: в отличие от форм, перечисленных выше, эти метаболиты образованы в результате однократной модификации.

Представленные данные статистически недостаточны для формирования надежных обобщений о различиях мочевых метаболических профилей при разных способах введения. Тем не менее, для внутривенного введения можно отметить следующее.

1. Большое относительное содержание ВЗ.
2. Малая степень глюкуронидирования ВЗ, HDPAА, моно- и дигидроксилированных метаболитов.
3. Очень малое относительное содержание N-окисленного метаболита (М6.3).

Данные отличия могут быть обусловлены различием изоформ окислительных ферментов, принимающих участие в окислении

BZ, и долей внепеченочных метаболических модификаций.

Заключение

BZ подвержен интенсивному метаболизму для крыс, заключающемуся в гидролизе, моно- и полигидроксилировании фенильных остатков, а также N-окислении. Гидроксилирование хинуклидинового остатка малозначительно. При метаболическом окислении молекула BZ может приобретать до пяти атомов кислорода, хотя наибольшей площадью хроматографических пиков характеризовались моно- и дигидроксилированные метаболиты, включая N-оксиды. Гидроксилированные метаболиты глюкуронидированы в средней и высокой степени, но при внутривенном введении степень глюкуронидирования уменьшается; также снижается содержание N-окисленного метаболита. Гидроксилированные метаболиты подвержены метилированию и продукты этого процесса также образуют глюкурониды. Из всех идентифицированных метаболитов наибольшей

площадью в условиях ЖХ-МСВР обладал продукт дигидроксилирования с последующим метилированием и глюкуронидированием (M7.15). Концентрация этого метаболита, как и ряда других в моче, росла со временем. В плазме крови, отобранной при 24 ч после введения BZ, относительная интенсивность M7.15 была наибольшей, в то время как интенсивность неизмененного BZ была меньшей примерно на порядок величины.

Предполагается, что в случае анализа мочи человека методом ЖХ-МС наиболее удобно обнаружение продуктов моногидроксилирования и N-окисления. Для ГХ-МС целесообразно обнаружение триметилсилилированных метаболитов – продукта моногидроксилирования и продукта дигидроксилирования с последующим метилированием. При анализе плазмы крови, отобранной через малое время после отравления BZ, рекомендуется обнаружение неизмененного токсиканта; при прохождении значительного времени (сутки и более) – BZ и метаболита M7.15.

Ограничения исследования / Limitations of the study

Главным ограничением исследования является поиск метаболитов BZ в моче лабораторных животных ввиду отличия метаболизма крыс от человеческого. / The main limitation of the study is the search for BZ metabolites in the urine of laboratory animals, as the metabolism of rats differs from that of humans.

Список источников / References

1. Anczyk E, Maćkowiak AM. (eds.) *Psychoactive substances, drugs and altered states of consciousness: cultural perspectives*. Katowice: Sacrum Publishing House and Authors; 2016. 204 p.
2. Gibson RE, Rzeszutarski WJ, Eckelman WC, Jagoda EM, Weckstein DJ, Reba RC. Differences in affinities of muscarinic acetylcholine receptor antagonists for brain and heart receptors. *Biochem Pharmacol*. 1983;32(12):1851–56.
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90049-7](https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90049-7)
3. Palmer WG. *Field-Water Quality Standards for BZ. Technical Report*. U S Army Biomedical Research & Development Laboratory. Fort Detrick, 1990. URL: <https://apps.dtic.mil/sti/citations/ADA220896> (дата обращения: 21.09.2025)
4. Ketchum JS. *Chemical Warfare Secrets Almost Forgotten. A Personal Story of Medical Testing of Army Volunteers with Incapacitating Chemical Agents During the Cold War (1955-1975)*. Santa Rosa: ChemBooks Inc.; 2006. 360 p.
5. Rzeszutarski WJ, Gibson RE, Eckelman WC, Simms DA, Jagoda EM, Ferreira NL, et al. Analogues of 3-quinuclidinyl benzilate. *J Med Chem*. 1982;25(9):1103–06.
<https://doi.org/10.1021/jm00351a020>
6. Ball JC. Review article. Dual use research of concern: derivatives of 3-quinuclidinyl benzilate (BZ). *Mil Med Sci Lett (Voj Zdrav Listy)*. 2015;84(1):2–41.
<https://doi.org/10.31482/mmsl.2015.001>
7. Misik J, Korabecny J, Nepovimova E, Kracmarova A, Kassa J. Effects of novel tacrine-related cholinesterase inhibitors in the reversal of 3-quinuclidinyl benzilate-induced cognitive deficit in rats--Is there a potential for Alzheimer's disease treatment? *Neurosci Lett*. 2016;612:261–68.
8. Zhang JJ, Fu H, Lin R, Zhou J, Haider A, Fang W, et al. Imaging Cholinergic Receptors in the Brain by Positron Emission Tomography. *J Med Chem*. 2023;66(16):10889–916.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00573>
9. Akashita G, Nakatani E, Tanaka S, Okura T. Development of simultaneous determination of dopamine 2, histamine 1, and muscarinic acetylcholine receptor occupancies by antipsychotics using liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2024;127: 107518.

10. Innis RB, Tune L, Rock R, Depaulo R, U'Prichard DC, Snyder SH. Tricyclic antidepressant radioreceptor assay. *Eur J Pharmacol.* 1979;58(4):473-77.
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(79\)90319-4](https://doi.org/10.1016/0014-2999(79)90319-4)

11. Григорьев АМ, Фатеенков ВН. Современные психоактивные вещества и их обнаружение в биомедицинских пробах. *Вестник войск ПХБ защиты.* 2022;6(4):320-341.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-320-341>

Grigoryev AM, Fateenkov VN. Modern Psychoactive Substances and Their Detection in Biomedical Samples. *Journal of NBC Protection Corps.* 2022;6(4):320-41. EDN: EUKKMS (in Russian).
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-320-341>

12. Григорьев АМ, Яшкир ВА, Крылов ВИ, Колосова НА, Фатеенков ВН. Идентификация EA-3167, структурного аналога инкапсита BZ, в объектах, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, и обнаружение его метаболитов в моче при экспонировании крыс. *Вестник войск ПХБ защиты.* 2024;8(1):18-33.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-18-33>

Grigoryev AM, Jashkir VA, Kryliv VI, Kolosova NA, Fateenkov VN. Identification of EA 3167, a Structural Analogue of the BZ Incapacitant, in Objects Delivered from the Zone of a Special Military Operation and Detection of Its Metabolites in Urine during Exposure of Rats. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(1):18-33. EDN:hrotqc (in Russian).
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-18-33>

13. Sng MT, Ng WF. In-situ derivatisation of degradation products of chemical warfare agents in water by solid-phase microextraction and gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *J Chromatogr. A.* 1999;832(1-2):173-82.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00990-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00990-X)

14. Black RM, Muir B. Derivatisation reactions in the chromatographic analysis of chemical warfare agents and their degradation products. *J Chromatogr A.* 2003;1000(1-2):253-281.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00183-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00183-3)

15. Valdez CA, Leif RN, Vu AK, Salazar EP. Trocylolation of 3-quinuclidinol, a key marker for the chemical warfare agent 3-quinuclidinyl benzilate, for its enhanced detection at low levels in complex soil matrices by electron ionization gas chromatography-mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2021;35(15):e9123.
<https://doi.org/10.1002/rcm.9123>

16. Kuitunen ML, Dutoit JC, Siegenthaler P. Identification of acidic degradation products of chemical warfare agents by methylation with trimethylsilyldiazomethane and gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Sci Technol.* 2022;13(29):1-13.
<https://doi.org/10.1186/s40543-022-00338-1>

17. Black RM, Read RW. Application of liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry, and tandem mass spectrometry, to the analysis and identification of degradation products of chemical warfare agents. *J Chromatogr A.* 1997;759(1-2):79-92.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(96\)00763-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(96)00763-7)

18. Read RW, Black RM. Rapid screening procedures for the hydrolysis products of chemical warfare agents using positive and negative ion liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *J Chromatogr A.* 1999;862(2):169-77.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00944-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00944-9)

19. Byrd GD, Sniegowski LT, White VE. Development of a confirmatory chemical test for exposure to 3-quinuclidinyl benzilate (BZ). *Chem Abstr.* 1987;110:70602

20. Byrd GD, Sniegowski LT, White VE. Determination of 3-quinuclidinyl benzilate in urine. *J Res Natl Bur Stand.* 1988;93:293-95.
<https://doi.org/10.6028/jres.093.050>

21. Byrd GD, Paule RC, Sander LC, Sniegowski LT, White E, Bausum HT. Determination of 3-quinuclidinyl Benzilate (QNB) and Its Major Metabolites in Urine by Isotope-Dilution Gas-Chromatography Mass-Spectrometry. *J Anal Toxicol.* 1992;16:182-7.
<https://doi.org/10.1093/jat/16.3.182>

22. Uher M, Mžik M, Karasová JŽ, Herman D, Čechová L, Dlabková A, Hroch M. In vitro and in vivo metabolism of 3-quinuclidinyl benzilate by high-resolution mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2020;120:113519
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113519>

23. Herman D, Dlabkova A, Cechova L, Vanova N, Misik J, Jun D, Zdarova Karasova J. Simple validated method of LC-MS/MS determination of BZ agent in rat plasma samples. *Drug Test Anal.* 2020;12(4):431-38.
<https://doi.org/10.1002/dta.2742>

24. Dlabkova A, Herman D, Cechova L, Hroch M, Vanova N, Zdarova Karasova J. 3-Quinuclidinyl benzilate (agent BZ) toxicokinetics in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2021;129(3):246-55.
<https://doi.org/10.1111/bcpt.1362>

25. Бонитенко ЕЮ, Бонитенко ЮЮ, Бушуев ЕС, Головкин АИ, Горбачева ТВ, Куценко СА и др. *Острые отравления лекарственными средствами и наркотическими веществами*. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2010. 440 с.

Bonitenko EYu, Bonitenko YuYu, Bushuev ES, Golovko AI, Gorbacheva TV, Kucenko SA, et al. *Acute poisoning by drugs and narcotic substances*. SPb.: ELBY- SPb; 2010. 440 p.(in Russian).

26. Веселовская НВ, Коваленко АЕ. *Наркотики*. М.: Триада-X; 2000. 206 с.

Veselovskaya NV, Kovalenko AE. *Narkotics*. M.: Triada-X; 2000. 206 p.(in Russian).

Вклад авторов / Authors' contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **И.И. Коваленко** – написание текста рукописи, работа с табличным материалом; **А.С. Ярлыченко** – доработка текста, составление рисунков; **Я.В. Ставитская** – редактирование текста рукописи; **Н.А. Колосова** – редактирование текста рукописи, работа с табличным материалом; **И.В. Рыбальченко** – редактирование текста рукописи, доработка текста; **А.М. Григорьев** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи / All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contribution were as follows: **I.I. Kovalenko** – writing of the article, tabular work; **A.C. Iarlychenko** – revision of the text, prepared the figures; **Y.V. Stavitskaya** – revision of the text; **N.A. Kolosova** – revision of the text, tabular work; **I.V. Rybalchenko** – editing of the article, revision of the text, editing of the article; **A.M. Grigoryev** – elaboration of the concept of the paper, writing of the article.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации, 111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19.

Коваленко Ирина Игоревна. Младший научный сотрудник.

Ярлыченко Алексей Сергеевич. Младший научный сотрудник.

Ставитская Яна Вадимовна. Научный сотрудник.

Колосова Наталья Александровна. Старший научный сотрудник, канд.биол.наук.

Рыбальченко Игорь Владимирович. Главный научный сотрудник, д-р хим. наук.

Григорьев Андрей Михайлович. Старший научный сотрудник, д-р хим. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5971-598>

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mil.ru

Контактное лицо: Григорьев Андрей Михайлович; 27 nc_1@mil.ru

27 Scientific Center Named after Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of Russian Federation, 111024, Russian Federation, Moscow, Entuziastov Proezd, 19.

Irina I. Kovalenko. Researcher.

Aleksey S. Iarlychenko. Researcher.

Jana V. Stavitskaya. Researcher.

Nataliya A. Kolosova. Senior Researcher. PhD.

Igor V. Rybalchenko. Senior Researcher. Dr Sci. (Chem).

Andrej M. Grigoryev. Senior Researcher. Dr Sci. (Chem).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5971-5989>

Contact information for all authors: 27 nc_1@mil.ru

Contact person: Andrej M. Grigoryev; 27nc_1@mil.ru



Исследование возникновения в 1977 году эпидемии лихорадки долины Рифт в Египте

В.А. Маркин✉

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
141306, Российская Федерация, Московская область, Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11
✉e-mail: 48cnii@mil.ru

Основные моменты

Эпидемия лихорадки долины Рифт (ЛДР) в Египте (1977 г.) была искусственно вызвана американскими военными во время египетско-израильского конфликта.

Созданный высокопатогенный для человека штамм вируса распространился по Африке и за ее пределами. **Актуальность.** Деятельность военно-биологических лабораторий США, включая сбор патогенов, угрожает глобальной биобезопасности, особенно вблизи границ России.

Цель исследования – изучение причин эпидемии ЛДР в Египте (1977 г.).

Источниковая база исследования. Англоязычные научные публикации из Интернета и научных библиотек.

Метод исследования. Аналитический.

Обсуждение. Вспышка началась 28 сентября 1977 г. в военных лагерях и прилегающих деревнях, поразив ~18 тыс. человек. Зона заражения имела сигарообразную форму, характерную для аэрозольного применения биологического агента. Направление ветра перед эпидемией совпадало с осью распространения. Летальность достигла 3,3 %. Ранее ЛДР севернее Сахары не регистрировали, а в эндемичных районах протекала легко. В 1960-х гг. Медицинский научно-исследовательский институт инфекционных заболеваний армии США (United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, USAMRIID) модифицировал вирус ЛДР, создав высокопатогенный штамм и биологические боеприпасы на его основе. Перед вспышкой персонал американской лаборатории NAMRU-3 и войск ООН был вакцинирован экспериментальной вакциной NDBR-103. NAMRU-3 идентифицировал возбудитель за 30 ч (в других вспышках – до 6 мес.). В целом, анализ сведений об эпидемии ЛДР в Египте в 1977 г. показывает, что ее характеристики во многом соответствуют критериям «неправильной эпидемиологии болезни», доказывающим ее искусственное происхождение.

Выводы. Эпидемия ЛДР в Египте – результат биологической атаки США с использованием штамма, вероятно, созданного на основе изолята Zimbabwe-1974. Его распространение привело к вытеснению менее патогенных вариантов в Африке. Случай демонстрирует опасность военно-биологических программ США для мира.

Ключевые слова: биологическая атака; искусственная интродукция; лихорадка долины Рифт; патогенность; эпидемия

Для цитирования: Маркин В.А. Исследование возникновения в 1977 году эпидемии лихорадки долины Рифт в Египте. Вестник войск РХБ защиты. 2025;9(4):370–382. EDN:osykor.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-370-382>

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: нет.

Использование искусственного интеллекта: автор не использовал.

Финансирование: без финансирования.

Поступила 11.10.2024 г. После доработки 12.05.2025 г. Принята к публикации 27.12.2025 г.

A study of the occurrence of the Rift valley fever epidemic in Egypt in 1977

Vladimir A. Markin✉

48 Central Scientific Research Institute
of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Oktyabrskaya Street, 11, Sergiev Posad-6 141306, Russian Federation
✉ e-mail: 48cnii_1@mail.ru

Highlights

The 1977 Rift valley fever (RVF) epidemic in Egypt was deliberately instigated by U.S. military forces during the Egyptian-Israeli conflict. The artificially engineered, highly pathogenic human strain of the RVF virus subsequently spread across Africa and beyond.

Relevance. The global expansion of U.S. military-biological laboratories, including their collection and study of high-threat pathogens, poses a direct risk to international biosecurity, particularly near Russia's borders.

Purpose of the study is to investigate the origins of the 1977 RVF outbreak in Egypt.

Study base sources. English-language scientific publications from online databases and academic libraries.

Method. Analytical.

Discussion. The outbreak began abruptly on September 28, 1977, in military encampments and adjacent villages, infecting ~18,000 individuals. The contamination zone exhibited a cigar-shaped dispersion pattern, consistent with aerosolized delivery of a biological warfare agent. Ground-level wind direction in the preceding 72 hours aligned with the outbreak's longitudinal axis. The case fatality rate (3.3%) was unprecedented, as RVF had never been documented north of the Sahara and was previously a non-lethal, flu-like illness in endemic regions.

In the 1960s United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID) conducted genetic and aerobiological modifications to the RVF virus, developing a highly pathogenic strain for weaponization. Prior to the outbreak, personnel at the U.S.-operated NAMRU-3 facility and UN peacekeeping contingents were preemptively vaccinated with the experimental NDBR-103 vaccine. NAMRU-3 identified the pathogen within 30 hours – versus 6 months in prior outbreaks – indicating foreknowledge of the agent. These findings confirm intentional deployment of the virus against Egyptian military positions.

Conclusions. The 1977 RVF epidemic in Egypt resulted from a covert biological attack using a weaponized strain, likely derived from the Zimbabwe-1974 isolate. The subsequent continental spread of this engineered variant displaced less pathogenic strains, demonstrating the destabilizing consequences of U.S. biowarfare programs. This incident underscores the threat posed by offensive military-biological research to global security.

Keywords: artificial introduction; biological attack; epidemic; pathogenicity; Rift valley fever

For citation: Markin V.A. A study of the occurrence of the Rift valley fever epidemic in Egypt in 1977. *Journal of NBC Protection Corps.* 2025;9(4):370–382. EDN:osykor.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-370-382>

Financial disclosure: The author has no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: No.

AI use: The author has not resorted to.

Funding: There are no funding sources to declare.

Received October 11, 2024. Revised May 12, 2025. Accepted December 27, 2025.

Невероятность факта не мешает его реальности

В Египте на неэндемичной территории в 1977 г. в военных лагерях и прилегающих деревнях крайне нехарактерно взрывообразно для типичного течения вспышек ли-

хорадки долины Рифт (ЛДР), возникла крупномасштабная эпидемия, вызванная новым, генетически отличающимся высокопатогенным для человека штаммом возбудителя.

ХИМИЧЕСКОЕ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОРУЖИЕ В ВОЙНАХ И КОНФЛИКТАХ
CHEMICAL AND BIOLOGICAL WEAPONS IN WARS AND CONFLICTS

В эпидпроцесс было вовлечено несколько миллионов человек, часть из которых погибли. Несмотря на то, что это самая крупная эпидемия ЛДР, она мало описана в литературе, причины ее возникновения не раскрыты, складывается впечатление, что ее почему-то хотят забыть.

Цель настоящей работы – исследование возникновения эпидемии лихорадки долины Рифт в Египте в 1977 г.

Источниковая база исследования – полнотекстовые англоязычные научные журналы, доступные через сеть Интернет и в научных библиотеках.

Метод исследования. Аналитический.

Задачи исследования:

- представить сведения по эпидемиологии ЛДР до вспышки в Египте и экспансию возбудителя в последующем;
- описать вспышку ЛДР в Египте в 1977 г. и новые проявления инфекции у человека;
- дать анализ генетических связей египетского штамма вируса ЛДР и выявить предпосылки искусственного происхождения египетского варианта возбудителя;
- изложить вероятную устрашающую роль биологической атаки американских военных в Египте.

Эпизоотии ЛДР характерны для Центральной и Южной Африки, приводя к гибели ягнят, овец и телят. В сельской местности эпизоотии сопровождаются массовыми эпидемиями [1]. Во время одной из крупнейших вспышек ЛДР, прошедшей в ЮАР в 1950–1951 гг., погибло свыше 200 тыс. овец и заболели более 20 тыс. человек, гибели людей отмечено не было [2]. Вспышки ЛДР в Африке весьма часты и появлялись с интервалом 5–10 лет [3], приводя к кризисной ситуации в регионах [4]. В настоящее время вспышки ЛДР участились.

Ретроспективное изучение 6 тыс. сывороток от людей и животных показало, что до 1977 г. ЛДР севернее Сахары, в том числе в Египте, не было¹.

Эпидемиология ЛДР

До 1977 г. ЛДР выявляли в Центральной и Южной Африке, в основном в Кении и ЮАР. Заболевание наиболее часто передается людям при укусах инфицированными членистоногими, реже – аэрозольно при разделке забитых больных животных и очень редко – алиментарно при использовании в пищу сырого молока, крови или полусырого

мяса от инфицированных животных [2, 4–6] (рисунок 1).

Вирус ЛДР выделяют от комаров (*Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Mansonia*, *Erethmapodites*), мокрецов (*Culicoides*), москитов (*Phlebotomus*), клещей (*Ambliomma variegatum*), блох и постельных клопов [5, 6, 8–14]. В формировании эпидемических очагов ЛДР существенна роль переносчиков *Ae. caspius*, *C. pipiens*, *C. antennatus* и *C. perexiguus*, питающихся как на диких и домашних животных, так и на людях [7]. Виды, принадлежащие к родам *Aedes* и *Culex*, наиболее актуальны для энзоотического и эпизоотического циклов соответственно (рисунок 1). Вспышкам ЛДР способствуют особые климатические условия, такие как обильные дожди [7, 15].

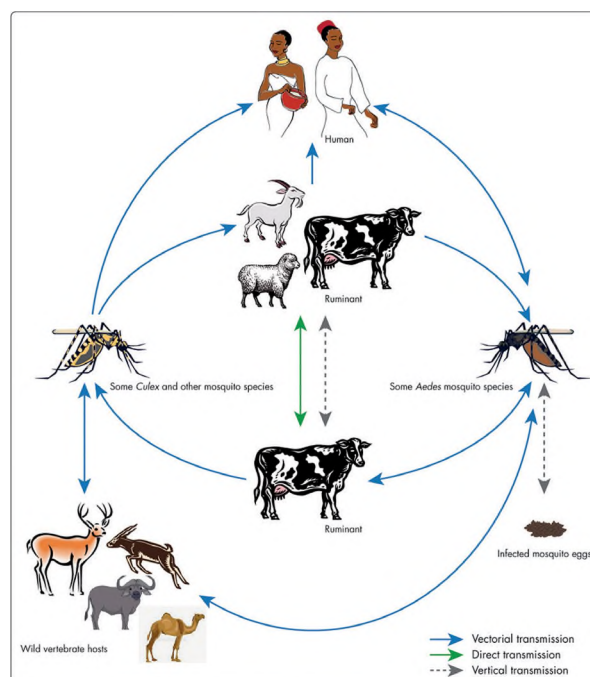


Рисунок 1 – Пути передачи вируса ЛДР в африканских ареалах. Переносчики (в основном москиты *Aedes* и *Culex* spp.) способны передавать вирус домашним и диким животным, а также людям. Возможна прямая передача среди животных, а также аэрозольно и алиментарно от животных к человеку. Рисунок адаптирован автором из работы S.S. Nielsen с соавт. [7]

Figure 1: Transmission routes of RVF virus in African habitats. Vectors (primarily *Aedes* and *Culex* spp. mosquitoes) are capable of transmitting the virus to domestic and wild animals, as well as to humans. Direct transmission among animals is possible, as well as aerosol and alimentary transmission from animals to humans. Figure adapted by the author from S.S. Nielsen et al. [7]

¹ Epidemic of Rift Valley fever in Egypt. Report from the Arbovirus research unit Egyptian organization for biological and vaccine production. Agouza, Cairo, Egypt. *Arthropod-borne Virus Information Exchange*. 1979;36:67–92.

Относительно естественных хозяев вируса ЛДР в меэнзоотические периоды однозначного мнения до настоящего времени нет. В обобщающей работе В.С. Easterday [2] выдвинуто предположение, что природными хозяевами данного возбудителя являются дикие непарнокопытные (антилопы, буйволы, верблюды и т.д.), лесные грызуны и насекомоядные. Эксперты ВОЗ считают данный вопрос открытым, а гипотетическими хозяевами вируса ЛДР считают комаров² и грызунов, скорее всего, крыс³. Не описано ни одного случая выделения вируса от птиц [1].

Вспышка ЛДР в Египте в 1977 году

Эпидемия началась взрывообразно [16–18] 28 сентября 1977 г. в 70 км северо-восточнее Каира в военном лагере в Inshas area (губерния Shargiya) и окружающих 21 деревне [16]. Заболели 14,2 % военных в лагере, летальность среди них составила 0,2 %, среди тяжелобольных госпитализированных – 14 %⁴ [16, 17, 19, 20]. Взрывообразное начало среди египетских военнослужащих «напоминало атаку химического или токсического агента. Заболевание резко началось среди людей, живших в военном лагере, а также среди тех, кто туда приезжал на работу» [17]. Эпидемия достигла пика за 2–3 недели; общая заболеваемость в регионе составила 21,5 %. Эта вспышка длилась 6 недель. Вторая вспышка тоже среди египетских военнослужащих (лагерь между поселениями Belfes и Khanka) началась аналогично взрывообразно через 2 недели после первой и длилась 3–5 недель [16]. Клиническому обследованию было подвергнуто более 2,5 тыс. тяжелобольных. Инкубационный период составлял 3 суток, как и у людей, заразившихся аэрогенно при забое больных овец [1, 2]. Пациенты погибали в течение первых 3 суток болезни. Чрезвычайно высокий уровень вирусемии у больных – до 10^8 – 10^9 ЛД₅₀/мл (в предыдущих вспышках – 10^3 – 10^5 ЛД₅₀/мл) сделал возможным контактную передачу вируса от человека человеку⁵. В период с сентября по декабрь 1977 г. подтверждено более 18 тыс. случаев ЛДР, 596 человек погибли; оценочная заболеваемость в регионе – 1,2 млн человек⁶ [16, 19,

20]. По мнению других исследователей «во вспышку 1977 г. было вовлечено от 2 до 9 млн человек; количество клинических случаев только среди полевых рабочих превышало 200 тыс. человек» [17]. Необычно, что в этой вспышке животные начали болеть после людей, хотя ранее эпизоотии предшествовали эпидемиям, в последующем обычная последовательность вспышек восстановилась⁷ [17].

Конфигурация зоны первой вспышки ЛДР в Египте в 1977 г. представлена на рисунке 2, взятом из источника [1, стр. 412].

Отчетливо видно, что очаг эпидемии имеет вытянутую сигарообразную форму, присущую заразным зонам после применения химического или биологического оружия (БО), как это следует из исследования

412 CRC Handbook Series in Zoonoses: Viral Zoonoses

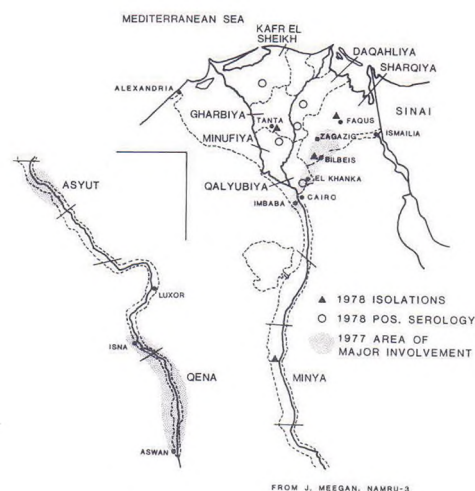


FIGURE 1. Distribution of Rift Valley fever in Egypt in the 1977 to 1978 outbreaks.

Рисунок 2 – Конфигурация первой эпидемии ЛДР в Египте в 1977 году. Зона вспышки северо-восточнее Каира в источнике отмечена затемнением. Рисунок из работы С.С. Peters с соавт. [1, стр. 412]

Figure 2: Configuration of the first RVF epidemic in Egypt in 1977. The outbreak area northeast of Cairo is marked by shading in the source. Figure from the work of C.J. Peters et al. [1, p. 412]

² Rift Valley fever: An emerging human and animal problem. WHO Offset Publ. Geneva; 1982. P. 63.

³ Technical guide for the diagnosis, prevention and control of Rift Valley fever in man and animals. WHO – EMRO Technical Publication. No. 8. Geneva; 1983.

⁴ Epidemic of Rift Valley fever in Egypt. Report from the Arbovirus research unit Egyptian organization for biological and vaccine production. Agouza, Cairo, Egypt. Arthropod-borne Virus Information Exchange. 1979;36:67–92.

⁵ Там же.

⁶ Там же.

⁷ Там же.

применения зараженных насекомых американской авиацией во время войны на Корейском полуострове в 1952 г. [21]. Анализ данных о направлении приземных ветров в районе близлежащего аэродрома Каира в период с 20 по 28.09.1977 г. показал, что в направлении, совпадающем с продольной осью зоны вспышки, был продолжительный ветер в ночь с 24 на 25 сентября, что может определить это время как момент первой аэрозольной биологической атаки. Соответственно, инкубационный период при этом составил 3 суток.

В сформировавшемся египетском очаге 1977 г. по первоначальным данным заболели от 18 тыс. до 200 тыс. человек. Последующий эпидемиологический анализ показал, что количество больных было много большим – от 1,5–2 до 9 млн человек [5, 22]. Появление инфекции севернее пустыни Сахара за тысячи километров от традиционных ее ареалов в литературе объяснено по-разному – в результате завоза зараженных верблюдов либо овец, или контаминированных продуктов питания (мясо, молоко), за счет переноса ветром инфицированных комаров и т.д.⁸ [5].

В 1978 г. в Египте зарегистрировано всего 114 случаев ЛДР [16], были единичные случаи инфекции среди солдат ООН и бедуинов в Синае [17]. В 1979 г. – 163 случая, в 1980 – 310 случаев [18], т.е. далее заболеваемость была спорадической, характерной для сформировавшихся эпидочагов ЛДР.

Экспансия ЛДР после эпидемии 1977 года

После 1977 г. ЛДР распространилась почти по всему африканскому континенту от 30° южной до 31° северной широты [23].

После заноса нового варианта вируса ЛДР в Египет в 1977 г. произошла экспансия этого возбудителя на новые территории – вначале в Саудовскую Аравию и Йемен [24, 25], а затем на северо-запад континента [7, 26]. Новые высокопатогенные штаммы вируса ЛДР, генетически производные от египетских, вытеснили в последующем нелетальные для человека штаммы возбудителя из Центральной и Южной Африки, вызывая эпидемии с летальностью до 40–50 % [23, 26–28]. Так, в 2006–2007 гг. вспышка, поразившая Судан, Кению, Сомали и Танзанию, привела к существенному падежу скота и гибели более 900 человек [24, 25]. В 2000 г. на Аравийском полуострове вспышки ЛДР в Саудовской Аравии и Йемене

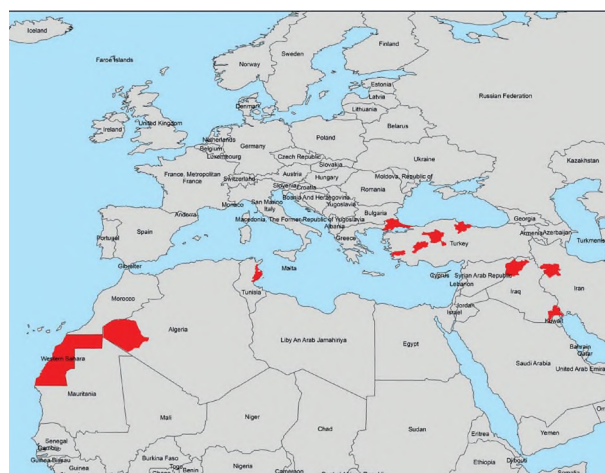


Рисунок 3 – Новые ареалы ЛДР в Африке (Алжир, Тунис, Западная Сахара) и Азии (Турция, Иран, Ирак) после эпидемии в Египте в 1977 г. Рисунок адаптирован автором из работы S.S. Nielsen с соавт. [7]

Figure 3: New geographic ranges of RVF in Africa (Algeria, Tunisia, Western Sahara) and Asia (Turkey, Iran, Iraq) following the 1977 epidemic in Egypt. Figure adapted by the author from S.S. Nielsen et al. [7]

привели к более чем 200 тыс. случаев инфицирования людей и 250 смертям среди них, а также падежу тысяч голов скота [29]. В последующие годы возбудитель проник в другие страны Западной Азии – Турцию, Иран, Ирак [30, 31], а также Западной Африки – Алжир, Тунис, Западную Сахару [7], сохраняя тенденцию к дальнейшему распространению. На рисунке 3 представлены по данным вирусологических и иммунологических исследований новые ареалы ЛДР в Африке и Азии после эпидемии в Египте в 1977 г.

В случае проникновения вируса ЛДР в субтропические регионы нашей страны возможно формирование там эпидочагов в связи с появлением в Закавказье комаров рода *A. aegypti* [32].

Проявления ЛДР у людей в эпидемии в Египте и в последующем

До 1975 г. ЛДР у людей протекала как гриппоподобная инфекция, не отягощенная летальными исходами [1, 2, 23, 33]. Первые случаи смерти людей от ЛДР (4 человека) и энцефалиты (12 случаев) были зарегистрированы во время небольшой вспышки в ЮАР и Zimbabwe в 1975 г. [20].

Патогенность вируса ЛДР для человека резко возросла, начиная с первой эпидемии в

⁸ Rift Valley fever: An emerging human and animal problem. WHO Offset Publ. Geneva; 1982. P. 63.

Technical guide for the diagnosis, prevention and control of Rift Valley fever in man and animals. WHO – EMRO Technical Publication. No. 8. Geneva; 1983.

Египте, когда заболевание приобрело геморрагический характер (кровавая рвота, кровавый стул, петехиальная сыпь) с поражением глаз и менингоэнцефалитами при общей летальности 3,3 %. Больные погибали в течение недели в результате острой печеночной недостаточности⁹. Летальность при менингоэнцефалитической форме заболевания составляла от 5 до 30 %. Энцефалитическая форма ЛДР при эпидемии в Египте протекала у больных от 50 до 70 суток. Ретиниты развивались в стадии реконвалесценции в результате васкулитов, кровоизлияний и тромбоза сосудов; в отдаленном периоде поражение зрения проявлялось в виде слепоты одного или обоих глаз у 1,5 % реконвалесцентов¹⁰ [5, 8, 11, 16–20, 23, 34].

У больных в Египте развивалась чрезвычайно высокая вирусемия (до 10^9 ЛД₅₀/мл), вирус выделялся с мочой и фекалиями, контактно передаваясь от человека человеку¹¹, что способствовало дальнейшей экспансии высоко патогенных штаммов возбудителя на запад Африки, а затем за пределы континента [23].

В последующем эпидемии ЛДР даже в старых ареалах протекали с весьма высокими заболеваемостью и летальностью. Так, в 1987 г. в Южной Мавритании эпидемия геморрагической ЛДР захватила около 3 % населения и протекала с летальностью 9,9 % [8]; в 2003 г. заболеваемость там составила 25,5 %, а летальность – до 44 % [26, 35, 36]. В Кении и Сомали в 1997–1998 гг. уровень летальности достигал 50 %, а количество заболевших оценивают свыше 90 тыс. человек¹² [23]; там же во время эпидемий 2006–2008 гг. летальность составила от 31,8 до 41 % [23], а по некоторым данным [27] – до 50 %. На Аравийском полуострове летальность при ЛДР в 2000 г. составила 25–30 % [23]. Заболеваемость населения ЛДР в отдельных странах достигала от 5 до 25,5 % [4, 23, 26]. Летальность во время эпидемии в ЮАР в 2010 г. составила 10 % [11].

Представленные материалы дают основание для вывода о скачкообразном повышении патогенности для людей новых штаммов вируса ЛДР, появившихся с 1977 г., то есть, с первой эпидемии в Египте. Эти новые генетически близкородственные штаммы [35] биологически и антигенно отличаются от ранее циркулировавших в Африке

[36]. Новые высокопатогенные штаммы вируса ЛДР с годами вышли из Египта и вытеснили старые нелетальные для людей штаммы из их прежних ареалов.

Генетические связи египетского штамма вируса ЛДР

Был проведен сравнительный анализ структуры фрагментов S, M и L геномов 31 штамма вируса ЛДР, выделенных в период с 1951 г. по 2007 г. на африканском континенте. Выявлено, что к египетскому штамму из числа циркулировавших до него, генотипически наиболее близок самый патогенный штамм Zimbabwe-1974 (изолят 2250/74), выделенный в Зимбабве в 1974 г., происходящий от штамма SA51 из Южной Африки (рисунок 4) [35].

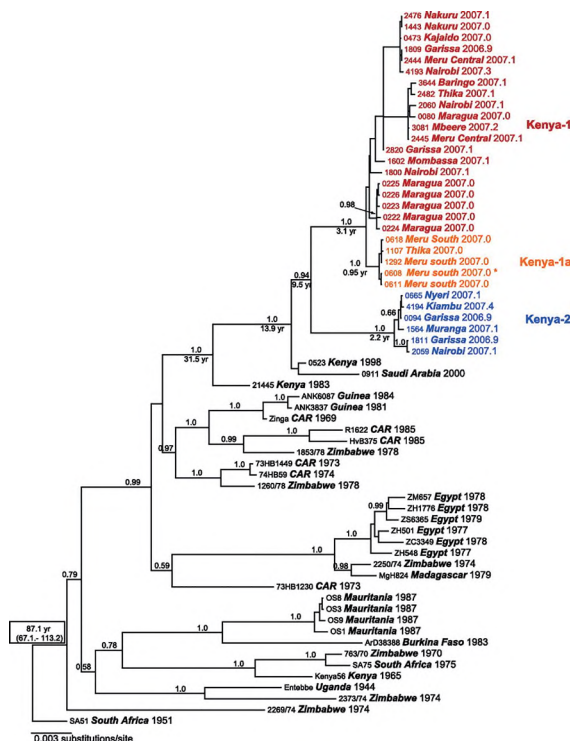


Рисунок 4 – Генетическое древо сегментов S, M и L геномов 31 штамма вируса ЛДР, выделенных в период с 1951 по 2007 годы. Рисунок адаптирован автором из работы B.H. Bird с соавт. [35]

Figure 4: Phylogenetic tree of the S, M, and L genome segments of 31 RVF virus strains isolated between 1951 and 2007. Figure adapted by the author from B.H. Bird et al. [35]

⁹ Rift Valley fever – Egypt, 1993. *Morbidity Mortal Wkly Rep.* 1994;43(38):15.

¹⁰ An outbreak of RVF, Eastern Africa, 1997–98. *Wkly Epidem Rec.* 1998;73(15):105–9.

Rift Valley fever. Saudi Arabia: Yemen. *Wkly Epidem Rec.* 2000;76(40):321.

¹¹ Epidemic of Rift Valley fever in Egypt. Report from the Arbovirus research unit Egyptian organization for biological and vaccine production. Agouza, Cairo, Egypt. *Arthropod-borne Virus Information Exchange.* 1979;36:67–92.

¹² An outbreak of RVF, Eastern Africa, 1997–98. *Wkly Epidem Rec.* 1998;73(15):105–9.

Сравнение методом фингерпринта геномов изолятов вируса ЛДР из Египта (в том числе, прототипного штамма ZH501) показало, что отсутствуют какие-либо различия в их больших (L) олигонуклеотидах, что доказывало, что в Египте в 1977–1978 гг. циркулировал один штамм [37].

ЛДР в эпидемии в Зимбабве в 1974–1975 гг. протекала впервые с единичной гибелью людей [20]. Несмотря на близкое генотипическое сходство с южноафриканским штаммом Zimbabwe-1974, египетский штамм стал существенно патогеннее для человека, а эпидемиологические характеристики ЛДР утяжелились. Возможен ли был естественный перенос этого наиболее близкородственного египетскому, вероятно, его предкового штамма за 2–3 года от Южного до Северного Тропика за 7,5 тыс. км, в том числе через 3 тыс. км пустыни Сахара, и при этом не оставив генетических следов такого «перехода»? Естественно, что нет.

Научно-технические предпосылки искусственного происхождения варианта вируса ЛДР и появления его в Египте в 1977 году

Рассмотрим некоторые итоги военно-биологической деятельности США к концу семидесятых годов, важные по совокупности в доказательном плане рукотворного происхождения ЛДР в Египте в 1977 г.

Работы с вирусом ЛДР в США. В медицинском институте армии США (US Army medical research institute of infection diseases. Fort Detrick, Frederick, Maryland – USAMRIID) в 1960–1970 гг. проводили исследования генетических, аэриобиологических свойств вируса ЛДР, разрабатывали методы его идентификации и диагностики заболевания, конструировали медицинскую вакцину и оценивали защитную эффективность противовирусных препаратов против данной инфекции, хотя этот возбудитель не актуален для американского континента. По данным из открытых публикаций, с вирусом ЛДР в USAMRIID в эти годы работали американские исследователи Bishop D.H.L., Meegan J.M., Shope R.E., Peters C.J., Anderson G.W., Watten R.H., Laughlin L.W., Eddy I.A., Meadores G., Cole F.E., Kcefer J.V., Lebarth I.L., Allen W.P., Reynolds I.A., Slone T., Harrington D., Stephen E.L., Erlick B.J., Rice R.M., Miller H., Brown J.L., Dominick J.W., Morrissey R.L., Klein F., Marchland B.G., Bonner U.B., Lincoln R.E. и другие.

В результате генетических преобразований были получены варианты вируса ЛДР с повышенной патогенностью, в том числе необычно высокопатогенные для крыс и ло-

шадей [36] (эти свойства характерны и для штамма ZH501 из Египта). Были проведены и другие работы по исследованию генома и его изменениям [38–42].

В USAMRIID были разработаны методы получения высококонцентрированных препаратов вирулентного штамма Van Wyck вируса ЛДР [43]. Были разработаны рецептурные формы и оценена стабильность вируса ЛДР при аэрозолировании. Определена поражающая эффективность аэрозоля для животных. Сравнительно определены поражающие дозы при других способах заражения [44]. Египетский штамм ZH501 сравнен по поражающей эффективности со штаммами из Уганды (Entebbe) и Южной Африки (SA-51 и SA-75). Определены их поражающие дозы [45].

В 1960-х гг. была разработана медицинская формолинированная культуральная вакцина NDBR*103, выпущенная корпорацией National Drug Company Division of Richardson-Merrell Inc. Волонтеры, на которых испытана вакцина – персонал USAMRIID. В начале 1977 г. (до вспышки ЛДР в Египте) партия № 6 этой вакцины (10 тыс. доз) была передана для вакцинации 104 американских сотрудников отряда NAMRU-3 в Египте и 2 тыс. шведских и канадских военнослужащих ООН в Синае [46]. На вакцину был получен патент [47]. В последующем о применении вакцины не сообщалось.

В USAMRIID была проведена оценка защитной эффективности от ЛДР иммунобиологических и химиотерапевтических препаратов – формолвакцины, иммунной сыворотки, гамма-глобулина, рибавирина, римантодина, изопринозина, тиосемикарбазона, глюкоза [48].

Диагностика ЛДР сложна и во вспышках в эндемичных регионах Африки занимала более 6 месяцев [1]. В то же время, в Египте в 1977 г. идентификация возбудителя в лаборатории американского военного отряда NAMRU-3 была проведена в течение 30 ч от поступления проб (сыворотки крови, кровь, промывные воды от больных людей) [49], что определенно доказывает заблаговременную осведомленность о виде инфекта.

Некоторые итоги военно-биологической деятельности США к концу семидесятых годов. Разработка БО. США, как и некоторые страны НАТО (Германия, Великобритания, Франция, Италия), а также Япония, начали разработку БО в начале тридцатых [50–52] и резко ее ускорили в середине сороковых годов прошлого века. Были созданы специализированные лаборатории в USAMRIID, перепрофилирован завод в Terr Ot для производства

технических средств применения БО и расширен Дагуэйский полигон; производство и хранение БО осуществляли в арсеналах Pain-Blaff и Rocky-Mountain¹³. При содействии Великобритании в США к концу 1940-х годов были созданы кассетные биологические бомбы, снаряженные рецептурами возбудителей сибирской язвы, бруцеллеза или ботулинического токсина [53]. В USAMRIID проводили разработки боевых рецептур бактериальных и вирусных возбудителей инфекций, в том числе на основе вируса ЛДР [52, 54]. Первым биологическим боеприпасом, принятым на вооружение армии США, была 500-фунтовая бомба M33, снаряженная 108 кассетами M144, содержащими по 300–400 г сухой или 320 мл жидкой рецептуры. Кассеты M115, снаряженные сибиреязвенной рецептурой, были применены в 1952 г. в Корее [21]. Биологическую 750-фунтовую кассетную бомбу E133R3 снаряжали полуфунтовыми боеприпасами E61R4 в количестве 544 штук. Были разработаны выливные авиационные приборы большой емкости A/B45Y-1, A/B45Y-4. В шестидесятых–семидесятых годах прошлого века были приняты на вооружение в США универсальные боеприпасы для диспергирования биологических, химических или радиоактивных агентов [55]. Носителями биологических боеприпасов были самолеты F-100, F-105, F4C, беспилотный летательный аппарат MQM58A, реактивные снаряды, тактические ракеты «Сержант»¹⁴ [52]. Таким образом, к интересующему нас моменту – 1977 г., США располагали всеми компонентами проведения биологической атаки, в том числе с использованием боеприпасов с вирусом ЛДР.

Сеть военно-биологических лабораторий NAMRU. Начиная с сороковых годов прошлого века в Африке, Южной и Центральной Америках, Юго-Восточной Азии и в Океании под эгидой военно-морского флота США создаются военно-биологические лаборатории (Naval Medical Research Unit – NAMRU), предназначенные для сбора возбудителей особо опасных заболеваний, выявления региональной заболеваемости ими, испытаний средств диагностики и т.д. Военно-морское медицинское исследовательское подразделение номер 3 (NAMRU-3), является крупнейшей зарубежной лабораторией Министерства войны США, официально созданной в Каире в 1946 г. Другая крупная

зарубежная исследовательская лаборатория Военно-морского командования медицинских исследований и разработок – NAMRU-2 расположена в Джакарте, Индонезия, с отделением в Маниле и отделением Военно-морского медицинского исследовательского института в Лиме, Перу. Аналогичные зарубежные исследовательские лаборатории армии США дислоцированы в Таиланде, Бразилии, Корее и Кении. Лаборатории NAMRU принадлежат сети GEIS (Global Emerging Infections Surveillance and Response System) Министерства войны США. Они находятся в прямом контакте с CDC, Центрами по контролю заболеваний [56–59].

Военно-биологический отряд NAMRU-3 принимал оперативное участие в эпидситуации с ЛДР в Египте в 1977 г.¹⁵ [1, 20, 22, 48, 49, 60]. В настоящее время NAMRU-3 – одна из ведущих организаций, исследующих в том числе коронавирусы с 2013 г. (MERS-CoV). Подразделение оказывало совместную исследовательскую поддержку Министерству здравоохранения, CDC, ВОЗ и Агентству США по международному развитию во время вспышки лихорадки Эбола в Либерии в 2014 г. [56–59]. В 2019 г. отряд передислоцирован на американскую военно-морскую авиабазу в Италии для продолжения исследований особо опасных патогенов.

Данные факты показывают, что США последовательно наращивают свой биологический потенциал и усиливают контроль над биологической ситуацией в различных регионах мира.

Военно-политическая ситуация на Ближнем Востоке в середине прошлого века и вероятная устрашающая роль биологической атаки в ее урегулировании

Во второй половине XX века при патрунаже Израиля США напряженность политической обстановки на Ближнем Востоке постоянно росла. Шестидневная арабо-израильская война 1967 г. довела до предела накал политического противостояния в регионе. Практически сразу после окончания Шестидневной войны началась так называемая Война на истощение, заключавшаяся во взаимных обстрелах территорий и авианалетах, а также экономическая и политическая блокада Израиля исламским миром, параллельно с которой арабами велась усиленная подготовка к новой войне-реваншу.

¹³ Report from the United States of America. *Office of Disarmament Affairs*. NY; 1992. DDA/4-92/BW111. P. 252–428.

¹⁴ *Biological aerosol test facility. Dugway proving ground*. Department of the Army. DPG; 1988.

¹⁵ Epidemic of Rift Valley fever in Egypt. Report from the Arbovirus research unit Egyptian organization for biological and vaccine production. Agouza, Cairo, Egypt. *Arthropod-borne Virus Information Exchange*. 1979;36:67–92

6 октября 1973 г. Израиль был внезапно атакован на всех фронтах. С обеих сторон сражались более 1,5 млн военнослужащих, 7 тыс. танков, более 2 тыс. боевых самолетов и вертолетов, около 6 тыс. артиллерийских орудий и минометов. 22 октября 1973 г. между воюющими сторонами было подписано перемирие, и боевые действия на Голанских высотах закончились¹⁶ [61, 62].

Формально завершил состояние войны между Египтом и Израилем, сохранявшееся с конца 1940 гг., мирный договор, заключенный при посредничестве президента США Дж. Картера, 17.09.1978 г. в Кэмп-Дэвиде, США. Первая встреча президента Египта А. Садата и премьер-министра Израиля М. Бегина по этому вопросу состоялась в ноябре 1977 г.¹⁷ – представляется, что она произошла под воздействием массовых поражений в сентябре–октябре 1977 г. египетских военных вирусом ЛДР и развитием масштабной эпидемии. Последнее может быть расценено как вероятная американо-израильская устрашающая биологическая атака, предпринятая для силового урегулирования региональной военно-политической ситуации.

Обсуждение

Казалось бы, что в отдаленном прошлом не осталось неизвестным чего-либо масштабного и значимого в плане биологической агрессии, однако, становятся явными все новые и новые факты этой деятельности. Так, анализ доступной научной литературы позволяет по совокупности значимых данных доказать причастность США к искусственному происхождению эпидемии лихорадки долины Рифт в Египте в 1977 г.

Военно-биологическая деятельность США исторически реализуется по нескольким направлениям, основные из которых – разработка теории и практики биологической войны, реализованная к началу пятидесятих годов прошлого века созда-

нием БО (боевых рецептур, боеприпасов и средств доставки), организация с сороковых годов прошлого века зарубежных военно-биологических лабораторий, создание в последние десятилетия практически во всех бывших советских республиках десятков медико-биологических лабораторий у западных и южных границ нашей страны [63]. В конце 1940-х гг. Т. Rosebury и Е. Kabat были разработаны основы военной доктрины применения БО: должны применяться заболевания, неизвестные в данной местности, незнакомые местным органам здравоохранения, способом, отличным от естественного его распространения [64]. Эти и другие направления военно-биологической деятельности США в совокупности с гегемонистской политикой государства явились основой для скрытного применения ими биологического оружия в Египте в 1977 г. при «защите» своего союзника – Израиля.

Об особом месте ЛДР среди вирусных инфекций свидетельствуют следующие факты. Международное эпизоотическое бюро (фр. Office International des Epizooties) в 2007 г. из 78 зоонозных заболеваний отнесло к числу особо опасных и экономически значимых болезней животных, имеющих тенденцию к трансграничному распространению, 15 вирусных инфекций, в том числе – ЛДР [65]. Всемирная организация здравоохранения в 2015 г. определила ЛДР в качестве приоритета исследований из-за его широкого векторного тропизма, а так же серьезного воздействия на людей и сельскохозяйственных животных¹⁸. Возбудитель ЛДР многие эксперты оценивают, (как наиболее патогенный арбовирус¹⁹ [15, 66–68]), одним из наиболее вероятных агентов БО²⁰ [23, 36, 51, 52, 54, 55, 66].

Представленные материалы свидетельствуют об эпизоотических различиях ЛДР и свойств ее возбудителя до и после эпидемии 1977 г. в Египте. Прежде всего, вирус ЛДР резко изменился от мало- до высокопатогенного для человека, вызывающего

¹⁶ Arab-Israeli crisis and war, 1969–1976. *Foreign Relations of the United States*. Keefer EC, Ed. Washington: Office of the Historian. Department of state; 2011.

Gawrych GW. *The albatross of decisive victory: War and policy between Egypt and Israel in the 1967 and 1973 Arab-Israeli Wars*. Greenwood Publishing Group; 2000.

¹⁷ Большая российская энциклопедия. Т. 16. М.; 2010. С. 518.

¹⁸ <https://www.who.int/publications/m/item/blueprint-for-rd-preparedness-and-response-to-public-health-emergences-due-to-highly-infectious-pathogens> (дата обращения: 07.03.2025).

¹⁹ *Rift Valley fever: An emerging human and animal problem*. WHO Offset Publ. Geneva; 1982. P. 63.

²⁰ *Rift Valley fever: An emerging human and animal problem*. WHO Offset Publ. Geneva; 1982. P. 63.

Technical guide for the diagnosis, prevention and control of Rift Valley fever in man and animals. WHO – EMRO technical publication. No 8. Geneva; 1983.

Biological aerosol test facility. Dugway proving ground. Department of the Army. DPG; 1988.

тяжелое геморрагическое заболевание с высокой заболеваемостью (до 25,5 %) и летальностью (от 0 возросла до 30 %), приблизившись в этом отношении к возбудителям африканских лихорадок Марбург, Эбола и Ласса, существенно усиливая эпидемиологическую и социальную значимости данной инфекции. Высокопатогенный для человека вирус ЛДР начал циркулировать не только в новых зоогеографических регионах, но и на традиционных местах инфекции (ЮАР, Кения, Сомали). Эпидемия ЛДР 1977 г. в Египте началась взрывообразно и, в отличие от других вспышек, предшествовала эпизоотии, однако во всех последующих вспышках (как и в предыдущих) начало было постепенным, после эпизоотий.

В египетской и последующих эпидемиях заболевание у людей было с геморрагическими (до 66,7 %), неврологическими (до 28 %) проявлениями и поражением глаз (до 16 %), что ранее было весьма редким. Появившейся контагиозности инфекции способствовал высокий уровень вирусемии у людей – от 10^8 до 10^9 ЛД₅₀/мл (ранее – не выше 10^5 ЛД₅₀/мл).

Новые штаммы вируса ЛДР стали патогенными для лошадей, но в то же время, патогенность возбудителя для других сельскохозяйственных животных осталась на прежнем уровне²¹ [3, 34]. Возбудитель приобрел повышенную вирулентность для мелких лабораторных животных, изменил антигенные характеристики и другие свойства [5, 8, 36].

Представленные сведения показывают, что по эпидемиологическим, клиническим и вирусологическим показателям ЛДР, начиная с эпидемии 1977 г. в Египте, существенно утя-

желила свои характеристики по сравнению с предыдущими вспышками, а ее возбудитель получил весьма выраженный эпидемиологический потенциал, позволивший ему распространиться по всей Африке и выйти за ее пределы.

В целом, анализ сведений об эпидемии ЛДР в Египте в 1977 г. показывает, что ее характеристики во многом соответствуют критериям «неправильной эпидемиологии болезни» [53, таблица 2.1], доказывающим ее искусственное происхождение.

Выводы

1. Эпидемия ЛДР в Египте в 1977 г. была искусственно инициирована биологической атакой на два военных египетских лагеря в период обострения конфронтации между Египтом и Израилем.

2. Использованный при нападении высокопатогенный штамм возбудителя был сконструирован в USAMRIID, скорее всего, на основе южноафриканского штамма Zimbabwe-1974.

3. Занос генетически измененного штамма вируса ЛДР в северо-восточную Африку привел при высоких заболеваемости и летальности к распространению этого возбудителя за пределы континента и вытеснению им менее патогенных штаммов практически на всем африканском континенте.

4. Вспышка ЛДР в Египте и последующее распространение высокопатогенного, вероятно, искусственно полученного варианта возбудителя является наглядным примером опасности военно-биологической деятельности США для мирового сообщества.

²¹ An outbreak of RVF, Eastern Africa, 1997–98. *Wkly Epidem Rec.* 1998;73(15):105–9.

Ограничения исследования / Limitations of the study

Обусловлены анализом только открытых научных источников, доступных в библиотеках или через сеть Интернет / The limitations are stipulated by the analysis of open scientific sources available on the libraries or Internet (only).

Список источников / References

1. Peters CJ, Meegan JM. Rift valley fever. In: *CRC Handbook series in Zoonoses*. Steele JH, Ed. Section B: *Viral zoonoses*. Vol. I. Beran GW, Ed. CRC Press; 1981. P. 403–20.
2. Easterday BC. Rift valley fever. *Adv Vet Sci.* 1965;10:65–127.
3. Pretorius A, Oelofsen MJ, Smith MS. Rift Valley fever virus: A seroepidemiologic study of small terrestrial vertebrates in South Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;57(6):693–8.
4. LaBeaud AD, Muchiri EM, Ndzovu M. Interepidemic Rift valley fever virus seropositivity, Northeastern Kenya. *Em Inf Dis.* 2008;14(8):1240–6.
5. Swartz TA, Ed. *Rift valley fever*. New York; 1980.
6. Dohm DJ, Rowton ED, Lawyer PG. Laboratory transmission of Rift valley fever virus by *Phlebotomus dubosqi*, *Phlebotomus papatasi*, *Phlebotomus sergenti* and *Sergentomyia schwetzi* (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol.* 2000;37(3):435–8.

7. Nielsen SS, Alvarez J, Bicout DJ. Rift Valley fever – epidemiological update and risk of introduction into Europe. *EFSA J.* 2020;18(3):6041–112.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6041>
8. Jonan A. Epideme de fièvre virale hemorrhagique: formes neurologiques. *Med Armless.* 1991;6:427–32.
9. McIntosh BM. Rift valley fever. *J S Afr Vet Assoc.* 1973;44(1):57–60.
10. Meegan JM, Khalil JM, Hoodstraal H. Experimental transmission and field isolation studies implicating *Culex pipiens* as a vector of RVF in Egypt. *Am J Trop Med Hyg.* 1980;29(6):1405–10.
11. Pepin M, Bouloy M, Bird BH. Rift valley fever virus (Bunyaviridae: Phlebovirus): An update on pathogenesis, molecular epidemiology, vectors diagnostics and prevention. *Vet Res.* 2010;41(6):61–101.
12. Prozesky OW. Prospects and approaches for control of Rift valley fever. In: *Proceedings of a workshop in Rift valley fever. Herzlia, Israel. March 18–21.* 1980. Swartz TA, Klingberg MA, Goldblum N, Karger S, Eds. *Contribution to epidemiology and biostatistics.* Vol. 3. Basel; 1980. P. 151–8.
13. Steyn YY, Schulz KH. *Aedes (Ochleratus) caballus* Th., the South African vector of Rift valley fever. *S A Med J.* 1955;29:1114–20.
14. Weinbren M, Williams M, Haddaw A. Isolation of the untypical strain of RVF virus in Lunyo on Entebbe. *S A Med J.* 1957;3:951–60.
15. Gad AM, Farid A, Ramzy RRM. Host feeding of mosquitoes (*Diptera: Culicidae*) associated with the recurrence of Rift Valley fever in Egypt. *J Med Entomol.* 1999;36(6):709–14.
16. Imam IZE, El-Karamani R, Omar F, El-Kafrawy O. Rift valley fever in Egypt. *J Egypt Publ Health Assoc.* 1981;LVI(5–6):356–83.
17. Meegan JM. Rift valley fever in Egypt on the epizootics in 1977 and 1978. In: *Proceedings of a workshop in Rift Valley fever. Herzlia, Israel. March 18–21.* 1980. Swartz TA, Klingberg MA, Goldblum N, Karger S, Eds. *Contribution to epidemiology and biostatistics.* Vol. 3. Basel; 1980. P. 101–14.
18. El-Akked AM. Recent epidemiological studies of Rift valley fever in Egypt from 1978–1980. *J Egypt Publ Health Assoc.* 1981;LVI(5–6):351–5.
19. El-Akked AM. Rift valley fever in Egypt. Oktober–December 1977. *J Egypt Pub. Health Assoc.* 1978;LIII(3–4):123–28.
20. Meegan JM, Watten RH, Laughlin LW. Clinical experience with Rift valley fever in humans during the 1977 Egyptian epizootic. In: *Proceedings of a workshop in Rift valley fever. Herzlia, Israel. March 18–21.* 1980. Swartz TA, Klingberg MA, Goldblum N, Karger S, Eds. *Contribution to epidemiology and biostatistics.* Vol. 3. Basel; 1980. P. 114–24.
21. Needham J, Ed. *Report of the International Scientific Commission for the Investigation of the Facts Concerning Bacterial Warfare in Korea and China.* Peking; 1952.
22. Watten RH, Laughlin LW. Clinical experience with Rift valley fever in humans during the 1977 Egyptian epizootic. In: *Proceedings of a workshop in Rift valley fever. Herzlia, Israel. March 18–21.* 1980. Swartz TA, Klingberg MA, Goldblum N, Karger S, Eds. *Contribution to epidemiology and biostatistics.* Vol. 3. Basel; 1980. P. 213–218.
23. Kwaśnik M, Rożek W, Rola J. Rift Valley fever is a growing threat to humans and animals. *J Vet Res.* 2021;65(1):7–14.
<https://doi.org/10.2478/jvetres-2021-0009>
24. Ahmad K. More deaths from Rift Valley fever in Saudi Arabia and Yemen. *Lancet.* 2000;356:1422.
25. Balkhy HH, Memish ZA. Rift Valley fever: an uninvited zoonosis in the Arabian Peninsula. *Int J Antimicrob Agents.* 2003;21:153–7.
26. Faye O, Diallo M, Diop D. Rift valley fever outbreak with East-Central African virus lineage in Mauritania, 2003. *Em Inf Dis.* 2007;13(7):1016–23.
27. Njenga MK, Paweska J, Wanjala R. Using a field quantitative real-time PCR test to rapidly identify highly viremic Rift valley fever cases. *J Clin Microbiol.* 2009;47(4):1166–71.
28. Nanyingi MO, Munyua P, Kiama SG. A systematic review of Rift Valley fever epidemiology 1931–2014. *Infect Ecol Epidemiol.* 2015;31(5):28024.
<https://doi.org/10.3402/iee.v5.28024>
29. Murithi RM, Munyua P, Ithondeka PM. Rift Valley fever in Kenya: History of epizootics and identification of vulnerable districts. *Epidemiol Infect.* 2011;139:372–80.
30. Fakour S, Naserabadi S, Ahmadi E. The first positive serological study on Rift Valley fever in ruminants of Iran. *J Vector Borne Dis.* 2017;54:5.
31. Bird BH, Khristova ML, Rollin PE. Complete genome analysis of 33 ecologically and biologically diverse Rift Valley fever virus strains reveals widespread virus movement and low genetic diversity due to recent common ancestry. *J Virol.* 2007;81:2805–16.
32. Маркин ВА, Марков ВИ, Пантюхов ВБ. Лихорадка долины Рифт. *ЖМЭИ.* 2012;5:95–103.

- Markin VA, Markov VI, Pantyukhov VB. Rift Valley fever. *J Microb Epidem Immunobiol*. 2012;5:95–103 (in Russian).
33. Erlick BJ, Rice RM, Miller H, Peters CJ. Biochemical characterization of isolation of Rift valley fever virus. *Arthropod-borne virus information exchange*. Number 37. Sept. 1979. P. 49–52.
34. Nabeth P, Yacouba K, Abdalahi MO. Rift valley fever outbreak, Mauritania, 1998: Seroepidemiologic, virology, entomologic, and zoologic investigations. *Em Inf Dis*. 2001;7(6):1052–4.
35. Bird BH, Githinji JW, Macharia JM Multiple virus lineages sharing recent common ancestry were associated with a large Rift Valley fever outbreak among livestock in Kenya during 2006–2007. *J Virol*. 2008;82(22):11152–66. <https://doi.org/10.1128/JVI.01519-08>
36. Meegan JM, Shope RE. Emerging concept of Rift valley fever virus. In: *Perspectives in virology*. XI. NY; 1981. P. 267–87.
37. Gash P, Robesom G, Erlich BI, Bishop DHL. Biochemical characterization of Rift valley fever and other Phlebotomus fever group viruses. In: *Proceedings of a workshop in Rift valley fever*. Herzlia, Israel. March 18–21. 1980. Swartz TA, Klingberg MA, Goldblum N., Karger S, Eds. *Contribution to epidemiology and biostatistics*. Vol. 3. Basel; 1980. P. 1–21.
38. Kitchen SF. The development of neurotropism in Rift valley fever virus. *Ann Trop Med Parasitol*. 1980;44:132–45.
39. Pringle CR, Lees JF, Clark C. Genome subunits reassortment among bunyaviruses, analyzed by dot hybridization molecularly cloned complementary DNA probes. *Virology*. 1984;135(5):244–56.
40. Pringle CR, Troegbu CM. A mutant identifying a third recombination group in a bunyaviruses. *J Virol*. 1982;42(31):873–9.
41. Peters CJ, Anderson GW. Pathogenesis of Rift valley fever. In: *Proceedings of a workshop in Rift valley fever*. Herzlia, Israel. March 18–21. 1980. Swartz TA, Klingberg MA, Goldblum N., Karger S, Eds. *Contribution to epidemiology and biostatistics*. Vol. 3. Basel; 1980. P. 21–41.
42. Rosen EL, Conseker P, Shope RE. Attenuation of virulence of bunyaviruses involving an L-RNA defect and isolation of LAC/SSH/LAC and LAC/SSH/SSH reassortants. *Virology*. 1981;111(1):125–38.
43. Klein F, Marchland BG, Bonner UB, Lincoln RE. Ultrafiltration as a method for concentrating of Rift valley fever virus grown in tissue culture. *Appl Microbiol*. 1971;21(4):758–60.
44. Kcefer JV, Lebarth IL, Allen WP. Susceptibility of dogs and cats to Rift Valley fever by inhalation or ingestion of virus. *J Inf Dis*. 1972;125(3):307–9.
45. Brown JL, Dominick JW, Morrissey RL. Respiratory infectivity of a recently isolated Egyptian strain of Rift valley fever virus. *Infect Immun*. 1981;33(3):848–53.
46. Eddy IA, Peters CJ, Meadores G, Cole FE. Rift valley fever vaccine for humans. In: *Proceedings of a workshop in Rift Valley fever*. Herzlia, Israel. March 18–21. 1980. Swartz TA, Klingberg MA, Goldblum N., Karger S, Eds. *Contribution to epidemiology and biostatistics*. Vol. 3. Basel. 1980. P. 124–41.
47. Collet MS, Purchio AF. Vaccines against Rift valley fever virus. Patent US4735800; A 61 K 39/12, C 12 P 21/40; 1984.
48. Peters CJ, Meadores G, Reynolds I.A. Protection from Rift valley fever virus infection. *Arthropod-borne virus information exchange*. Number 37. Sept. 1979. P. 39.
49. Meegan J, Counverse J, Wond O. Identification of virus from human outbreaks. *World reference center for arboviruses. Annual report*. Oct. 19; 1978. P. 11.
50. Розбери Т. *Мур и чума*. М.; 1956.
- Rosebury T. *The World and the Plague*. Moscow; 1956 (in Russian).
51. Harris R, Paxman J. *A higher form of killing: The secret story of chemical and biological warfare*. NY: Hill and Wang; 1982.
52. Hersh S. *Chemical and biological warfare: Americas hidden arsenal*. NY: The Bobbs Merrill Company. Indianapolis; 1967.
53. Супотницкий МВ. Биологическая война. Введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений. М.: «Русская панорама»; 2013.
- Supotnitskiy MV. *Biological warfare. Introduction to the epidemiology of artificial epidemic processes and biological lesions*. Moscow: "Russian Panorama"; 2013.
54. Geissler E, Ed. *Biological and toxin weapons today*. SIPRI. Oxford University Press; 1986.
55. Sidell FR, Tafuqi ET, Franc TR, Eds. *Medical aspects of chemical and biological warfare*. Washington; 1997.
56. Hibbs RG Jr. NAMRU-3: Forty-six years of infectious disease research. *Mil Med*. 1993;158(7):484–8. PMID: 8351052.
57. Gambel JM, Hibbs RG Jr. U.S. military overseas medical research laboratories. *Mil Med*. 1996;161(11):638–45. PMID: 8961715.
58. Yingst S. A veterinary comparative medicine officer's dream assignment. *US Army Med Dep J*. 2007; Jul-Sep; P. 38–43. PMID: 20091982.

59. Pandolf KB, Francesconi R, Sawka MN United States Army Research Institute of Environmental Medicine: War fighter research focusing on the past 25 years. *Adv Physiol Educ.* 2011;35(4):353–60. <https://doi.org/10.1152/advan.00049.2011>
60. Bress P. Prevention of the speed of Rift valley fever from the African continent. In: *Proceedings of a workshop in Rift Valley Fever. Herzlia, Israel. March 18–21. 1980.* Swartz TA, Klingberg MA, Goldblum N., Karger S, Eds. *Contribution to epidemiology and biostatistics.* Vol. 3. Basel; 1980. P. 178–90.
61. O'Ballance E. *No victor, No vanquished: The Arab-Israeli war, 1973.* Presidio Press. 1996.
62. Shlaim Avi. *The Iron Wall: Israel and the Arab World.* 2001. W.W. Norton & Company. ISBN 0-393-32112-6. ISBN 0-393-04816-0.
63. Лакота Я. Военно-биологические лаборатории США в государствах бывшего СССР (англ.). *Вестник войск РХБ защиты.* 2022;6(1)28–43. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-1-28-43>
- Lakota J. U.S. Biowarfare Labs in Post-Soviet States. *Journal of NBC Protection Corps.* 2022;6(1)28–43. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-1-28-43>
64. Rosebury T, Kabat EA. Bacterial warfare, a critical analysis of the available agents, their possible military applications, and the means for protection against them. *J Immunology.* 1947;1:7–96.
65. Бакулов ИА, Вологина ИВ. Эпизоотическая ситуация по особо опасным болезням животных в 2007–2008 гг. *Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных.* ВНИИВВиМ. Покров; 2008. С. 6–13.
- Bakulov IA, Vologina IV. Epizootic situation of especially dangerous animal diseases in 2007-2008. *Problems of prevention and control of especially dangerous, exotic and poorly studied infectious animal diseases.* VNIIVVM. Pokrov; 2008. P. 6–13 (in Russian).
66. Gjnzales-Scarano F, Natanson N. Bunyaviridae. In: *Fields virology.* Vol. Bernard IN, Knipe DM, Howley PM, Eds. Lippincott; 1996. P. 1473–504.
67. Маркин ВА, Марков ВИ. Вирусные геморрагические лихорадки – эволюция эпидемического потенциала. *ЖМЭИ.* 2002;1:91–8.
- Markin VA, Markov VI. Viral hemorrhagic fevers – the evolution of epidemic potential. *J Microb Epidem Immunobiol.* 2002;1:91–8 (in Russian).
68. Книзе АВ, Дмитриенко НВ, Стрижаков АА. Эволюция эпизоотической ситуации по лихорадке долины Рифт. *Ветеринарные и медицинские аспекты зооантропозов.* ВНИИВВиМ. Покров; 2003. С. 93–8.
- Knise AV, Dmitrienko NV, Strizhakov AA. Evolution of the epizootic situation of Rift Valley fever. *Veterinary and medical aspects of zoonanthroposes.* VNIIVVM. Pokrov; 2003. P. 93–8 (in Russian).

Вклад автора / Author' contribution

Разработка концепции статьи; сбор, анализ и систематизация научной литературы; написание статьи / Elaboration of the concept of the paper; collection, analysis, and systematization of scientific literature; writing and edition of paper.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторе/ Author

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации. 141306, Московская область, город Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11.

Маркин Владимир Александрович, д-р мед. наук, ст. науч. сотр., ведущий научный сотрудник.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5996-3985>

Контактная информация автора: Маркин Владимир Александрович; vamarkin72@gmail.com

48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Oktyabrskaya str., 11, Sergiev Posad-6 141306, Moscow Region, Russian Federation.

Vladimir A. Markin. Dr Sci. (Med.), Senior research, leading research fellow.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5996-3985>

Contact information for author: Vladimir A. Markin; vamarkin72@gmail.com



Нанопоровое секвенирование: теория и практика

А.А. Петров¹, А.М. Ермаков^{2,3✉}, Д.П. Белозеров¹, М.Ю. Павлюков¹,
М.И. Солдатенкова¹, Д.А. Кутаев¹, С.В. Борисевич^{1✉}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации
141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11
✉ e-mail: 48cnii@mail.ru

²ООО «Нанопорус»
142201, Российская Федерация, Московская обл., г. Серпухов, ул. Сиреневая, д. 8

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук
142290, Российская Федерация, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 3
✉ e-mail: beoluchi@yandex.ru

Основные моменты

- проведено сравнительное исследование пригодности отечественной платформы «Нанопорус» и зарубежного аналога MinION для решения задач войск РХБ защиты;
- доказана сопоставимая эффективность платформы «Нанопорус» после применения алгоритмов пост-обработки;
- ключевые преимущества платформы «Нанопорус»: экономическая эффективность и возможность автономной работы.

Актуальность. Обусловлена необходимостью развития отечественных технологий для оперативной идентификации патогенных биологических агентов (ПБА) в полевых условиях войсками РХБ защиты ВС РФ.

Цель исследования – комплексный обзор теоретических основ и практического использования технологии нанопорового секвенирования, а также перспектив ее внедрения в войсках РХБ защиты ВС РФ.

Материалы и методы. Сравнивали качество сборки геномов систем секвенирования «Нанопорус» (Нанопорус, Россия) и MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). В качестве биологической модели использовали референсный штамм *E. coli* XL1-Blue (Евроген, Россия). Проведено экспериментальное нанопоровое секвенирование с выделением ДНК, подготовкой библиотек и последующей биоинформатической обработкой данных с использованием инструментов Flye и Medaka. Анализ полноты и точности сборки генома – по показателям N50 и Q-score.

Результаты. Показано, что отечественная платформа «Нанопорус» обеспечивает высокое качество сборки геномов, сопоставимое с результатами, полученными на системе MinION, но при значительно меньших эксплуатационных затратах. Платформа компактна и пригодна для автономной работы в полевых условиях.

Заключение. Платформа «Нанопорус» перспективна для интеграции в состав мобильных лабораторий войск РХБ защиты ВС РФ и может быть использована для решения задач идентификации ПБА.

Ключевые слова: MinION; Oxford Nanopore Technologies; биоинформатика; геномные исследования; диагностика; молекулярная биология; нанопоровое секвенирование; подготовка образцов; программное обеспечение; система секвенирования «Нанопорус»

Для цитирования: Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В. Нанопоровое секвенирование: теория и практика. Вестник войск РХБ защиты. 2025;9(4):383–398. EDN:qbatqs.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-383-398>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

© А.А. Петров, А.М. Ермаков, Д.П. Белозеров, М.Ю. Павлюков, М.И. Солдатенкова, Д.А. Кутаев, С.В. Борисевич, 2025

Конфликт интересов: А.М. Ермаков является сотрудником ООО «Нанопорус». Это не повлияло на процесс рецензирования и окончательное решение.

Использование искусственного интеллекта: при подготовке рукописи не применялись методы искусственного интеллекта.

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации.

Поступила 11.06.2025 г. После доработки 16.08.2025 г. Принята к публикации 27.12.2025 г.

Nanopore sequencing: theory and practice

Aleksandr A. Petrov¹, Artem M. Ermakov^{2,3✉}, Denis P. Belozеров¹,
Mikhail Yu. Pavlyukov¹, Maria I. Soldatenkova¹, Dmitriy A. Kutaev¹,
Sergey V. Borisevich^{1✉}

¹48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Oktyabrskaya Street, 11, Sergiev Posad-6 141306, Russian Federation
✉ e-mail: 48cnii@mil.ru

²Nanoporus LLC
Sirenevaya Street, 8, Serpukhov 142201, Moscow region, Russian Federation

³Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences
Institutskaya Street, 3, Pushchino 142290, Moscow Region, Russian Federation
✉ e-mail: beoluchi@yandex.ru

Highlights

A comparative study was conducted on the suitability of the domestic "Nanoporus" platform and its foreign counterpart, MinION, for solving the tasks of the NBC Protection Corps.

The comparable effectiveness of the "Nanoporus" platform was demonstrated after applying post-processing algorithms. Key advantages of the "Nanoporus" platform are its cost-effectiveness and capability for autonomous operation.

Relevance. The study is determined by the need to develop domestic technologies for the rapid identification of pathogenic biological agents (PBA) in field conditions by the NBC Protection Corps.

Purpose of the study is a comprehensive review of the theoretical foundations and practical applications of nanopore sequencing technology, as well as the prospects for its implementation in the NBC Protection Corps of the Russian Armed Forces.

Materials and Methods. The quality of genome assemblies from the "Nanoporus" (Nanoporus, Russia) and MinION (Oxford Nanopore Technologies, UK) sequencing systems was compared. The reference strain *E. coli* XL1-Blue (Evrogen, Russia) was used as the biological model. Experimental nanopore sequencing was performed, including DNA extraction, library preparation, and subsequent bioinformatic data processing using the Flye and Medaka tools. Genome assembly completeness and accuracy were analyzed based on N50 and Q-score metrics.

Results. It was shown that the domestic "Nanoporus" platform provides high genome assembly quality, comparable to the results obtained with the MinION system, but at significantly lower operational costs. The platform is compact and suitable for autonomous operation in field conditions.

Conclusion. The "Nanoporus" platform is promising for integration into the mobile laboratories of the NBC Protection Corps of the Russian Armed Forces and can be used for solving PBA identification tasks.

Keywords: bioinformatics; diagnostics; genomic research; molecular biology; nanopore sequencing; Nanoporus sequencing system; sample preparation; software; MinION; Oxford Nanopore Technologies

For citation: Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozеров D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V. Nanopore sequencing: theory and practice. *Journal of NBC Protection Corps.* 2025;9(4):383–398. EDN:qbatqs.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-383-398>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: A.M. Ermakov is an employee of Nanoporus LLC. These facts have not affected review process and final decision.

AI use: No artificial intelligence methods were used in the preparation of the manuscript.

Funding: 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation.

Received: June 11, 2025. Revised August 16, 2025. Accepted: December 27, 2025.

В настоящее время нанопоровое секвенирование рассматривается как одна из наиболее перспективных технологий геномного анализа. Его ключевым преимуществом является возможность получения длинных чтений, что позволяет корректно реконструировать сложные геномы и выявлять структурные вариации, критически значимые при исследовании различных заболеваний [1].

Технология обеспечивает анализ в реальном времени, что особенно важно при идентификации ПБА. В условиях пандемии COVID-19 нанопоровое секвенирование продемонстрировало высокую эффективность в отслеживании мутаций вируса и оценке их эпидемиологического значения [2]. Дополнительным преимуществом является низкая стоимость, делающая метод доступным даже в лабораториях с ограниченными ресурсами, включая развивающиеся страны [3]. В отличие от традиционных технологий секвенирования, нанопоровое секвенирование может выполняться в полевых условиях, что существенно расширяет его применение в микробиологии и экологии [4]. Развитие алгоритмов обработки данных повышает точность и воспроизводимость метода [5].

Актуальность исследования обусловлена необходимостью развития отечественных технологий для оперативной идентификации ПБА в полевых условиях войсками РХБ защиты ВС РФ.

Цель исследования – комплексный обзор теоретических основ и практического использования технологии нанопорового секвенирования, а также перспектив ее внедрения в войсках РХБ защиты ВС РФ.

Задачами данного исследования являлось:

- проведение сравнительного анализа параметров качества нанопорового секвенирования, включая длину ридов¹, показателя качества Q и точность сборки генома;
- оценка возможностей отечественного секвенатора «Нанопорус» для бейзколинга² и первичной обработки данных в сравнении с зарубежной системой MinION;
- определение практической применимости системы «Нанопорус» для идентификации ПБА и перспектив ее внедрения в войсках РХБ защиты ВС РФ.

Теоретические основы нанопорового секвенирования

Данная технология представляет собой инновационный метод, обеспечивающий прямое определение последовательностей длинных фрагментов ДНК и РНК в режиме реального времени. В основе технологии лежит регистрация изменений электрического тока, возникающих при прохождении нуклеиновых кислот через белковые нанопоры. В последние годы совершенствование данной методики привело к значительному улучшению ключевых параметров, включая точность, длину считываемых фрагментов и производительность системы.

Нанопоровое секвенирование активно применяется в геномной сборке, анализе полных транскриптов и выявлении эпигенетических модификаций. Кроме того, метод находит применение в клинической диагностике и эпидемиологическом мониторинге благодаря высокой скорости и мобильности.

Принцип работы технологии основан на использовании белковых нанопор, инте-

¹ Рид – это фрагмент нуклеотидной последовательности, полученный в результате секвенирования.

² Бейзколинг – это преобразование сигналов секвенатора в нуклеотидную последовательность ДНК или РНК.

грированных в искусственную полимерную мембрану (рисунок 1). В условиях электролитического буфера приложение постоянного напряжения создает ионный ток через пору. Отрицательно заряженные молекулы ДНК или РНК перемещаются от цис-стороны (отрицательный электрод) к транс-стороне (положительный электрод). Скорость их прохождения регулируется моторным белком, обеспечивающим контролируемую транслокацию.

Изменения силы тока во время прохождения нуклеиновой кислоты через пору отражают ее нуклеотидную последовательность, которая расшифровывается с помощью специальных алгоритмов. Важной особенностью моторного белка является его хеликазная активность, позволяющая разделять двухцепочечные молекулы на отдельные цепи перед их анализом. Дополнительные сведения о методе представлены на официальном сайте разработчика³.

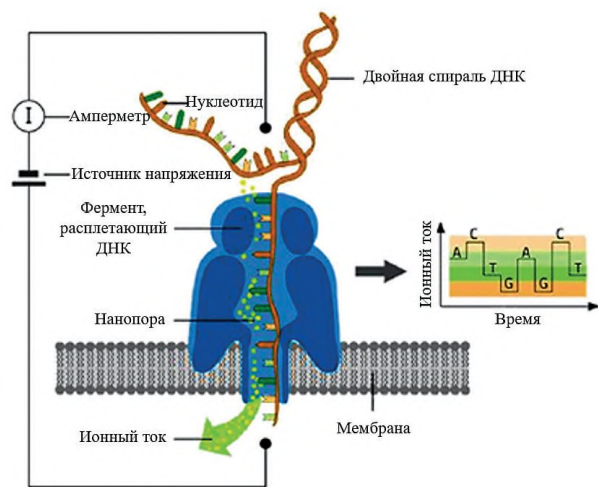


Рисунок 1 – Схематическое изображение принципа технологии нанопорового секвенирования. Белковая нанопора, закрепленная в бислойной мембране, позволяет считывать десятки тысяч нуклеотидов за один запуск секвенатора (рисунок адаптирован авторами из URL: <https://biomolecula.ru/articles/nanoporovoe-sekvenirovanie-na-poroge-tretei-genomnoi-revoliutsii>; дата обращения: 25.06.2025)

Figure 1: Schematic representation of the principle of nanopore sequencing technology. A protein nanopore anchored in a bilayer membrane allows for the reading of tens of thousands of nucleotides in a single run of the sequencer (figure adapted by the authors from URL: <https://biomolecula.ru/articles/nanoporovoe-sekvenirovanie-na-poroge-tretei-genomnoi-revoliutsii>; дата обращения: 25.06.2025)

³ Oxford Nanopore Technologies. URL: <https://nanoporetech.com/> (дата обращения: 25.06.2025).

Принято считать, что точность нанопорового секвенирования уступает альтернативным методам, в частности технологии синтеза (Illumina). Однако ключевое преимущество нанопорового подхода заключается в способности получать значительно более длинные последовательности. Если для платформы Illumina максимальная длина ридов ограничена 300 парами нуклеотидов, то нанопоровая технология, основанная на физическом принципе транслокации нуклеиновых кислот, позволяет достигать прочтений длиной в десятки тысяч нуклеотидов.

Важным достоинством метода является компактность оборудования, обеспечивающая высокую мобильность и возможность проведения исследований вне стационарных лабораторных условий. Однако для реализации потенциала технологии в части получения протяженных последовательностей критическое значение имеет качество исходного материала. Эффективное секвенирование длинных фрагментов возможно только при использовании высокомолекулярной ДНК, так как деградированные или сильно фрагментированные образцы не позволяют получить значимые по длине риды.

Выбор прибора для нанопорового секвенирования

Ключевым параметром при выборе системы для нанопорового секвенирования служит пропускная способность ячейки, определяющая масштабы возможных исследований. Компания Oxford Nanopore Technologies предлагает ряд специализированных платформ (рисунок 2), каждая из

Наименование проточной ячейки	Flongle	MinION Flow Cell	PromethION Flow Cell
Количество каналов	126	512	2675
Теоретический выход данных, Гб	2,8	50	290

Наименование прибора	MinION Mk1C	GridION	PromethION 2 Solo	PromethION 2	PromethION 24	PromethION 48	
Совместимость с проточными ячейками	Flongle, MinION		PromethION				
Количество проточных ячеек, доступных для запуска	1	1	5	2	2	24	48

Рисунок 2 – Линейка приборов Oxford Nanopore Technologies для нанопорового секвенирования в сравнении (рисунок адаптирован авторами из [6])
Figure 2: Oxford Nanopore Technologies' line of nanopore sequencing instruments in comparison (figure adapted by the authors from [6])

которых предназначена для решения конкретных исследовательских задач.

MinION – наиболее компактная и популярная модель, представленная в двух вариантах: стандартный MinION, требующий подключения к компьютеру, но отличающийся исключительной портативностью (размещается на ладони), и автономная версия MinION Mk1C со встроенным модулем обработки данных.

Для средних по объему исследований разработана система GridION, позволяющая параллельно запускать до пяти ячеек, что существенно повышает производительность. Обе платформы (MinION и GridION) совместимы со специальным адаптером⁴ Flongе.

Наиболее мощными решениями линейки являются системы серии PromethION: PromethION2 Solo (требует подключения к компьютеру или GridION), PromethION2 (оснащен автономным управляющим модулем и процессором) – обе модели поддерживают одновременную работу двух высокопроизводительных ячеек, PromethION24 и PromethION48 – промышленные решения, позволяющие независимо контролировать 24 и 48 ячеек соответственно.

QNome-3841 от Qitan Tech (КНР) – это коммерческий нанопоровый секвенатор, ориентированный на высокоточное и доступное секвенирование. Его пропускная способность составляет около 10–20 тысяч пар оснований, т.е. гигабайт (Гб) за 24 часа, а длина считывания достигает 1–2 миллион пар оснований, т.е. мегабайт (Мб). Qitan II акцентирует внимание на соотношении цена/качество и совместимости с различными биологическими образцами, что делает его подходящим для клинических лабораторий и исследовательских центров.

Секвенатор QNome-3841 hex – модернизированная версия QNome-3841 с шестиканальной системой детекции, обеспечивающей повышенную производительность при компактных размерах. Усовершенствования включают оптимизированную систему подачи образцов, улучшенную электронику обработки сигналов и обновленное программное обеспечение (ПО) для многоканального анализа данных. Сохраняя пре-

имущества базовой модели, hex-версия предлагает большую пропускную способность за счет параллельного анализа⁵.

PolyseqOne – портативная система нанопорового секвенирования средней производительности с анализом в реальном времени, разработанная компанией Polyseq Biotechnology (КНР), которая создала собственные нанопоровые белки, наборы для подготовки библиотек, конструкцию чипа, программное обеспечение и алгоритмы глубокого обучения. Ключевые характеристики устройства: точность одного прочтения 97 %, длина прочтений от 300 тысяч пар оснований и более, консенсусная точность при 50-кратном покрытии 99,99 %, 2560 пор на чипе с возможностью повторного использования до 5 раз, скорость чтения 400 нуклеотидов в секунду, а также поддержка адаптивного секвенирования и наличие наборов для подготовки библиотек и баркодирования⁶.

Секвенатор PolyseqHive представляет собой эволюционное развитие модели PolyseqOne, отличаясь прежде всего многопоточной архитектурой – вместо одноканальной системы в PolyseqOne здесь реализовано 8 независимых каналов секвенирования, что существенно повышает производительность при сохранении компактных габаритов устройства. Технологические усовершенствования включают параллельную обработку образцов с индивидуальным контролем параметров для каждого канала, усовершенствованный алгоритм первичного анализа данных с сокращенным временем обработки, а также расширенную совместимость с различными типами нанопоровых мембран.

Секвенаторы CycloneSEQ-WT02 и CycloneSEQ-WY01 от китайской компании MGI Tech Co., Ltd. (входящей в состав BGI Group) представляют собой современные платформы для высокопроизводительного секвенирования, основанные на запатентованной технологии DNBSEQ (DNA Nanoball Sequencing – технология секвенирования от MGI Tech, основанная на использовании наношариков ДНК). CycloneSEQ-WT02 ориентирован на масштабные геномные исследования, предлагая пропускную способность до 1.5 Тб за запуск и поддержку чтений длиной

⁴ Последовательность адаптера; адаптер (adapter sequence, adapter): синтетический олигонуклеотид известной последовательности, который может быть добавлен к 3' или 5' концам фрагмента нуклеиновой кислоты. (ГОСТ Р ИСО 20397-2-2023. Биотехнология. Массовое параллельное секвенирование. Часть 2. Оценка качества данных секвенирования. М.: Стандартинформ; 2023. 24 с.).

⁵ Секвенаторы Qitan Tech. URL: <https://albiogen.ru/qitan/> (дата обращения: 25.06.2025).

⁶ Секвенатор нанопоровый Polyseq One. URL: <https://www.dia-m.ru/catalog/lab/sekvenatory-belkov-dnk/sekvenatory-dnk-3-go-pokoleniya-nanoporovye/sekvenator-nanoporovyy-polyseq-one/> (дата обращения: 02.06.2025).

до 400 п.н., что делает его идеальным для полногеномного секвенирования сложных организмов. Модель интегрирована с системой автоматической подготовки библиотек MGISP-960, значительно ускоряющей процесс обработки образцов.

В отличие от него, CycloneSEQ-WY01 представляет собой более компактное решение с пропускной способностью до 500 Гб, оптимизированное для клинической диагностики и полевых исследований. Его ключевые преимущества – высокая скорость анализа и возможность работы с малыми количествами ДНК. Обе системы демонстрируют высокую точность (ошибка менее 0,1 %), превосходя по этому показателю технологию Oxford Nanopore Technologies, но требуют этапа ПЦР-амплификации. По сравнению с платформами Illumina, китайские секвенаторы предлагают более экономичную эксплуатацию, хотя и уступают в максимальной производительности⁷.

Российский секвенатор «Нанопорус», разработанный ООО «Нанопорус» совместно с Институтом инженерной физики и Институтом теоретической и экспериментальной биофизики РАН, представляет собой платформу для одномолекулярного нанопорового секвенирования в реальном времени, основанную на регистрации изменений ионного тока при прохождении молекулы ДНК или РНК через белковую нанопору. В отличие от традиционных методов, таких как секвенирование по Сэнгеру или технологии Illumina, «Нанопорус» обеспечивает сверхдлинные чтения, что позволяет эффективно анализировать сложные геномные регионы, включая повторы и структурные вариации, а также де-



Рисунок 3 – Перспективные мобильные нанопоровые секвенаторы (рисунок составлен авторами)
 Figure 3: Promising mobile nanopore sequencers (figure compiled by the authors)

тектировать эпигенетические модификации без предварительной амплификации [7, 8]. Основными преимуществами технологии являются портативность, низкая стоимость подготовки образцов и возможность работы с нативными молекулами ДНК/РНК.

Перспективные мобильные нанопоровые секвенаторы представлены на рисунке 3.

Сравнительная характеристика нанопоровых секвенаторов представлена в таблице 1.

После выбора подходящей платформы для нанопорового секвенирования ключевым этапом становится подготовка образцов, поскольку качество и чистота исходного материала напрямую влияют на эффективность секвенирования и достоверность получаемых данных. В зависимости от типа

Таблица 1 – Сравнительная характеристика нанопоровых секвенаторов
 Table 1. Comparative characteristics of nanopore sequencers

Компания / Company	Модель / Model	Показатель качества / Q score	Максимальная длина чтения, тысяч пар нуклеотидов / Maximum reading length, thousand base pairs	Скорость секвенирования, нуклеотидов/с / Sequencing speed, nucleotides/s	Максимальный выход данных в сутки, гигабаз (Гб) / Maximum data output per day, gigabases (Gb)
Oxford Nanopore	MinION Mk1C	Q15-Q30	4000	400-700	30
	GridION				150
	PromethION 24/48				300
Qitan Tech	QNome-3841	Q15-Q20	100	200-400	20
	QNome-3841 hex	Q18-Q22	100	300-500	40
Polyseq Biotechnology	PolyseqOne	Q10-Q15	50	100-400	5
	PolyseqHive	Q12-Q18	50	200-400	20

⁷ Секвенаторы MGI. URL: <https://en.mgi-tech.com/products/> (дата обращения: 25.06.2025).

Продолжение таблицы 1

Компания / Company	Модель / Model	Показатель качества / Q score	Максимальная длина чтения, тысяч пар нуклеотидов / Maximum reading length, thousand base pairs	Скорость секвенирования, нуклеотидов/с / Sequencing speed, nucleotides/s	Максимальный выход данных в сутки, гигабаз (Гб) / Maximum data output per day, gigabases (Gb)
BGI Group	CycloneSEQ-WT02	Q30–Q40	100	350–420	1500
	CycloneSEQ-WY01	Q30–Q38	100	350–420	500
Нанопорус / Nanoporus	Нанопорус / Nanoporus	Q10–Q30	200	150–435	10
<p>Примечание. Таблица составлена авторами на основе официальных данных: Oxford Nanopore Technologies. MinION Mk1C sequencing device. URL: https://nanoporetech.com/products/sequence/minion (дата обращения: 25.06.2025); Oxford Nanopore Technologies. GridION X5 / GridION sequencing device. URL: https://nanoporetech.com/products/sequence/gridion (дата обращения: 25.06.2025); Oxford Nanopore Technologies. PromethION (PromethION 24 / PromethION 48). URL: https://nanoporetech.com/products/sequence/promethion (дата обращения: 25.06.2025); Qitan Tech. QNome-3841 / QNome-3841 hex - product pages / distributor info. URL: https://albiogen.ru/qitan/ (дата обращения: 25.06.2025); PolyseqHive - product page. URL: https://www.polyseq.com/newsinfo/8470438.html дата обращения: 25.06.2025); MGI (BGI Group). CycloneSEQ-WT02 / CycloneSEQ-WY01 - product pages / datasheets. URL: https://en.mgi-tech.com/products/ (дата обращения: 25.06.2025); Первый отечественный нанопоровый секвенатор «Нанопорус»; 2025. URL: https://nanoporus.ru/ (дата обращения: 25.06.2025).</p> <p>Note. The table was compiled by the authors based on official data.</p>					

изучаемого биоматериала и целей исследования применяются различные протоколы выделения и обработки нуклеиновых кислот. Далее рассмотрим основные подходы к подготовке образцов для нанопорового секвенирования.

Подготовка образцов

Подготовка образцов является критически важным этапом, который включает несколько ключевых процессов.

1. Лигирование: на этом этапе используются специфические адаптеры для подготовки ДНК к секвенированию. Адаптеры необходимы для связывания с нанопорами и обеспечивают возможность считывания последовательностей. Лигирование позволяет создать библиотеки, которые могут быть эффективно секвенированы [9].

2. ПЦР: используется для амплификации целевых регионов генома, что позволяет получить достаточное количество материала для анализа. Этот метод позволяет увеличить количество копий специфических фрагментов ДНК, что критично для последующего секвенирования [10].

3. Создание библиотек: формирование библиотек ДНК включает очистку и нормализацию фрагментов для достижения оптимальной концентрации. Это позволяет гарантировать, что все образцы будут представлены в достаточном количестве для секвенирования [11].

После корректной подготовки образцов следующим критически важным этапом становится обработка и анализ получаемых данных. Современные алгоритмы биоинформатической обработки сигналов нанопорового секвенирования позволяют минимизировать ошибки чтения, улучшить точность определения нуклеотидной последовательности и обеспечить комплексную интерпретацию результатов. Рассмотрим ключевые программные решения и методы анализа данных, применяемые на различных этапах обработки информации.

Использование ПО

Первичная обработка «сырых» данных (бейзколинг). Процесс преобразования электрических сигналов в нуклеотидные последовательности является критически

de novo сборки исследователи часто обращаются к специализированным ассемблерам¹⁹: Canu²⁰, демонстрирующему отличные результаты с длинными ридами, Flye, или Shasta²¹ – высокоскоростному ассемблеру, оптимизированному именно для данных ONT. Wtdbg2²² представляет собой еще один мощный инструмент для сборки с коррекцией ошибок, особенно эффективный при работе с большими геномами [12, 14, 15].

Анализ генетических вариантов и аннотация. Для выявления и характеристики генетических вариантов применяется несколько специализированных инструментов. Medaka от ONT предоставляет инструменты для коррекции ошибок и анализа полиморфизмов²³. Sniffles²⁴ специализируется на детекции структурных вариантов [16], тогда как NanoVar²⁵ разработан для анализа вариаций числа копий (CNV – Copy Number Variation) [17]. PEPPER-DeepVariant²⁶ показывает отличные результаты в выявлении однонуклеотидных полиморфизмов и инделов [18].

Специализированные анализаторы. В области эпигенетических исследований Nanopolish²⁷ и DeepSignal²⁸ позволяют детектировать различные модификации ДНК, включая метилирование. Для транскриптных исследований FLAIR²⁹ и StringTie2³⁰ предлагают мощные инструменты для анализа изоформ РНК и реконструкции транскриптомов. В метагеномических исследованиях незаменимыми оказываются Kraken2³¹ и Centrifuge³², обеспечивающие быструю таксономическую классификацию и анализ микроорганизмов [19, 20].

Визуализация результатов. Для визуального анализа результатов секвенирования широко используется Integrative Genomics Viewer (IGV)³³, позволяющий просматривать выравнивания относительно референсного генома. Bandage³⁴ предоставляет удобные инструменты для анализа и визуализации графов сборки, а Pomoxis³⁵ предлагает комплексные решения для визуализации контроля качества [21–23].

¹⁹ Ассемблер – это программный инструмент, предназначенный для сборки (реконструкции) геномной последовательности из множества коротких или длинных фрагментов ДНК (ридов), полученных в результате секвенирования.

²⁰ Canu – a single-molecule sequence assembler for high-noise long reads. URL: <https://github.com/marbl/canu> (дата обращения: 25.06.2025).

²¹ Shasta – de novo assembler for long Oxford Nanopore reads. URL: <https://github.com/paoloshasta/shasta> (дата обращения: 25.06.2025).

²² Wtdbg2 – de novo assembler for long noisy reads. URL: <https://github.com/ruanjue/wtdbg2> (дата обращения: 25.06.2025).

²³ Oxford Nanopore Technologies. Medaka: sequence correction provided by ONT. URL: <https://github.com/nanoporetech/medaka> (дата обращения: 25.06.2025).

²⁴ Sniffles – structural variant caller for long-read sequencing data. URL: <https://github.com/fritzsedlazeck/Sniffles> (дата обращения: 25.06.2025).

²⁵ NanoVar – Structural variant caller using low-depth long-read sequencing. URL: <https://github.com/benoukraflab/NanoVar> (дата обращения: 25.06.2025).

²⁶ PEPPER-Margin-DeepVariant - haplotype-aware variant calling pipeline for long reads (ONT / PacBio). URL: <https://github.com/kishwarshafin/pepper> (дата обращения: 25.06.2025).

²⁷ Nanopolish – tool for signal-level analysis and polishing of nanopore sequencing data. URL: <https://github.com/jts/nanopolish> (дата обращения: 25.06.2025).

²⁸ DeepSignal – tool for detecting DNA methylation from nanopore reads. URL: <https://github.com/bioinformaticsCSU/deepsignal> (дата обращения: 25.06.2025).

²⁹ FLAIR – Full-Length Alternative Isoform analysis of RNA. URL: <https://github.com/BrooksLabUCSC/flair> (дата обращения: 25.06.2025).

³⁰ StringTie2 – transcript assembly and quantification tool for RNA-Seq. URL: <https://github.com/skovaka/stringtie2> (дата обращения: 25.06.2025).

³¹ Kraken2 – taxonomic sequence classification tool. URL: <https://github.com/DerrickWood/kraken2> (дата обращения: 25.06.2025).

³² Centrifuge – metagenomic sequence classification tool. URL: <https://github.com/DaehwanKimLab/centrifuge> (дата обращения: 25.06.2025).

³³ Integrative Genomics Viewer (IGV) – это интерактивная программа для визуализации геномных данных, разработанная в Broad Institute.

³⁴ Bandage – a bioinformatics application for navigating de novo assembly graphs easily. URL: <https://github.com/rrwick/Bandage> (дата обращения: 25.06.2025).

³⁵ Pomoxis – bioinformatics tools tailored for nanopore sequencing. URL: <https://nanoporetech.github.io/pomoxis/> (дата обращения: 25.06.2025).

Для проведения сравнительного анализа параметров качества нанопорового секвенирования систем «Нанопорус» и MinION в качестве матрицы использовали геном ДНК *E. coli*.

Выделение ДНК из *E. coli*. В исследовании использовали штамм *E. coli* XL1-Blue (Евроген, Россия). ДНК из клеток *E. coli* выделяли с помощью набора D-cells (Биолаб-микс, Россия) согласно прилагаемому протоколу. ДНК элижировали в 60 мкл буфера для элюции. Концентрацию полученной ДНК измеряли на приборе Qubit 4 (Thermo FS, США) с помощью набора для измерения концентрации ДНК HS (Нанопорус, Россия), которая составляла 110 нг/мкл.

образце библиотеки измеряли концентрацию ДНК на приборе Qubit 4 (Thermo FS, США) с помощью набора для измерения концентрации ДНК HS (Нанопорус, Россия).

Далее смешивали 30 мкл подготовленной ДНК после первого этапа, лигирующий буфер (Ligation Buffer, LNB) (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) – 12,5 мкл, T4-лигазы высокой активности (2000 ед/мкл (Сибэнзим, Россия) – 5 мкл и Adapter Mix (LA) (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) – 2,5 мкл. Реакцию лигирования адаптеров проводили при комнатной температуре в течение 10 мин. Реакционную смесь очищали магнитными частицами SynMag (Синтол, Россия). Для этого смешивали 50 мкл реакционной смеси с 20 мкл частиц, перемешивали пипетированием и оставляли 10 мин на ротаторе. Далее частицы осаждали на магнитном штативе, убирали супернатант и 2 раза промывали SFB буфером (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) по 125 мкл, ресуспендируя каждый раз частицы. Далее библиотеку элюировали в 13 мкл EB буфера (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) при 37 °С в течение 10 мин. В полученном образце библиотеки измеряли концентрацию ДНК на приборе Qubit 4 (Thermo FS, США) с помощью набора для измерения концентрации ДНК HS (Нанопорус, Россия).

³⁸ EPI2ME – data analysis platform and workflow engine for nanopore sequencing. URL: <https://nanoporetech.com/products/analyse/epi2me> (дата обращения: 25.06.2025).

Для секвенирования использовали нанопоровый секвенатор «Нанопорус» под управлением модифицированного программного обеспечения «Нанопорус». Ячейку с загруженным образцом библиотеки ДНК помещали в секвенатор и запускали процесс. Также параллельно ту же библиотека секвенировали с использованием прибора MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) под управлением ПО «Нанопорус» и аналогичных настройках секвенирования и бейзколинга.

Анализ полученных данных. Бейзколинг полученных последовательностей анализируемой ДНК проводили с помощью программы для расшифровки сигналов интегрированной в ПО «Нанопорус», используя видеокарту RTX 3060Ti (Nvidia, США). Анализ качества секвенирования также проводили непосредственно в оболочке ПО «Нанопорус». Сборку генома *E. coli* проводили с помощью ассемблера Flye³⁹ и полировщика на основе

моделей искусственного интеллекта (ИИ) Medaka. Оценку точности сборок проводили на онлайн-платформе NCBI (National Center for Biotechnology Information, национальный центр биотехнологической информации, США)⁴⁰ с применением алгоритма Blast.

Результаты и обсуждение

В ходе секвенирования геномной ДНК бактерий на приборах «Нанопорус» и MinION были получены схожие результаты как по качеству (показатель качества Q Score составлял в среднем 23) так и по длине прочтений (N50 [24] составляла 8,76 тысяч пар оснований) (рисунки 4, 5).

Сборка генома *E. coli* с помощью ассемблера Flye позволила получить последовательность полного генома с точностью последовательности порядка от 99,92 % (Q>30) до 100 % (Q>70) в зависимости от референсного генома, использовавшегося для сравнения (на основе базы данных NCBI) (рисунок 6).

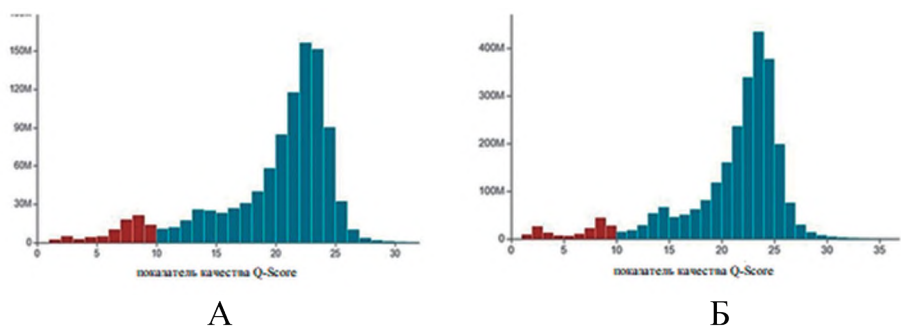


Рисунок 4 – Распределение по качеству полученных в ходе секвенирования ридов ДНК библиотеки *E. coli* на нанопоровых секвенаторах. А – MinION; Б – Нанопорус (данные авторов)
Figure 4: Distribution of the quality of the reads obtained during sequencing of the *E. coli* DNA library on nanopore sequencers. A, MinION; Б, Nanoporus (data from the authors)

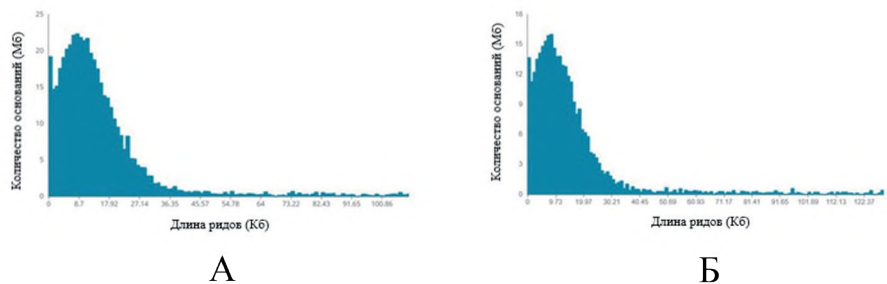


Рисунок 5 – Распределение по длине полученных в ходе секвенирования ридов ДНК библиотеки *E. coli* на нанопоровых секвенаторах. А – MinION; Б – Нанопорус (данные авторов)
Figure 5: Distribution of the length of reads obtained during sequencing of the *E. coli* DNA library on nanopore sequencers. A, MinION; Б, Nanoporus (data from the authors)

³⁹ Kolmogorov M. Flye: fast and accurate genome assembly using repeat graphs. URL: <https://github.com/mikolmogorov/Flye> (дата обращения: 25.06.2025).

⁴⁰ NCBI BLAST. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov> (дата обращения: 25.06.2025).

Sequences producing significant alignments

Download

Select columns

Show

100

Рисунок 6 – Точность сборки генома *E. coli* с помощью ассемблера Flye на основе полученных ридов после секвенирования на приборе «Нанопорус». Можно наблюдать показатели покрытия и идентичности равные 100 %, а также совпадение полученной сборки с референтом по длине, что подтверждает высокую точность сборки генома с использованием ассемблера Flye (сравнение произведено на основе базы данных NCBI. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

Figure 6: Accuracy of *E. coli* genome assembly using the Flye assembler based on reads obtained after sequencing on a Nanopore system. Coverage and identity values of 100 % are observed, as well as length matching of the resulting assembly with the reference, demonstrating the high accuracy of genome assembly using the Flye assembler (comparison was made using the NCBI database. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

Далее с помощью полировщика на основе моделей ИИ Medaka выполнена генерация консенсусной последовательности, где в качестве основной сборки использовали геном, полученный на основе ассемблера Flye. Выравнивание улучшенных геномных последовательностей на референсы на основе базы данных NCBI показаны на *рисунке 7*. После улучшения сборки точность полученной последовательности генома *E. coli* составила от 99,991 % (Q>40) до 100 % (Q>70).

Как показывают полученные результаты нанопорового секвенирования генома ДНК *E. coli*, проведенные на секвенаторе «Нанопорус» и платформе MinION, применение отечественного прибора позволяет получить сравнимые результаты секвенирования. При этом применение новой химии версии 114 и проточной ячейки позволяет получить сборки и консенсусные последовательности секвенируемых образцов ДНК с качеством,

сравнимым с качеством секвенирования на основе «эталонной» технологии типа Illumina (США). При этом несомненные преимущества технологии нанопор, такие как портативность, невысокая требовательность к вычислительным ресурсам, не привязанность к длине рида и возможность сборки очень сложных геномов (от теломеры до теломеры) свидетельствует, что эта технология в ближайшие годы будет являться одной из наиболее перспективных в области высокопроизводительного секвенирования.

Перспективы применения технологии в войсках РХБ защиты

Нанопоровое секвенирование представляет собой перспективную технологию для решения задач биологической разведки и контроля в системе войск РХБ защиты. Мобильность оборудования, возможность автономной работы в полевых условиях и опе-

Sequences producing significant alignments

Download

Select columns

Show

100

☒ select all 100 sequences selected

GenBank

Graphics

Distance tree of results

MSA View

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Escherichia coli strain B95, delta A chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.037e+05	100%	0.0	100.0%	4558291	CP085842.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Escherichia coli strain BL21 (TaKaRa), complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.040e+05	100%	0.0	100.0%	4528118	CP010816.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Escherichia coli BL21(DE3), complete genome	Escherichia coli BL21(DE3)	1.686e+05	2.034e+05	100%	0.0	100.0%	4558947	AM946981.2
<input checked="" type="checkbox"/>	Escherichia coli strain DL21 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.036e+05	100%	0.0	100.0%	4558813	CP079747.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Escherichia coli strain BLK9 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.013e+05	100%	0.0	100.0%	4165587	CP014641.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Escherichia coli strain INSC1002 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.050e+05	100%	0.0	100.0%	4528123	CP045977.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Escherichia coli strain T7Express LysY chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.040e+05	100%	0.0	100.0%	4478959	CP053597.1

Рисунок 7 – Точность сборки генома *E. coli* после обработки инструментом Medaka (сравнение произведено на основе базы данных NCBI. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

Figure 7: Accuracy of *E. coli* genome assembly after processing by the Medaka tool (comparison based on the NCBI database. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

ративное получение результатов определяют его практическую ценность для обеспечения биологической безопасности. Среди них наиболее важные:

оперативная идентификация патогенов – возможность анализа длинных фрагментов нуклеиновых кислот (до нескольких миллионов пар оснований) позволяет проводить быструю и точную идентификацию биологических патогенных агентов в полевых условиях, что критически важно для своевременного принятия решений при биологических инцидентах [25];

экономическая эффективность развертывания оборудования – сравнительно с традиционными методами секвенирования, нанопоровая технология предлагает сниженные эксплуатационные затраты и минимальные требования к инфраструктуре, что обеспечивает возможность создания сетевой системы биологического мониторинга на протяженных территориях [26];

определение патогенного потенциала – анализ эпигенетических модификаций и вирулентных маркеров позволяет оценивать патогенный потенциал выявленных микроорганизмов и отслеживать эволюцию биологических угроз, что необходимо для прогнозирования развития биологической обстановки [19];

полевая диагностика в режиме реального времени – технология обеспечивает возможность непосредственного применения в мобильных лабораториях РХБ разведки для экспресс-анализа проб окружающей среды и биологических образцов, сокращая время от момента отбора пробы до получения результата с нескольких дней до часов [9];

индивидуальная оценка биологических рисков – возможность быстрого секвенирования патогенов позволяет адаптировать средства защиты и медицинские контрмеры

к конкретным штаммам микроорганизмов, выявленным в зоне ответственности подразделений РХБ защиты [4].

Развертывание технологии нанопорового секвенирования в войсках РХБ защиты позволит создать многоуровневую систему оперативного выявления и идентификации биологических угроз, соответствующую современным вызовам в области биологической безопасности.

Заключение

Проведенное исследование демонстрирует, что отечественная платформа «Нанопорус» является конкурентоспособным решением для нанопорового секвенирования. Экспериментально подтверждено, что при использовании современной химии (версия 114) и алгоритмов биоинформатической обработки, система обеспечивает качество сборки геномов, сопоставимое как с платформой MinION, так и с «эталонными» технологиями типа Illumina.

Ключевыми преимуществами платформы «Нанопорус» являются ее портативность, сниженные эксплуатационные затраты и возможность работы в автономных условиях, что определяет ее высокую практическую значимость для применения в мобильных лабораториях войск РХБ защиты. Технология в целом демонстрирует значительный потенциал для решения широкого круга задач в области геномики, включая сборку сложных геномов и анализ эпигенетических модификаций.

Перспективы развития связаны с дальнейшей оптимизацией протоколов секвенирования, совершенствованием химии и методов биоинформатического анализа, что позволит повысить точность и расширить область применения платформы в практике биологической безопасности.

Ограничения исследования / Limitations of the study

Данное исследование имеет ряд ограничений, которые следует учитывать при интерпретации результатов. Исследование выполнено на ограниченном наборе образцов (референсный штамм *E. coli*). Для статистически значимых выводов о производительности платформы в различных условиях необходимы масштабированные испытания на более широкой панели биологических образцов, включая иные виды бактерий, вирусы и эукариотические геномы. На результаты могла повлиять конкретная концентрация и качество исходной ДНК, а также стабильность условий окружающей среды при проведении секвенирования. Воспроизводимость результатов в различных полевых условиях требует дополнительной проверки. Сравнительный анализ возможностей технологий был основан на обзоре доступных научных публикаций, преимущественно на английском языке, что могло привести к неполному учету исследований, опубликованных в иных, в частности, российских, рецензируемых журналах. Эффективность работы платформы «Нанопорус» и качество сборки в значительной степени зависели от применения конкретных версий алгоритмов постобработки (Flye, Medaka). / This research has several limitations that should be considered when interpreting the results. The study was conducted using a limited set of samples (the reference strain *E. coli* XL1-Blue). To draw statistically significant conclusions about the platform's performance across various scenarios, scaled-up testing on

a broader panel of biological specimens – including other bacterial species, viruses, and eukaryotic genomes – is required. The results may have been influenced by the specific concentration and quality of the input DNA, as well as the stability of the environmental conditions during sequencing. The reproducibility of these results in diverse field settings necessitates further verification. The comparative analysis of sequencing technologies was based on a review of available scientific literature, primarily from English-language sources accessible via the internet. This approach may have led to an incomplete consideration of relevant studies published in other languages, particularly in Russian peer-reviewed journals. The performance of the "Nanopore" platform and the quality of the genome assemblies were highly dependent on the use of specific versions of bioinformatics tools for post-processing (Flye, Medaka).

Список источников / References

1. Wang Y, Zhao Y, Bollas A, Wang Y, Au KF. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. *Nature Biotechnology*. 2021;39(11):1348–65.
<https://doi.org/10.1038/s41587-021-01108-x>
2. Peng M, Davis ML, Bentz ML. Short-read and long-read whole genome sequencing for SARS-CoV-2 variants identification. *Viruses*. 2025;17(4):584.
<https://doi.org/10.3390/v17040584>
3. Brown A, Patel R, Chen S. Cost-effective genomic solutions: the impact of nanopore sequencing in low-resource settings. *BMC Genomics*. 2022;23(1):100.
<https://doi.org/10.1186/s12864-022-09001-9>
4. Amarasinghe SL, Su S, Dong X, Zappia L, Ritchie ME, Gouil Q. Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biology*. 2020;21(1):30.
<https://doi.org/10.1186/s13059-020-1935-5>
5. Logsdon GA, Vollger MR, Eichler EE. Long-read human genome sequencing and its applications. *Nature Reviews Genetics*. 2020;21(10):597–614.
<https://doi.org/10.1038/s41576-020-0236-x>
6. Pugh J. The Current State of Nanopore Sequencing. *Methods in Molecular Biology*. 2023;2632:3–14.
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2996-3_1
7. Deamer D, Akeson M, Branton D. Three decades of nanopore sequencing. *Nature Biotechnology*. 2016;34:518–24.
<https://doi.org/10.1038/nbt.3423>
8. Jain M, Olsen HE, Paten B, Akeson M. The Oxford Nanopore MinION: delivery of nanopore sequencing to the genomics community. *Genome Biology*. 2016;17:239.
<https://doi.org/10.1186/s13059-016-1103-0>
9. Quick J, Loman NJ, Duraffour S, Simpson JT, Severi E, Cowley L, et al. Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance. *Nature*. 2016;530(7589):228–32.
<https://doi.org/10.1038/nature16996>
10. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988;239(4839):487–91.
<https://doi.org/10.1126/science.2448875>
11. Taudt A, Colomé-Tatché M, Johannes F. Genetic sources of population epigenomic variation. *Nature Reviews Genetics*. 2016;17(6):319–32.
<https://doi.org/10.1038/nrg.2016.45>
12. Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*. 2018;34(18):3094–100.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
13. De Coster W, Hert DS, Schultz DT, Cruts M, Van BC. NanoPack: visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics*. 2018;34(15):2666–9.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty149>
14. Koren S, Walenz BP, Berlin K, Miller JR, Bergman NH, Phillippy AM. Canu: scalable and accurate long-read assembly via adaptive k-mer weighting. *Genome Research*. 2017;27(5):722–36.
<https://doi.org/10.1101/gr.215087.116>
15. Ruan J, Li H. Fast and accurate long-read assembly with wtdbg2. *Nature Methods*. 2020;17:155–8.
<https://doi.org/10.1038/s41592-019-0669-3>
16. Sedlazeck FJ, Rescheneder P, Smolka M, Fang H, Nattestad M, Haeseler A, et al. Accurate detection of complex structural variations using single-molecule sequencing. *Nature Methods*. 2018;15:461–8.
<https://doi.org/10.1038/s41592-018-0001-7>
17. Tham CY, Tirado-Magallanes R, Goh Y, Fullwood MJ, Koh BTH, Wang W, et al. NanoVar: accurate characterization of patients' genomic structural variants using low-depth nanopore sequencing. *Genome Biology*. 2020;21:56.
<https://doi.org/10.1186/s13059-020-01968-7>

18. Shafin K, Pesout T, Chang P-C, Nattestad M, Kolesnikov A, Goel S, et al. Haplotype-aware variant calling with PEPPER-Margin-DeepVariant enables high accuracy in nanopore long-reads. *Nature Methods*. 2021;18:1322–32.
<https://doi.org/10.1038/s41592-021-01299-w>
19. Simpson JT, Workman RE, Zuzarte PC, David M, Dursi LJ, Timp W. Detecting DNA cytosine methylation using nanopore sequencing. *Nature Methods*. 2017;14:407–10.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.4184>
20. Kim D, Song L, Breitwieser FP, Salzberg SL. Centrifuge: rapid and sensitive classification of metagenomic sequences. *Genome Research*. 2016;26:1721–9.
<https://doi.org/10.1101/gr.210641.116>
21. Robinson JT, Thorvaldsdóttir H, Winckler W, Guttman M, Lander ES, Getz G, et al. Integrative genomics viewer. *Nature Biotechnology*. 2011;29(1):24–6.
<https://doi.org/10.1038/nbt.1754>
22. Wick RR, Schultz MB, Zobel J, Holt KE. Bandage: interactive visualization of de novo genome assemblies. *Bioinformatics*. 2015;31(20):3350–2.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv383>
23. Nicholls SM, Quick JC, Tang S, Loman NJ. Ultra-deep, long-read nanopore sequencing of mock microbial community standards. *GigaScience*. 2019;8(5):giz043.
<https://doi.org/10.1093/gigascience/giz043>
24. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409(6822):860–921.
<https://doi.org/10.1038/35057062>
25. Mardis ER. Next-generation DNA sequencing methods. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2008;9:387–402.
<https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164359>
26. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*. 2016;17(6):333–51.
<https://doi.org/10.1038/nrg.2016.49>

Вклад авторов / Authors' contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.А. Петров** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи; **А.М. Ермаков** – подготовка экспериментальных данных; **Д.П. Белозеров** – сбор и анализ данных научной литературы, переработка текста рукописи, составление рисунков и таблиц; **М.Ю. Павлюков** – подготовка материалов для статьи по методам секвенирования; **М.И. Солдатенкова** – подготовка материалов для статьи по программному обеспечению; **Д.А. Кутаев** – редактирование текста рукописи; **С.В. Борисевич** – окончательное утверждение рукописи. / All authors confirm that their authorship meets the ICMJE criteria. The largest contribution is distributed as follows: **A.A. Petrov** – formation of the article concept, writing of the manuscript text; **A.M. Ermakov** – preparation of experimental data; **D.P. Belozеров** – collection and analysis of scientific literature data, revision of manuscript text, preparation of figures and tables; **M.Yu. Pavlyukov** – preparation of materials for the article on sequencing methods; **M.I. Soldatenkova** – preparation of materials for the article on software; **D.A. Kutaev** – editing the text of the manuscript; **S.V. Borisevich** – final approval of the manuscript for publication.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе. / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах/ Authors

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11.

Петров Александр Анатольевич. Начальник научно-исследовательского управления, д-р мед. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Белозеров Денис Петрович. Старший научный сотрудник.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1858-8689>

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.
 Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozarov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

Павлюков Михаил Юрьевич. Старший научный сотрудник.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0150-0998>

Солдатенкова Мария Игоревна. Младший научный сотрудник.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7760-6019>

Кутаев Дмитрий Анатольевич. Заместитель начальника ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России по научной работе, канд. биол. наук.

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, профессор, академик РАН.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

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

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

ООО «Нанопорус», 142201, Московская обл., г. Серпухов, ул. Сиреневая д. 8.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 3.

Ермаков Артем Михайлович. Заведующий лабораторией исследований генома, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7810-0675>

Контактная информация автора: Ермаков Артем Михайлович; beoluchi@yandex.ru

48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Oktyabrskaya Str., 11, Sergiev Posad-6 141306, Russian Federation.

Aleksandr A. Petrov. Head of Research Department, Dr Sci. (Med.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Denis P. Belozarov. Senior Researcher.

ORCID: 0009-0008-1858-8689

Mikhail Yu. Pavlyukov. Senior Researcher.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0150-0998>

Maria I. Soldatenkova. Junior researcher.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7760-6019>

Dmitriy A. Kutaev. Deputy of Head of 48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation on scientific research, Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-1368>

Sergey V. Borisevich. Head of 48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Academician of Russian Academy of Sciences, Dr Sci. (Biol.), Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

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

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

Nanoporus LLC, Sirenevaya Str., 8, Serpukhov 142201, Moscow region, Russian Federation.

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya Str., 3, Pushchino 142290, Russian Federation.

Artem M. Ermakov. Head of the Genome Research Laboratory, Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7810-0675>

Contact information for author: Artem M. Ermakov; beoluchi@yandex.ru

Указатель авторов и статей журнала за 2025 год

Авторы, название статьи, EDN, DOI	Номер журнала	Номера страниц
Редакционная статья		
Корякин Ю.Н. Химические войска и Химическая служба в годы Великой Отечественной войны (1941–1945 гг.) EDN:ddhzqt. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-2-105-117	№ 2	105–117
Проблемы соблюдения конвенций по запрещению химического и биологического оружия		
Холстов В.И., Поклонский Д.Л. Актуальность верификации КБТО на современном этапе. Исторический опыт работы VEREX и Специальной группы экспертов АНГ EDN:atmwdk. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-1-5-18	№ 1	5–18
Лакота Ян. Редактирование генома и защита от его враждебного использования (англ.) EDN:zcdqbl. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-1-19-43	№ 1	19–43
Супотницкий М.В. Биологическая война против сельскохозяйственных посевов: исторический аспект и конвенционный контроль EDN:vxkuif. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-1-44-56	№ 1	44–56
Лакота Ян. Эпигенетика и новая эра биологического оружия (англ.) EDN:ttvaln. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-305-321	№ 4	305–321
Завьялов В.В., Завьялова А.А., Завьялова Н.В., Ковтун В.А., Шаройко М.П. Алгоритм действий на месте химического инцидента для сохранения вещественных доказательств EDN:unatfa. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-322-344	№ 4	322–344
Коваленко И.И., Ярлыченко А.С., Ставитская Я.В., Колосова Н.А., Рыбальченко И.В., Григорьев А.М. Структурная идентификация и сравнительная оценка содержания метаболитов инкапсита BZ в моче и плазме крови крыс EDN:mingwu. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-345-369	№ 4	345–369
Применение искусственного интеллекта для защиты от оружия массового поражения		
Ткаченко В.Т., Федоров М.В., Федорова В.В., Поздеев А.В., Кормановская Е.Б., Климова А.С., Гунина П.В. Новые методы оценки рисков патогенов: машинное обучение в анализе спектра токсичности <i>Albifimbria verrucaria</i> EDN:aysnnq. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-1-57-73	№ 1	57–73
Биологическая безопасность и защита от биологических угроз		
Супотницкий М.В. Нерешенные и замалчиваемые научные проблемы, оставленные пандемией COVID-19 EDN:ehcise. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-2-118-150	№ 2	118–150
Павельев Д.И., Сизикова Т.Е., Сайфулина Н.А., Ганина О.А., Карулина Н.В., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Противоэпидемические мероприятия на военной базе НАТО в Афганистане, развернутые в ходе вспышки COVID-19 EDN:nyknbt. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-3-205-213	№ 3	205–213
Супотницкий М.В., Щачнева Н.В. Усиление функций вирусных патогенов – как это делается за рубежом в рамках технологий синтетической биологии EDN:rjtfnx. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-3-214-227	№ 3	214–227
Химическое и биологическое оружие в войнах и конфликтах		
Маркин В.А. Исследование возникновения в 1977 году эпидемии лихорадки долины Рифт в Египте EDN:osykop. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-370-382	№ 4	370–382
Вооружение и средства войск РХБ защиты		
Махниборода В.В., Горячев А.А., Краснов А.Е. Научно-технические пути расширения функциональных возможностей бортовых приборов специальной обработки EDN:ijtdlh. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-1-74-91	№ 1	74–91
Хантов В.П., Сергеев К.В., Осипов В.В., Рачкова О.А., Егоров Е.Ф. Дезактивация загрязненных металлических поверхностей с помощью импульсных лазерных установок EDN:atbjyw. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-1-92-100	№ 1	92–100
Брусенин А.А., Пенязь В.Н., Буряк Д.Н., Артамонов И.В., Горбачев Д.С. Параметры маскировки объектов аэрозолями и способ их установления EDN:vhpeqo. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-3-228-239	№ 3	228–239
Иванов В.Д., Хантов В.П., Лошманов Р.С. Методы и средства исследования микрофизических характеристик дисперсной фазы аэрозольных образований для снижения заметности EDN:uvygr. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-3-240-262	№ 3	240–262
Флеер А.М., Сипаков А.С., Хрипков Ю.И. Компьютерное моделирование распространения в атмосфере антропогенных загрязнений EDN:vctcvj. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-3-263-278	№ 3	263–278
Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В. Нанопоровое секвенирование: теория и практика EDN:qbatqs. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-383-398	№ 4	383–398
Исторический архив		
Бойко А.Ю., Иноземцев В.А., Рябкин В.М. Вклад 33 Центрального научно-исследовательского испытательного института Министерства обороны Российской Федерации в Победу над фашистской Германией в годы Великой Отечественной войны EDN:vijxge. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-2-151-169	№ 2	151–169
Туманов А.С., Дармов И.В., Бакулин М.К., Лещенко А.А., Шаров Д.А., Багин С.В., Косенков И.В. Вклад советских военных микробиологов в Великую Победу EDN:ycxuhl. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-2-170-185	№ 2	170–185

Самолыга И.А., Чугунов Е.А., Дзюбенко А.П., Полищук И.П., Самолыга Т.А. «Кузница» кадров, средств защиты и вооружения для победы 1945-го: Военная академия химической защиты в годы Великой Отечественной войны EDN:уsxuhl. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-2-186-200	№ 2	186–200
Попов В.В., Смирнов А.М., Солнцев В.В., Лагашкин В.А., Колосович С.В. Опыт применения частей и подразделений фугасных огнеметов в годы Великой Отечественной войны 1941–1945 годов EDN:wnmntm. https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-3-279-300	№ 3	279–300
INDEX		
Указатель авторов и статей за 2025 год	№ 4	399–400

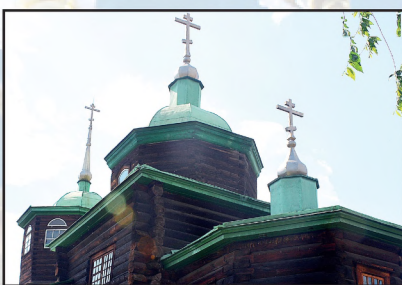
С 2025 г. журнал находится под санкциями США и Евросоюза. Поэтому DOI временно не активируются. С 2022 г., в дополнении к DOI, в библиографическом описании мы используем в качестве постоянного идентификатора для научных публикаций eLIBRARY Document Number (EDN) – это уникальный код документа, отечественный аналог DOI. Присваивается всем документам на платформе eLIBRARY.RU. У каждой публикации, загруженной в eLIBRARY.RU, есть QR-код. Мы проставляем его на первой странице статьи. Выйти на статью можно через указание после адреса eLIBRARY.RU шестизначного буквенного обозначения в нижнем регистре без точки в конце, например, <https://elibrary.ru/lyugum>

Правила для авторов и рецензентов в 2025 г. были обновлены, при работе над статьями пользуйтесь ими:

- авторы
<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>
- рецензенты
<https://www.nbsprot.ru/jour/about/editorialPolicies#custom-0>
- типовые ошибки авторов
https://www.nbsprot.ru/jour/pages/view/typical_mistakes

Наша замечательная Россия

Михайло-Архангельская церковь (музей «Церковь декабристов»), Чита



Михайло-Архангельская церковь – одно из напоминаний о трагических событиях двухсотлетней давности – восстания декабристов. Построена в 1776 г. без единого гвоздя из толстых бревен сосны и лиственницы, и согласно древней традиции – «кораблем». Церковь в два этажа, трехглавая – это очень старый церковный канон, характеризующий идею троицы. Состояла из пятигранной алтарной части, собственно храма – восьмерик на четверике, трапезной и притвора. Притвор венчала двухъярусная колокольня. Освещение – через асимметрично расположенные разноразмерные окна. Во время реставрационных работ к притвору был пристроен тамбур с двускатной кровлей на четырех резных колоннах. На протяжении трех с половиной лет осужденные на каторгу 85 декабристов были прихожанами этой церкви. В 1904 г. в церкви венчались врач Валентин Войно-Ясенецкий (1877–1961) впоследствии известный как Святитель Лука, и медицинская сестра Анна Ланская (1881–1919). Церковь сохраняет статус памятника деревянного зодчества XVIII в. и охраняется государством с 1974 г. С 6 декабря 1985 г. – музей «Церковь декабристов». Это самое древнее строение в Чите.

Фотография *верхнего* ряда – Михайло-Архангельская церковь. Фотографии *нижнего* ряда. *Слева* – памятник «Любви и верности». Открыт в 2011 г. рядом с улицей, на которой жили жены декабристов. Автор проекта памятника – член-корр. Российской Академии художеств Арам Григорян. В *центре* – церковь со стороны алтарной части. *Справа* – деревянный дом Елизаветы Нарышкиной (1802–1867) – фрейлины императрицы Марии Федоровны. Находится через дорогу от церкви. Нарышкина приехала в Читинский острог в 1827 г. вслед за мужем, полковником Михаилом Нарышкиным (1798–1863). За участие в заговоре декабристов его приговорили к 15 годам каторжных работ. В 1965 г. в доме Нарышкиной открылась библиотека.

Фотографии М.В. Супотницкого



Сайт журнала



РИНЦ

