

сились к субтипу А ВИЧ-1 и 2 (20 %) к впервые выявленной на территории области рекомбинантной форме CRF03\_AB. Средние р-дистанции между образцами субтипа А составляют 0,039, что указывает один общий первоначальный источник. Р-дистанции между образцами CRF03\_AB составляют 0,003, что указывает идентичность вирусов у обоих пациентов (половые партнеры).

Из Брестской области было исследовано на первичную резистентность 15 образцов сыворотки/плазмы крови: 9 от лиц мужского пола (средний возраст 32 года) и 6 — от женщин (средний возраст 37 лет). В 2-х образцах была выявлена мутация в положении M46I/L, которая, как указывалось выше, ведет к снижению чувствительности ВИЧ к IDV, NFV, FPV, лLPV и ATV в присутствии других мутаций. Все проанализированные образцы плазмы крови от пациентов из Брестской области содержали ВИЧ-1 субтипа А. Средние р-дистанции между фрагментами анализируемых ДНК составили 0,042, что указывает на один общий источник инфицирования. Средняя р-дистанция между образцами от пациентов K-o+F-r+K-ch составили 0,024, что указывает на единый источник заражения через внутривенное введение наркотиков.

#### **Заключение**

Проведены исследования по определению первичной резистентности ВИЧ у пациентов не получающих АРП. Показано, что у 10 (12 %) из 83 ВИЧ-инфицированных, взятых в исследование, выявлены мутации резистентности, определяющие низкий уровень резистентности ВИЧ к АРП. Такой высокий процент определения вируса с первичной резистентностью к АРП, указывает на необходимость проведения исследований по определению резистентных штаммов ВИЧ у пациентов с ВИЧ/СПИДом перед назначением им схем ВААРТ.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Prevalence and Impact of Minority Variant Drug Resistance Mutations in Primary HIV-1 Infection / J. D. Stekler [et al.] // PLoS One. — 2011. — Vol. 6. — P. 1–8.
2. Antiretroviral drug resistance in a respondent-driven sample of HIV-infected men who have sex with men in Brazil / E. H. Bermúdez-Aza [et al.] // J Acquir Immune Defic Syndr. — 2011. — Vol. 57, Suppl. 3. — P. S186–192.
3. Primary HIV-1 drug resistance in the C-terminal domains of viral reverse transcriptase among drug-naïve patients from Southern Brazil / A. F. Santos [et al.] // J Clin Virol. — 2011. — Vol. 52. — P. 373–376.
4. Polymorphic Mutations Associated With the Emergence of the Multinucleoside/Tide Resistance Mutations 69 Insertion and Q151M / A. U. Scherrer [et al.] // J Acquir Immune Defic Syndr. — 2012. — Vol. 59. — P. 105–112.
5. HIV-1 drug resistance in antiretroviral-naïve individuals in sub-Saharan Africa after rollout of antiretroviral therapy: a multicentre observational study / R. L. Hamers [et al.] // PharmAccess African Studies to Evaluate Resistance (PASER) - Lancet Infect Dis. — 2011. — Vol. 11. — P. 750–759.

**УДК 612.127-092.9:612.014.482.4**

### **ВЛИЯНИЕ ВНЕШНЕГО ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ НА МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ МИОКАРДА КРЫС**

**Жадейко Р. Р., Коваль А. Н., Грицук А. И.**

**Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
Гомель, Республика Беларусь**

Изучения последствий биологического действия низкоинтенсивного излучения, а также исследование влияния малых доз радиации на организм человека и животных и разработка на этой основе мер радиационной защиты остается актуальной проблемой современного этапа развития радиобиологии, радиационной медицины и смежных с ними дисциплин. Патология сердечно-сосудистой системы достигает в структуре общей заболеваемости ликвидаторов более 40 % и занимает одно из ведущих мест среди заболеваний ликвидаторов аварии на ЧАЭС, а также лиц, включая детей и подростков, проживающих на загрязненных территориях. Распространенность ишемической болезни сердца на территории Гомельской области, наиболее пострадавшей от аварии на

ЧАЭС, существенно возросла, по сравнению с доаварийным 1986 г. Сохраняются также негативные тенденции развития других форм сердечно-сосудистой патологии.

В митохондриях (Мх) миокарда утилизируется практически весь клеточный кислород, часть которого, даже в обычных условиях, превращается в его активные формы. Главный источник производства АФК связан с Мх, причем ионизирующая радиация, вызывая дисфункцию Мх — многократно усиливают его. Так, например, более 95 %  $O_2^{\cdot-}$ , произведенного во время нормального метаболизма, образуются в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) Мх. Как ни странно, Мх одновременно является также главной мишенью АФК. Чувствительность митохондрий к радиационно-индуцированному пероксидному стрессу объясняется также высоким содержанием в их структуре ненасыщенных фосфолипидов, окисление которых приводит к изменению агрегатного состояния мембран и последующим структурно-функциональным нарушениям митохондрий.

Митохондриальная ДНК (мтДНК) является более восприимчивой к окислительному повреждению, чем ядерная, из-за ее близости к ЭТЦ, нехватки защитных гистонов, недостаточной эффективности механизмов репарации, «плотной» упаковкой генетического материала и др. Высокая радиочувствительность Мх обусловлена еще и тем, что мтДНК кодирует несколько субъединиц различных дыхательных комплексов. Повреждение мтДНК, вызванное АФК, может привести к производству еще большего количества АФК, увеличивая, таким образом, порочный цикл. Митохондриальный геном человека отличается плотной локализацией генов, отсутствием интронов и длинных нетранскрибируемых участков. Он представлен небольшой — 16569 пар нуклеотидов — кольцевой ДНК, кодирующей 13 белков — ферментов системы ОФ, 2 р-РНК и 22 т-РНК [1]. Митогеном человека отличается наибольшей компактностью; здесь гены белковых комплексов и рибосомальных РНК чередуются с генами т-РНК, а межгенные участки представлены короткими, в несколько нуклеотидов, вставками. Единственной протяженной, порядка 1,1 тысячи пар нуклеотидов, некодирующей его структурой является петля смещения или D-петля (от англ. «displacement loop»), участки которой обеспечивают ассоциацию митохондриальной хромосомы на мембране органеллы и содержат структуры, необходимые для инициации и регуляции процессов репликации и транскрипции мтДНК. D-петля или контрольный регион митогенома является его наиболее изменчивой областью.

Митохондриальный геном характеризуется плотной упаковкой генетического материала, отсутствием интронов, выраженной нестабильностью — скорость эволюции мтДНК превышает таковую для ДНК ядерной в 10–20 раз. Высокий уровень мутагенеза мтДНК объясняется отсутствием эффективных систем репарации, измененным генетическим кодом (замены в третьем положении кодонов не приводят к изменению первичной структуры белка), и протекающими в Мх редокс-реакциями. В большинстве случаев варибельность мтДНК обусловлена точечными заменами оснований (транзициями и трансверсиями), реже делециями и вставками различной длины.

Ионизирующая радиация инициирует увеличение продукции АФК и возникновение мутаций мтДНК в т. ч. специфической 4977-bp делеции, известной как обычная делеция (common deletion — D-mtDNA4977), частота появления которой увеличивается с возрастом и при дегенерации Мх [2]. Митогеном крысы состоит из 16300 пар оснований, что отличает его от человеческого, насчитывающего 16571 пару оснований. Тем не менее, по его организации, взаиморасположению генов отмечается высокая степень идентичности (около 76 % сходства), причем в разных участках генома наблюдаются различная степень сходства [3].

Показано, что наличие мутаций мтДНК и сопутствующая этому деэнергизация клеток резко увеличивает их чувствительность к внешнему  $\gamma$ -облучению (1–4 Гр), химиопрепаратам и нестабильность генома, что повышает риск ускоренного старения, возникновения рака и другой патологии [4].

### **Цель**

Выяснить влияние внешнего  $\gamma$ -облучения в дозах 0,5 и 1 Гр на структуру митохондриального генома миокарда и определить возможность метаболической коррекции.

### **Материалы и методы**

Исследования проводились на белых беспородных крысах-самцах массой 230–250 г. Внешнее общее однократное  $\gamma$ -облучение животных производили на установке «ИГУР-1» (источник  $^{137}\text{Cs}$ ) в дозе 0,5 и 1 Гр, мощность дозы 0,92 Гр/мин. Животные были разделены на группы. Их декапитировали на 3 и 90 сутки. С помощью метода ПЦР в реальном времени (TaqMan) исследовали состояние митохондриального генома миокарда. При этом определяли частоту встречаемости «common deletions» в образцах миокарда полученных описанным выше способом. Для анализа митогенома были подобраны праймеры и зонды (таблица 1).

Таблица 1 — Олигонуклеотидные праймеры и TaqMan проба

Primer/probe	Sequence(5'–3')
Mitochondrial D-loop Forward	GGTTCTTACTTCAGGGCCATCA
Reverse	GATTAGACCCGTTACCATCGAGAT
Probe	6FAM-TTGGTTCATCGTCCATACGTTCCCCTTA-TAMRA
Mitochondrial deletion Forward	AAGGACGAACCTGAGCCCTAATA
Reverse	CGAAGTAGATGATCCGTATGCTGTA
Probe	VIC-TCACTTTAATCGCCACATCCATAACTGCTGT-TAMRA

Для предварительной оценки наличия «common deletion» проводили электрофорез очищенной фракции общей ДНК на агаровом геле, выделение и очистку мтДНК проводили фенольным методом с использованием протеаз [5]. Для метаболической коррекции последствий внешнего гамма-облучения крысам перорально вводили растворы сукцината и глутамата в количестве по 25 мг/кг веса животного.

Расчет основных статистических показателей и оценку значимости различий производили с использованием электронных таблиц «Microsoft Excel» 2010 и пакета статистических программ «Statistica» 8.0. Сравнение вариационных рядов производили с использованием непараметрического критерия U (критерий Вилкоксона-Манна-Уитни).

### **Результаты и обсуждение**

Исследования состояния митохондриального генома показали, что на 3-и и 90-е сутки в группах животных, подвергнутых общему внешнему  $\gamma$ -облучению в дозе 0,5 Гр, отмечается достоверное увеличение частоты обычной делеции мтДНК миокарда.

Так, если в контроле частота обычной делеции мтДНК миокарда составляла  $3,52 \pm 0,26$ , то у облученных животных на 3 и 90 сутки она соответственно возросла до  $6,36 \pm 0,86$  и  $7,13 \pm 0,45$  (таблица 2).

Таблица 2 — Частота обычной делеции митохондриальной ДНК миокарда крыс на 3-и и 90-е сутки после  $\gamma$ -облучения в дозе 1 Гр (n = 3–5)

Группа	Частота обычной делеции	p	Коррекция (сукцинат + глутамат)	p
Контроль	$3,52 \pm 0,26$	—	$4,72 \pm 0,18$	—
3 сут	$6,36 \pm 0,86^*$	0,016	$6,30 \pm 0,96$	0,700
90 сут	$7,13 \pm 0,45^{**}$	0,008	$5,80 \pm 0,60$	0,250

*Примечание:* здесь и далее: уровень значимости различий по сравнению с контрольной группой: \* < 0,05, \*\* < 0,01.

При увеличении дозы облучения до 1 Гр направленность изменений митохондриального генома кардиомиоцитов животных сохраняется, однако различия не достигают достоверных значений.

При коррекции сукцинатом и глутаматом на 90-е сутки отмечается тенденция к снижению частоты обычной делеции в группе животных с дозой облучения 1,0 Гр, что

может быть обусловлено защитным (антиоксидантным) действие глутамата и сукцината на митохондриальный геном (таблица 3).

Таблица 3 — Частота обычной делеции митохондриальной ДНК миокарда крыс на 3 и 90 сутки после  $\gamma$ -облучения в дозе 1 Гр ( $n = 3-5$ )

Группа		p		p
Контроль	$3,52 \pm 0,26$	—	$4,72 \pm 0,18$	—
3 сут	$4,24 \pm 0,61$	0,250	$7,32 \pm 0,68$	0,200
90 сут	$5,04 \pm 1,16$	1,000	$3,50 \pm 0,44$	0,057

Представленные результаты соответствуют данным литературы об отсутствии четкой зависимости частоты обычной делеции митохондриального генома от дозы облучения [2], что может явиться ограничением для применения этого показателя для количественной биоиндикации ионизирующих излучений. Возможными последствиями повреждения митохондриального генома являются увеличение чувствительности облученных клеток и органов к повреждающему действию других неблагоприятных факторов, что может явиться причиной развития ряда патологий и онкологических заболеваний.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлены следующие закономерности:

1. Частота обычной делеции возрастает во всех группах облученных животных, достигая значимых различий при облучении в дозе 0,5 Гр, сохраняясь на 90-е сутки после облучения.
2. Применение глутамата и сукцината в качестве средства метаболической коррекции нарушений митохондриального генома может быть эффективным средством против повреждения мтДНК в отдаленные сроки (90-е сут) после облучения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Даниленко, Н. Г. Миры геномов органелл / Н. Г. Даниленко, О. Г. Давыденко. — Минск: Тэхналогія, 2003. — 404 с.
2. Accumulation of the common mitochondrial DNA deletion induced by ionizing radiation / Sh. Prithivirajsingha [et al.] // FEBS Letters. — 2004. — Vol. 571. — P. 227–232.
3. Kujoth, G. C. Mitochondrial DNA Mutations and Apoptosis in Mammalian Aging / G. C. Kujoth, C. Leeuwenburgh, T. A. Prolla // Cancer Researches. — 2006. — Vol. 66, № 15. — P. 7386–7389.
4. Mitochondrial mutant cells are hypersensitive to ionizing radiation, phleomycin and mitomycin C / R. Kulkarni [et al.] // Mutation Researches. — 2009. — Vol. 663, Issues 1–2. — P. 46–51.
5. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. / Ред. С. Херрингтон, Дж. Макги. — М.: Мир, 1999. — 560 с.

УДК 616.89–008.46–071

## ОБЪЕКТИВИЗАЦИЯ НАРУШЕНИЙ ВЫСШИХ КОРКОВЫХ ФУНКЦИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА КОГНИТИВНОГО ВЫЗВАННОГО ПОТЕНЦИАЛА P300

Жарикова А. В.

Государственное учреждение  
«Республиканский научно-практический центр  
радиационной медицины и экологии человека»  
г. Гомель, Республика Беларусь

### Введение

Конец XX и начало XXI вв. ознаменовались существенными изменениями возрастной структуры населения в мире, в виде значительного и быстрого роста числа людей пожилого и старческого возраста. В настоящее время около 15 % жителей нашей планеты находятся в возрасте «поздней зрелости» (65–70 лет) и в пожилом возрасте (старше 70 лет) [1]. Частая встречаемость нарушений памяти и других расстройств высших корковых функций (внимания, гнозиса, праксиса, речи и др.) в практической деятельности врача обусловлена постепенным старением населения и, как следствие, увеличением распространенности, связанных с возрастом, патологических состояний. Длительное время основное внимание было акцентировано на выраженных когнитивных