

**ВЕСТНИК**  
**ПОЛЕССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА**  
**СЕРИЯ ПРИРОДОВЕДЧЕСКИХ НАУК**

**№ 2, 2025**

**СОДЕРЖАНИЕ**

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ**

<b>КУЛАГИНА Т.Г.</b> ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РОДСТВА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>TURBINICARPUS</i> BUXB. & BACKEV. (САСТАСЕАЕ) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ IPBS-МАРКЕРОВ.....	3
<b>ДУНАЙ В.И., ГУБЕЙКО А.С.</b> ЭВОЛЮЦИЯ НО-СИНТАЗЫ В ПРОКАРИОТАХ И ЭУКАРИОТАХ: СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИВЕРСИФИКАЦИЯ.....	12
<b>ВОРОБЬЕВА М.М., ПОПОК А.С.</b> ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА РИСУНКА ПЕРЕДНЕСПИНКИ ИМАГО <i>LEPTINOTARSA DECEMLINEATA</i> SAY, 1824 И ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕМЕЙСТВ ГЕНОВ CYP450 КАК МЕХАНИЗМОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ИНСЕКТИЦИДАМ.....	23
<b>МА МИН, СНЫТКОВ Е.В., ЛЕБЕДЬ Т.Л., МЕЛЬНОВ С.Б.</b> ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ В ИГРОВЫХ ВИДАХ СПОРТА (НА ПРИМЕРЕ БАСКЕТБОЛА).....	30
<b>ШЛЯХТУН А.Г., РАДУТА Е.Ф., ПОЛУБОК В.Ч., ГУРИНОВИЧ В.А., ОСТРОВСКИЙ А.А.</b> МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКИ БИОСИНТЕЗА НАД В ПРОФИЛАКТИКЕ СТЕАТОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС.....	39
<b>ЧЕРЕМИСИН А.С., РАДУТА Е.Ф., ТИТКО О.В., КАТКОВСКАЯ И.Н., МОТЫЛЕВИЧ Ж.В., КАНУННИКОВА Н.П., АЗИЗБЕКЯН С.Г., ГУРИНОВИЧ В.А., МОЙСЕЕНКО А.Г.</b> МОДУЛЯЦИЯ D-ПАНТЕНОЛОМ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО БАЛАНСА В КРОВООБРАЩЕНИИ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС.....	47
<b>ВАБИЩЕВИЧ М.М., МЯЛИК А.Н.</b> ДОПОЛНЕНИЯ К ФЛОРЕ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ ГОРОДА ПИНСКА.....	55
<b>ЧЕЩЕВИК В.Т., ЧЕЩЕВИК Н.Г.</b> ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ УБИХИНОЛ-ЦИТОХРОМ С-ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ТРОМБОЦИТОВ В МИКРОПРОБАХ.....	66
<b>ПОДОЛЬСКИЙ Д.Э., ЧЕЩЕВИК В.Т.</b> РОЛЬ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ И АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ.....	75
<b>СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ</b>	
<b>ПРИЛОВСКАЯ Е.И.</b> ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛОКА КОЗ-ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА В РАЦИОНАХ ТЕЛЯТ МОЛОЧНОГО ПЕРИОДА.....	85

**BULLETIN  
OF PALESKY STATE UNIVERSITY  
SERIES IN NATURAL SCIENCES**

**№ 2, 2025**

**CONTENTS**

**BIOLOGICAL SCIENCES**

<b>KULAHINA T.G.</b> IDENTIFICATION OF GENETIC RELATIVENESS OF REPRESENTATIVES OF THE GENUS <i>TURBINICARPUS</i> (CACTACEAE) USING MOLECULAR IPBS MARKERS.....	3
<b>DUNAI V.I., GUBEYKO A.S.</b> EVOLUTION OF NITRIC OXIDE SYNTHASE IN PROKARYOTES AND EUKARYOTES: STRUCTURAL ORGANIZATION AND FUNCTIONAL DIVERSIFICATION.....	12
<b>VARABYOVA M.M., POPOK A.S.</b> STUDY OF POLYMORPHISM PATTERN OF THE PRONOTUM OF IMAGO <i>LEPTINOTARSA DECEMLINEATA</i> SAY, 1824 AND VARIABILITY OF CYP450 GENE FAMILIES AS MECHANISMS OF RESISTANCE TO INSECTICIDES.....	23
<b>MA MING, SNYTKOV E.V., LEBED T.L., MELNOV S.B.</b> GAME SPORTS PLAYERS GENETIC PECULIARITIES IN XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION SYSTEM STATUS, AS THE EXAMPLE OF BASKETBALL.....	30
<b>SHLYAHTUN A.H., RADUTA A.F., POLUBOK V.CH., GURINOVICH V.A., ASTROWSKI A.A.</b> METABOLIC PRECURSORS OF NAD BIOSYNTHESIS IN THE PREVENTION OF ALCOHOL-INDUCED LIVER STEATOSIS IN RATS.....	39
<b>CHEREMISIN A.S., RADUTA E.F., TITKO O.V., KATKOVSKAYA I.N., MOTYLEVICH Zh.V., KANUNNIKOVA N.P., AZIZBEKYAN S.G., GURINOVICH V.A., MOISEYENOK A.G.</b> D-PANTHENOL MODULATION OF MICROELEMENT BALANCE IN BLOOD CIRCULATION IN ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA IN WHITE RATS.....	47
<b>VABISHCHEVICH M.M., MIALIK A.M.</b> ADDITIONS TO THE FLORA OF VASCULAR PLANTS OF THE CITY OF PINSK.....	55
<b>CHESHCHEVIK V.T., CHESHCHEVIK N.G.</b> DETERMINATION OF THE ACTIVITY OF MITOCHONDRIAL UBIQUINOL-CYTOCHROME C OXIDOREDUCTASE OF PLATELETS IN MICROSAMPLES.....	66
<b>PODOLSKY D.E., CHESHCHEVIK V.T.</b> ROLE OF MITOCHONRION MEMBRANE POTENTIAL AND REACTIVE OXYGEN SPECIES IN PLATELET AGGREGATION....	75

**AGRICULTURAL SCIENCES**

<b>PRYLOVSKAYA E.I.</b> ASSESSMENT OF THE EFFICIENCY OF SUPPLEMENTING MILK FROM GOATS PRODUCING RECOMBINANT LACTOFERRIN IN THE DIETS OF LACTIFYING CALVES.....	85
--	----

## БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

УДК 575.22:582.852:58.009

### Т.Г. КУЛАГІНА

научный сотрудник сектора сохранения и восстановления  
растительных ресурсов  
Центральный ботанический сад НАН Беларуси,  
г. Минск  
E-mail: [T.Slapakova@cbg.org.by](mailto:T.Slapakova@cbg.org.by)



Статья поступила 29.09.2025 г.

### ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РОДСТВА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *TURBINICARPUS* BUXB. & BACKEB. (CACTACEAE) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ iPBS-МАРКЕРОВ

**Цель** – определить генетическое родство представителей рода *Turbinicarpus* Buxb. & Backeb. на основе кластерного анализа.

**Материалы и методы.** Молекулярно-генетический анализ с использованием iPBS-маркеров, кластерный анализ генетических дендрограмм, сравнительный анализ генетических и морфологических дендрограмм.

**Результаты.** Кластерный анализ видов рода *Turbinicarpus* показал сложные взаимосвязи между ними и позволил выделить три основных кластера, включающие по 2, 6 и 33 вида соответственно. Особое внимание следует уделить третьему кластеру, который содержит наибольшее количество видов, включая ранее неидентифицированный таксон, генетически близкий к *T. mandragora*. Сравнение полученных генетических и морфологических дендрограмм показывает как сходство, так и различия с данными других исследователей, что подчеркивает сложность систематики этого рода и необходимость проведения дополнительных исследований.

**Заключение.** Проведенные исследования дополняют ранее известные сведения о генетическом родстве видов рода *Turbinicarpus* и подчеркивают значимость комплексного подхода к анализу систематики и эволюции видов, а также необходимость учета различных факторов.

**Ключевые слова:** кластерный анализ, родство видов, дендрограмма, кактусовые.

**KULAHINA T.G.**, Scientific Employee of the Sector of the Conservation and Restoration of Plant Resources  
Central Botanical Garden National Academy of Sciences of Belarus, Minsk

### IDENTIFICATION OF GENETIC RELATIVENESS OF REPRESENTATIVES OF THE GENUS *TURBINICARPUS* (CACTACEAE) USING MOLECULAR iPBS MARKERS

**Objective.** To determine the genetic relationships among representatives of the genus *Turbinicarpus* Buxb. Backeb. based on cluster analysis.

**Materials and Methods.** Molecular-genetic analysis using iPBS markers, cluster analysis of genetic dendograms, and comparative analysis of genetic and morphological dendograms.

**Results.** The cluster analysis of *Turbinicarpus* species revealed complex interrelationships among them and identified three main clusters, consisting of 2, 6, and 33 species, respectively. Special attention should be given to the third cluster, which contains the largest number of species, including a previously unidentified taxon that is genetically close to *T. mandragora*. The comparison of the obtained genetic and morphological dendograms shows both similarities and differences with data from other researchers, highlighting the complexity of the systematics of this genus and the need for further studies.

**Conclusion.** The conducted research complements previously known information about the genetic relationships among *Turbinicarpus* species and emphasizes the importance of a comprehensive approach to analyzing the systematics and evolution of species, as well as the necessity of considering various factors.

**Keywords:** cluster analysis, species relationships, dendrogram, cacti.

### Научная новизна статьи

Впервые в Беларуси был проведен кластерный анализ некоторых видов рода *Turbinicarpus*, который позволил выделить три основных кластера и углубить понимание их таксономии. В ходе исследования также были выявлены потенциальные связи неопределенного вида *T.sp.* с *T. mandragora*. Кроме того, был проведен сравнительный анализ дендрограмм на основе генетических маркеров iPBS и морфологических данных семян, который показал ожидаемые расхождения между этими подходами. В качестве объяснений этих различий были предложены экологические факторы и необходимость расширения выборки образцов. Полученные результаты могут быть использованы для систематики и охраны видов *Turbinicarpus*, что, в свою очередь, расширяет знания о роде и создает основу для будущих исследований.

### What this paper adds

For the first time in Belarus, a cluster analysis of some species of the genus *Turbinicarpus* was conducted, which allowed for the identification of three main clusters and a deeper understanding of their taxonomy. The study also revealed potential connections between the uncertain species *T.sp.* and *T. mandragora*. Additionally, a comparative analysis of dendograms based on iPBS genetic markers and seed morphological data was performed, which showed expected discrepancies between these approaches. Ecological factors and the need for an expanded sample size were proposed as explanations for these differences. The results obtained can be used for the systematics and conservation of *Turbinicarpus* species, thereby broadening knowledge of the genus and providing a foundation for future research.

**Введение.** Кактусовые (Cacteae) – монофилетическая триба, насчитывающая почти 400 видов [1, 2]. Среди них есть виды с шаровидной, шаровидно-приплюснутой, цилиндрической и колончатой формой роста [3]. Их распространение простирается от США до Колумбии и Венесуэлы, но особенно широко эти растения представлены в Мексике, где наблюдается диверсификация генеалогической линии [2, 4]. Одним из наиболее примечательных родов по количеству видов, морфологическому разнообразию и редкости является *Turbinicarpus* Buxb. & Backeb. (Cacteae, Cactaceae, Cactoideae) [5]. Термин *Turbinicarpus* s.l. был предложен И. Буксбаумом и К. Баккебергом [6] для включения растений небольшого размера, в основном шаровидных или цилиндрических, бугорчатых с изменчивым количеством шипов, ареолами, расположенными на верхушках бугорков,

белыми или розовыми цветками с короткой трубкой, околоплодником голым или редко с несколькими мелкими верхними чешуйками, плодом в виде верхушечной растрескивающейся ягоды и семенами длиной 1,0-1,9 мм, черными и бородавчато-шероховатыми [5, 7, 8, 9, 2]. Тридцать или более таксонов (видов и подвидов) были выделены в род *Turbinicarpus* согласно трем таксономическим синтезам [9, 10, 11]. Несколько новых видов были описаны позже, и некоторые другие таксоны были перенесены в другие роды на основе морфологических сравнений. *Turbinicarpus* s.l. был разделен К. Баккебергом [12], который предложил *Gymnocalyx* Backeb. «для разделения видов с колючками в основном более тонкими и преимущественно более светлыми, бугорками тонкими, в основном фиолетовыми, в остальном розовыми или белыми цветками и голым пери-

карпелем и плодом» [13]. Однако Ч. Гласс и Р. Фостер [5] отметили, что различия между *Turbinicarpus* и *Gymnocalycium* неубедительны. Тем не менее, в настоящее время под названием *Gymnocalycium* существуют 22 таксономические комбинации [10]. Род *Rapicactus* Buxb. & Oehme был предложен [14] для отделения от *Gymnocalycium* тех видов, которые имеют толстые корни с шейкообразной перетяжкой наверху. Детальное таксономическое исследование, проведенное Й. Люти [15, 16], показало, что группа *T. mandragora* объединяет таксоны, разделяющие однородные, стекловидно-беловатые и игольчатые колючки, семена с частично выпуклой «куполообразной» или конической или сосковидной» оболочкой и рассоединенными рубчиком и микропиле, что впоследствии выделило ее в отдельный род *Rapicactus* [17]. Распознавание и определение *Turbinicarpus* были крайне нестабильны. Некоторые виды и подвиды были перенесены в другие роды, такие как *Neolloydia* Britton & Rose [18], *Toumeyea* Britton & Rose [19], которые рассматривались как часть *Sclerocactus* Britton & Rose [11], и *Pediocactus* Britton & Rose [20]. В недавних исследованиях, посвященных кактусам, *Turbinicarpus* s.l. рассматривался как полифилетическая группа, в которой клада из пяти таксонов является сестринской для *Acharagma* (N.P.Taylor) Glass, тогда как вторая клада, состоящая из трех таксонов, является сестринской для более крупной клады, которая объединяет *Strombocactus* Britton & Rose и *Ariocarpus* Scheidw., и третья клада, состоящая из остатков рода *Turbinicarpus* [2]. Однако таксономия *Turbinicarpus* s.l. консервативна, что способствует стабильности номенклатуры [11] за счет признания предполагаемой полифилетической группы.

Учитывая редкость представителей рода *Turbinicarpus*, необходимость их сохранения в условиях *ex situ* (в том числе в коллекциях Центрального ботанического сада НАН Беларуси), а также сложную систематику этого рода, целью данной работы является проведение кластерного анализа некоторых представителей рода *Turbinicarpus* с использованием молекулярно-генетических методов.

**Материалы и методы.** Растительный материал, использованный в молекулярно-генетических исследованиях, представлен следующими видами рода *Turbinicarpus* из

коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси: *T. schmiedickeanus* subsp. *klinkerianus* (Backeb. & W. Jacobsen) Glass & R.A. Foster, *T. schmiedickeanus* subsp. *klinkerianus* "lilinkeuiduus", *T. lophophoroides* (Werderm.) Buxb. & Backeb., *T. lophophoroides* f. *roseiflorus*, *T. pseudomacrochele* subsp. *lausseri* (Diers & G. Frank) Glass, *T. schmiedickeanus* subsp. *andersonii* Mosco, *T. schmiedickeanus* subsp. *flaviflorus* (G. Frank & A.B. Lau) Glass & R.A. Foster, *T. graminispinus* Matusz., *T. hoferi* Lüthy & A.B. Lau, *T. jauernigii* G. Frank, *T. pseudopectinatus* (Backeb.) Glass & R.A. Foster, *T. pseudopectinatus* var. *albiflorus*, *T. pseudopectinatus* var. *rubriflorus*, *T. valdezianus* (Møller) Glass & R.A. Foster, *T. valdezianus* var. *albiflorus*, *T. zaragozae* (Glass & R.A. Foster) Glass & Hofer, *T. schmiedickeanus* subsp. *bonatzii* (G. Frank) Panar., *T. schwarzii* (Shurly) Backeb., *T. schwarzii* var. *rubriflorus* Gerhart Frank, *T. spacellatus*, *T. × mombergeri* Riha, *T. gielsdorffianus* (Werderm.) John & Riha, *T. schmiedickeanus* subsp. *gracilis* (Glass & R.A. Foster) Glass., *T. saueri* subsp. *knuthianus* (Boed.) Lüthy, *T. saueri* subsp. *nelisae*, *T. pseudomacrochele* subsp. *minimus* (G. Frank) Lüthy & A. Hofer, *T. pseudomacrochele* subsp. *lausseri* (Diers & G. Frank) Glass, *T. schmiedickeanus* subsp. *macrochele* (Werderm.) N.P. Taylor, *T. macrochele* var. *kuopackii*, *T. macrochele* v. *fraileensis*, *T. polaskii* Backeb., *T. pseudomacrochele* (Backeb.) Buxb. & Backeb., *T. pseudomacrochele* var. *alena*, *T. schmiedickeanus* subsp. *dickisoniae* (Glass & R.A. Foster) N.P. Taylor, *T. swobodae* Diers & Esteves, *T. saueri* subsp. *ysabelae* (Schlange) Lüthy., *T. saueri* (Boed.) John & Riha, *T. saueri* subsp. *gonzalezii*, *T. beguinii* var. *senilis* f. *nobile*, *T. mandragora* (Fric ex A. Berger) A.D.Zimmerman, *T. alonsoi* Glass & S. Arias, *T. laui* Glass & R.A. Foster, *T. roseiflorus* Backeb.

Для выделения ДНК использовали годовые сеянцы, выращенные в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси. Семена кактусов высевали в субстрат, в качестве которого использовали следующую смесь: 18 частей промытого кварцевого песка, 9 частей биогумуса, 1,5 части угольной крошки. Субстрат для посева пропарен и стерилизован при температуре 180°C в течение 120 минут. Предварительно замоченные семена раскладывали на поверхности субстрата и помещали в шкаф для проращивания. Температуру под-

держивали на уровне 25–30°C. Влажностный режим создавали ежедневными опрыскиваниями.

С помощью набора реагентов «ДНК-Экстран-3» для растений проводили выделение ДНК. Качество и количество выделенной ДНК проверяли с помощью NanoPhotometer Pearl Implen GmbH (Мюнхен, Германия). В исследовании использовали 30 iPBS праймеров (таблица 1) [21]. ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 25–50 нг ДНК, 5 мкл готовой смеси для ПЦР ScreenMix (ЕвроГен), 1 мМ праймера для 12–13 п.н. праймеров или 0,6 мМ для 18 п.н. праймеров, и воды. Программа ПЦР состояла из: 1 цикла при 95°C в течение 5 мин.; 38 циклов при 95°C в течение 15 с, отжиг проводили при температуре 50,0–55,4°C (в зависимости от праймера) в течение 60 с., элонгация 68°C в течение 90 с. Финальная элонгация проводилась при 72°C в течение 8 мин. Амплификацию проводили в программируемом терморегуляторе C1000 Touch Thermal Cycler (MJ Research Inc., Bio-Rad Laboratories, США). Электрофорез выполняли 5,5 часа при напряжении 65 V в 2% агарозном геле. Окрашивание геля проводили бромидом этидия в течение 30 мин. и визуализировали с использованием системы UV Imager Gel Doc XR + (Bio-Rad, США). Полученные в результате молекулярно-генетических исследований изображения

электрофорезов (рисунок 1) использовали для определяли подходящих праймеров.

#### Результаты и их обсуждение.

Для выявления генетической дифференциации представителей рода *Turbinicarpus* подходящими оказались 5 маркеров (2232, 2374, 2237, 2375, 2389) из 30 используемых. Для отобранных iPBS маркеров установлены такие показатели, как количество локусов и мера информационного полиморфизма (PIC) (таблица 2).

Для этих праймеров всего было получено 636 локусов. Так как значения меры информационного полиморфизма (PIC) выше 0,19, то данные маркеры можно использовать в исследовании по определению генетического родства представителей рода *Turbinicarpus*.

Полученные изображения электрофореза использовали для построения бинарной матрицы, где каждый присутствующий или отсутствующий локус обозначали «1» или «0» соответственно. Программный пакет GenALEX 6.5 для MS Excel использовали при расчете генетического разнообразия изучаемых видов. Построение дендрограммы (рисунок 2) выполняли с помощью свободной программной среды вычислений с открытым исходным кодом R методом минимума дисперсии Уорда (Ward). В качестве расстояний между объектами при формировании кластеров использовали евклидово расстояние.

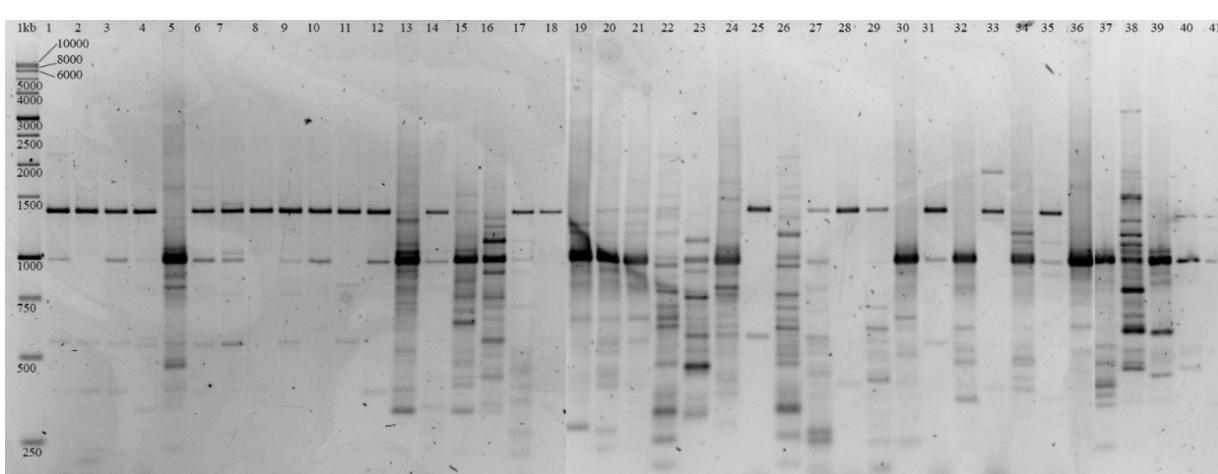


Рисунок 1. – Результаты ПЦР с использованием 2389 iPBS. Первая дорожка – маркер молекулярного веса 1Кб. Дорожки 1–41 – исследуемые виды.

Таблица 1. – Праймеры, используемые в исследовании

Название праймера	Оптимальная температура отжига Т <sub>а</sub> (°C)	Последовательность (5' – 3')
2389	50.0	ACATCCTTCCCCA
2373	51.0	GAACTTGCTCCGATGCCA
2277	52.0	GGCGATGATACCA
2376	52.0	TAGATGGCACCA
2375	49.4	TCGCATCAACCA
2377	48.0	ACGAAGGGACCA
2378	53.0	GGTCCTCATCCA
2383	53.6	GCATGGCCTCCA
2374	53.5	CCCAGCAAACCA
2095	53.7	GCTCGGATACCA
2083	54.6	CTTCTAGCGCCA
2237	55.0	CCCCTACCTGGCGTGCCA
2239	51.0	ACCTAGGCTCGGATGCCA
2272	55.0	GGCTCAGATGCCA
2077	55.1	CTCACGATGCCA
2390	52.4	GCAACAACCCCA
2273	52.4	GCTCATCATGCCA
2394	56.5	GAGCCTAGGCCA
2220	57.0	ACCTGGCTCATGATGCCA
2242	57.0	GCCCCATGGTGGGCGCCA
2076	55.4	GCTCCGATGCCA
2271	60.0	GGCTCGGATGCCA
2415	61.0	CATCGTAGGTGGGCGCCA
2078	63.6	GC GGAGTCGCCA
2399	63.0	AAACTGGCAACGGCGCCA
2080	63.3	CAGACGGCGCCA
2081	63.6	GCAACGGCGCCA
2270	65.0	ACCTGGCGTGCCA
2079	65.2	AGGTGGGCGCCA
2232	53.4	AGAGAGGCTCGGATACCA

Таблица 2. – Характеристика отобранных iPBS-маркеров и оптимальные температуры отжига праймеров после оптимизации

Праймер	Оптимальная температура отжига Т <sub>а</sub> (°C)	Последовательность (5' – 3')	Количество локусов	Мера информационного полиморфизма (PIC)
2232	55,4	AGAGAGGCTCGGATACCA	124	0,20
2374	53,5	CCCAGCAAACCA	137	0,15
2237	55,0	CCCCTACCTGGCGTGCCA	136	0,15
2375	52,5	TCGCATCAACCA	121	0,12
2389	50,0	ACATCCTTCCCCA	118	0,13

Представленные данные показывают, что изученные виды рода *Turbinicarpus* можно разделить на 3 основных кластера с несколь-

кими подкластерами. К кластеру №1 относятся 2 вида из изучаемого рода: *T. saueri* и *T. pseudomacrochele*.

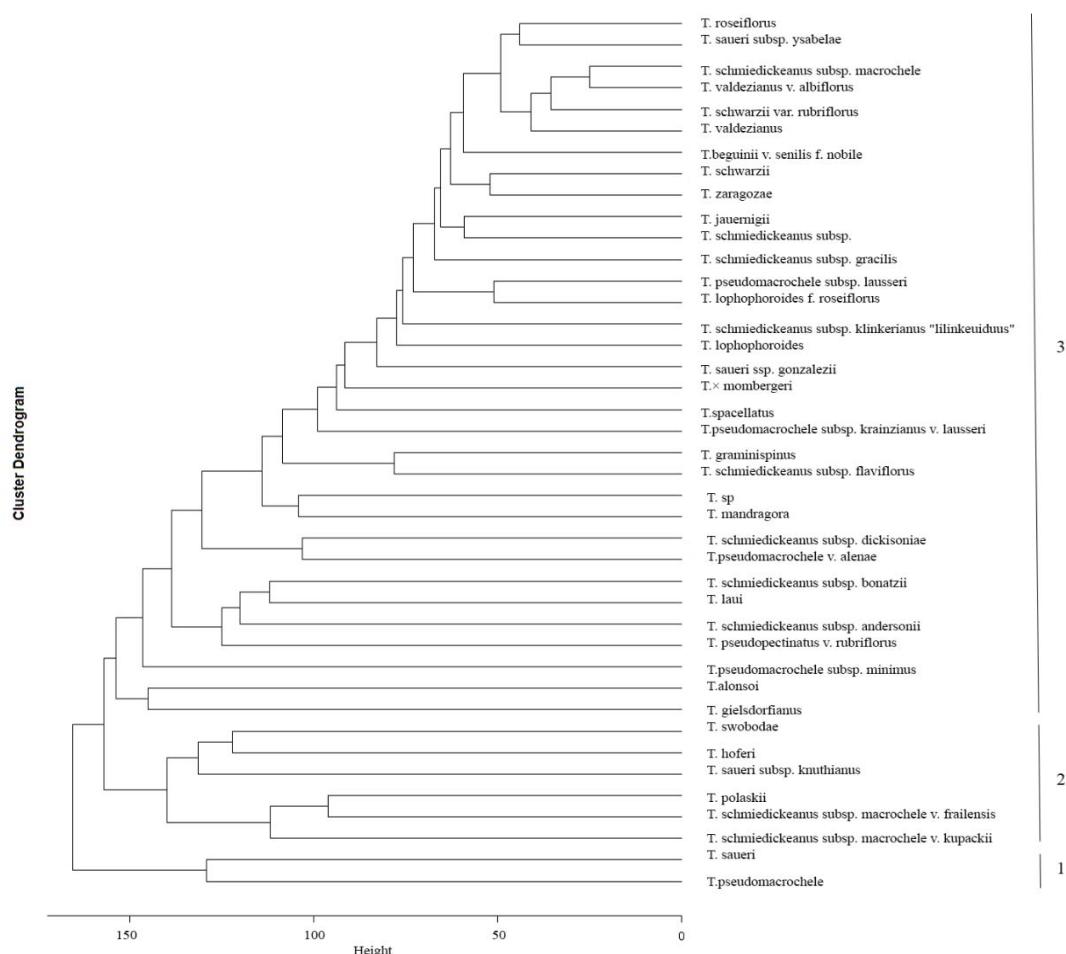


Рисунок 2. – Дендрограмма генетического родства видов рода *Turbinicarpus*: 1 – кластер №1, 2 – кластер №2, 3 – кластер №3

Последний из них, согласно данным М. Васкес-Санчес, Д. Санчеса, Т. Террасас, А. де ла Роса-Тилапа и С. Ариаса, полученных методом секвенирования фрагмента *rbcL*, выделяется в отдельный род *Kadenicarpus*.

В кластер №2 объединяются 6 таксонов (*T. swobodae*, *T. hoferi*, *T. saueri* subsp. *knuthianus*, *T. polaskii*, *T. macrochele* var. *kupackii*, *T. macrochele* var. *frailensis*), имеющих морфологические различия, что не соответствует их генетическому родству.

Кластер №3 – самый многочисленный – включает 33 вида: *T. schmiedickeanus* subsp. *klinkerianus*, *T. schmiedickeanus* subsp. *klinkerianus* "lilinkeuidius", *T. lophophoroides*, *T. lophophoroides* f. *roseiflorus*, *T. pseudomacrochele* subsp. *lausseri* (*Kadenicarpus pseudomacrochele* subsp. *lausseri*), *T. schmiedickeanus* subsp. *andersonii*, *T. schmiedickeanus* subsp. *flaviflorus*, *T.*

*graminispinus*, *T. jauernigii*, *T. pseudopectinatus*, *T. pseudopectinatus* v. *albiflorus*, *T. pseudopectinatus* var. *rubriflorus*, *T. valdezianus*, *T. valdezianus* var. *albiflorus*, *T. zaragozae* (*Rapicactus zaragozae*), *T. schmiedickeanus* subsp. *bonatzii*, *T. schwarzii*, *T. schwarzii* var. *rubriflorus*, *T. spacellatus*, *T. x mombergeri*, *T. gielsdorfianus*, *T. schmiedickeanus* subsp. *gracilis*, *T. saueri* subsp. *nelissae*, *T. pseudomacrochele* subsp. *minimus* (*Kadenicarpus pseudomacrochele* subsp. *minimus*), *T. pseudomacrochele* subsp. *lausseri* (*Kadenicarpus pseudomacrochele* subsp. *lausseri*), *T. schmiedickeanus* subsp. *macrochele*, *T. pseudomacrochele* var. *alenae* (*Kadenicarpus pseudomacrochele* var. *alenae*), *T. schmiedickeanus* subsp. *dickisoniae*, *T. saueri* subsp. *ysabelae*, *T. saueri* subsp. *gonzalezii*, *T. beguinii* var. *senilis* f. *nobile* (*Rapicactus beguinii* var. *senilis* f. *nobile*), *T.*

*mandragora* (*Rapicactus mandragora*), *T. alonsoi*, *T. laui*, *T. roseiflorus*. В том числе *T.sp.* – видовая принадлежность которого не установлена. Полученная дендрограмма позволяет сделать предположение о видовой принадлежности этого образца, расположенного в одном подкластере с *T. mandragora* (*Rapicactus mandragora*), что может свидетельствовать о его принадлежности к этому таксону.

При сравнении дендрограммы, построенной на основании генетического (евклидового) расстояния, установленного с помощью iPBS маркеров с дендрограммой, построенной на основании консенсусной последовательности гена *rbcL* из международной базы данных NCBI BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [22], выявлено, что только *T. zaragozae*, *T. beguinii* var. *senilis* f. *nobile*, *T. mandragora* находятся в одном кластере в обеих дендрограммах, что соответствует их систематическому положению.

При сравнении дендрограмм, построенных на основании генетических расстояний и морфологических признаков семян [23], были обнаружены единичные совпадения. Существует несколько возможных причин для этого. Во-первых, различия между генетическими расстояниями и морфологическими признаками могут быть обусловлены тем, что локусы, отвечающие за изучаемые морфологические характеристики, не связаны с используемыми iPBS маркерами. Во-вторых, количественные морфологические характеристики сильно зависят от условий среды и потому демонстрируют большую вариабельность в условиях *ex situ* (в том числе в коллекциях Центрального ботанического сада НАН Беларуси). В-третьих, для получения более точных данных рекомендуется использовать большее количество исследуемых образцов. В-четвертых, вероятность обнаружения корреляции между генетическими и морфологическими данными определяется числом примененных iPBS-маркеров и объемом морфологических показателей для сравнения. При этом нельзя исключать возможности неверной идентификации образцов, что объясняется сложностью систематики рода *Turbinicarpus*.

**Заключение.** Проведенный кластерный анализ видов рода *Turbinicarpus* продемонстрировал сложную структуру взаимосвязей

между ними, выделив три основных кластера с различным числом видов. Особое внимание следует уделить кластеру №3, который включает наибольшее количество видов и неопределенный таксон *T.sp.*, потенциально связанный с *T. mandragora*. Сравнение дендрограмм, основанных на генетических и морфологических данных, выявило сходства, что подчеркивает сложность систематики данного рода и необходимость дальнейших исследований. Для более точного понимания взаимосвязей между генетическими и морфологическими признаками рекомендуется увеличить объем выборки, а также применить другие виды маркерных систем (SSR и AFLP). Результаты проведенных исследований подчеркивают важность комплексного подхода к изучению систематики и эволюции видов, а также необходимость учета различных факторов, влияющих на результаты исследований.

#### Список использованных источников

1. Hunt, D. R. The New Cactus Lexicon / D. R. Hunt, N. P Taylor, G. Charles ; International Cactaceae Systematics Group. – Milborne Port : Dh Books, 2013. – 527 p.
2. Vázquez-Sánchez, M. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe *Cacteae* (*Cactaceae*) / M. Vázquez-Sánchez, T. Terrazas, S. Arias, H. Ochoterenae // Systematics and Biodiversity. – 2013. – Vol. 11, №1. – P. 103–116.
3. Vázquez-Sánchez, M. 2012. El hábito y la forma de crecimiento en la tribu *Cacteae* (*Cactaceae*, *Cactoideae*) / M. Vázquez-Sánchez, T. Terrazas, S. Arias // Botanical Sciences. – 2012. – Vol. 90, – P. 97–108.
4. Hernández-Hernández, T. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World succulent biome / T. Hernández-Hernández, J. W. Brown, B. O. Schlumpberger, L. E. Eguiarte, S. Magallón // The New Phytologist. – 2014. – Vol. 202, – P. 1382–1397.
5. Glass, C. 1977. A revision of the genus *Turbinicarpus* (Backbg.) Buxb. & Backbg./ C. Glass, R. Foster // Cactus and Succulent Journal. – 1977 – Vol. 49, – P. 161–176.
6. Buxbaum, F. *Cactaceae*. Jahrbücher der Deutschen Kakteen-Gesellschaft / F. Buxbaum, C. Backeberg; *Cactaceae*

- Jahrbücher der Deutschen Kakteen-Gesellschaft E. V. – Glückstadt, 1937. – 27 p.
7. Bravo-Hollis, H. Las cactáceas de México / H. Bravo-Hollis, H. Sánchez-Mejorada // Mexico City: Universidad Nacional Autónoma de México. – 1991. – Vol. 2, – 404 p.
8. Doweld, A. B. 1998. An outline of the phylogenetic system of classification of the tribe *Cacteae* (*Cactoideae* – *Cactaceae*). I. System of the subtribes *Sclerocactinae* – *Bravocactinae* - *Turbinicarpinae*. / A. B. Doweld // Succulents. – Moscow – 1998. – Vol.1, – P. 15–30.
9. Anderson, E. F. The Cactus Family. First Edition/ E. F. Anderson. – Portland, Or: Timber Press, Incorporated, 2001. – 776 p.
10. Guzmán U, 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas / U. Guzmán, S. Arias, P. Dávila. – Mexico City: Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2003. – 315 p.
11. Hunt, D. R. 2016. CITES *Cactaceae* checklist, 3rd edition. / D. R. Hunt. – Kew: Royal Botanic Gardens, 2016. – 315 p.
12. Backeberg, C. *Cactaceae* Lindle. Systematic synopsis / C. Backeberg // Blätter für Kakteenforschung. – 1938. – Jahrg.5, Pt. – (unpaged).
13. Backeberg, C. *Cactus* lexicon. Enumeratio diagnostica cactacearum / C. Backeberg, W. Haage, L. Glass. – London: Blandford Press, 1977. – 828 p.
14. Buxbaum, F. 1942. *Cactaceae*. Jahrbücher der Deutschen Kakteen-Gesellschaft / Buxbaum F, Oehme H. – Neudamm: Deutschen Kakteen-Gesellschaft E. V., 1942. – 18–24 p.
15. Lüthy, J.M. The *Turbinicarpus* mandragora complex / J.M. Lüthy // Bradleya. – 2001. – Vol. 19, – P. 19–54.
16. Lüthy, J. M. Further comments on *Turbinicarpus* and a key to species / J.M. Lüthy // Cactaceae Systematics Initiatives. – 2002. – Vol. 14, – P. 21–25.
17. Lüthy, J. M. *Rapicactus* Buxbaum & Oehme: revision of the genus / J.M. Lüthy // Cactus & Co. – 2003. – Vol. 7, – P. 4–43.
18. Anderson, E. F. 1986. A revision of the genus *Neolloydia* B.&R. (*Cactaceae*)/ E. F. Anderson // Bradleya. – 1986. – Vol. 4, – P. 1–28.
19. Bravo-Hollis, H. 1956. A revision of the genus *Toumeya* / H. Bravo-Hollis, W.T. Marshall // Saguaro and Bulletin. – 1956. – Vol. 10, – P. 112–119.
20. Halda, J. J. A new system of the genus *Pediocactus* Britton & Rose. / J. J. Halda // Acta Musei Richnoviensis Section Nature. – 1998. – Vol. 5, – P. 1–48.
21. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation / R. Kalendar [et al.] // TAG Theor. Appl. Genet. Theor. Angew. Genet. – 2010. – Vol. 121, № 8. – P. 1419–1430.
22. Polyphyly of the iconic cactus genus *Turbinicarpus* (*Cactaceae*) and its generic circumscription / M. Vázquez-Sánchez [et al.] // Botanical Journal of the Linnean Society. – 2019. – Vol. 190, – P. 405–420.
23. Шлапакова, Т. Г. Морфологические особенности семян рода *Turbinicarpus* / Т. Г. Шлапакова, В. В. Титок // Весці Нацыянальной акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2021. – Т. 66. – № 4. – С. 482–490.

## References

1. Hunt D.R., Taylor N.P, Charles G. The New Cactus Lexicon. International Cactaceae Systematics Group. Milborne Port, Dh Books, 2013, 527 p.
2. Vázquez-Sánchez M., Terrazas T., Arias S. H. Ochoterena Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe *Cacteae* (*Cactaceae*). Systematics and Biodiversity. 2013. Vol. 11, no.1, pp. 103–116.
3. Vázquez-Sánchez M., Terrazas T., Arias S. El hábito y la forma de crecimiento en la tribu *Cacteae* (*Cactaceae*, *Cactoideae*). Botanical Sciences. 2012. Vol. 90, pp. 97–108.
4. Hernández-Hernández T., Brown J.W., Schlumpberger B.O., Eguiarte L.E., Magallón S. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World succulent biome. The New Phytologist. 2014. Vol. 202, pp. 1382–1397.
5. Glass C., Foster R. A revision of the genus *Turbinicarpus* (Backbg.) Buxb. & Backbg. Cactus and Succulent Journal. 1977. Vol. 49, pp. 161–176.
6. Buxbaum F., Backeberg C. *Cactaceae*. Jahrbücher der Deutschen Kakteen-Gesellschaft. Cactaceae Jahrbücher der

- Deutschen Kakteen gesellschaft E. V. Glückstadt, 1937, 27 p.
7. Bravo-Hollis H., Sánchez-Mejorada H. Las cactáceas de México. Mexico City, Universidad Nacional Autónoma de México. 1991. Vol. 2, 404 p.
8. Doweld A.B. 1998. An outline of the phylogenetic system of classification of the tribe *Cacteae* (*Cactoideae* – *Cactaceae*). I. System of the subtribes *Sclerocactinae* – *Bravocactinae* - *Turbinicarpinae*. *Succulents*. Moscow 1998. Vol.1, pp. 15–30.
9. Anderson E.F. The Cactus Family. First Edition. Portland, Or, Timber Press, Incorporated, 2001, 776 p.
10. Guzmán U., Arias S., Dávila P. Catálogo de cactáceas mexicanas. Mexico City: Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2003, 315 p.
11. Hunt D.R. 2016. CITES *Cactaceae* checklist, 3rd edition. Kew, Royal Botanic Gardens, 2016, 315 p.
12. Backeberg C. *Cactaceae* Lindle. Systematic synopsis. Blätter für Kakteenforschung. 1938. Jahrg.5, Pt. (unpaged).
13. Backeberg C., Haage W., Glass L.. *Cactus* lexicon. Enumeratio diagnostica cactacearum London, Blandford Press, 1977, 828 p.
14. Buxbaum F., Oehme H. *Cactaceae*. Jahrbücher der Deutschen Kakteen-Gesellschaft. Neudamm, Deutschen Kakteen gesellschaft E. V., 1942, pp.18–24.
15. Lüthy J.M. The *Turbinicarpus* mandragora complex. Bradleya. 2001. Vol. 19, pp. 19–54.
16. Lüthy J. M. Further comments on *Turbinicarpus* and a key to species. *Cactaceae Systematics Initiatives*. 2002. Vol. 14, pp. 21–25.
17. Lüthy J.M. *Rapicactus* Buxbaum & Oehme: revision of the genus. *Cactus & Co.* 2003. Vol. 7, pp. 4–43.
18. Anderson E.F. A revision of the genus *Neolloydia* B.&R. (*Cactaceae*). *Bradleya*. 1986. Vol. 4, pp. 1–28.
19. Bravo-Hollis H., Marshall W.T. A revision of the genus *Toumeya*. *Saguaroland Bulletin*. 1956. Vol. 10, pp. 112–119.
20. Halda J. J. A new system of the genus *Pediocactus* Britton & Rose. *Acta Musei Richmoniensis Section Nature*. 1998. Vol. 5, pp. 1–48.
21. Kalendar R. et al. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *TAG Theor. Appl. Genet. Theor. Angew. Genet.* 2010. Vol. 121, no.8, pp. 1419–1430.
22. Vázquez-Sánchez M. et al. Polyphyly of the iconic cactus genus *Turbinicarpus* (*Cactaceae*) and its generic circumscription. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2019. Vol. 190, pp. 405–420.
23. Shlapakova T.G., Titok V.V. Morfologicheskie osobennosti semyan roda *Turbinicarpus* [Morphological features of seeds of the genus *Turbinicarpus*]. *Vesci Nacyyanal'naj akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnyh navuk* [News of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of biological sciences.], 2021. Vol. 66, no 4, pp. 482–490. (In Russian)

Received 29.09.2025

**В.И. ДУНАЙ**, канд. биол. наук, доцент<sup>1</sup>

**А.С. ГУБЕЙКО**

аспирант<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Полесский государственный университет,  
г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 9.10.2025 г.

## ЭВОЛЮЦИЯ NO-СИНТАЗЫ В ПРОКАРИОТАХ И ЭУКАРИОТАХ: СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИВЕРСИФИКАЦИЯ

*На основе комплексного анализа современных литературных источников обзор систематизирует данные об эволюции NO-синтазы (NOS) от прокариотических форм к специализированным эукариотическим изоформам. Показано, что по мере усложнения биологических систем NOS претерпела существенные структурные и функциональные модификации, трансформировавшись из неспецифического защитного фермента в многофункциональный регулятор, участвующий в нейро-сигналинге, сосудистой регуляции и иммунной модуляции.*

**Ключевые слова:** NO-синтаза, прокариоты, эукариоты, геномный анализ.

**DUNAI V.I.**, PhD in Biol. Sc., Associate Professor<sup>1</sup>

**GUBEYKO A.S.**, Graduate Student<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

## EVOLUTION OF NITRIC OXIDE SYNTHASE IN PROKARYOTES AND EUKARYOTES: STRUCTURAL ORGANIZATION AND FUNCTIONAL DIVERSIFICATION

*Based on a comprehensive analysis of current literature, this review systematizes data on the evolution of nitric oxide synthase (NOS) from prokaryotic forms to specialized eukaryotic isoforms. It demonstrates that, as biological systems became more complex, NOS underwent significant structural and functional modifications, transforming from a nonspecific protective enzyme into a multifunctional regulator involved in neuro-signaling, vascular regulation, and immune modulation.*

**Keywords:** Nitric oxide synthase, prokaryotes, eukaryotes, genomic analysis

**Введение.** Оксид азота (NO) синтезируется ферментом NO-синтазой, относящимся к оксидоредуктазам, который катализирует превращение L-аргинина в NO и L-цитруллин с участием кислорода и кофакторов (NADPH, FAD, FMN, BH<sub>4</sub>) [1]. NO-синтазы прокариот и эукариот различаются по доменной организации, механизмам регуляции и биологическим функциям, что отражает их эволюционную дивергенцию. Тем не менее, образование оксида азота во всех известных формах NOS осуществляется

посредством гем-зависимой двухэтапной реакции, в которой ключевым окислителем выступает активная пероксо-форма железа [2].

Цель работы – систематизировать современные представления о молекулярных механизмах и эволюционных закономерностях структурно-функциональной диверсификации NO-синтаз у прокариот и эукариот.

**Материалы и методы.** Анализ научной литературы проведен в научной электронной библиотеке «КиберЛенинка», электронном

научном журнале «Российская Академия Естествознания», базе данных PubMed и NIH, научно-информационной социальной сети ResearchGate за 2003-2023 гг.

Поиск осуществлялся по ключевым словам и их комбинациям, включая «Nitric oxide synthase», «NOS prokaryotes», «NOS eukaryotes, а также их русскоязычные эквиваленты.

В обзор включались оригинальные исследования, литературные обзоры и метаанализы, содержащие данные о структурных особенностях и функциональной роли NO-синтаз в различных таксонах организмов. В исследование не включались публикации без доступа к их полному тексту. Первоначально было отобрано 80 публикаций, из которых после оценки полноты данных, методологической прозрачности и релевантности теме обзора были включены 60 источников. Критическая оценка проводилась с учетом следующих критериев: наличие описаний доменной архитектуры и аминокислотных последовательностей, данных о филогенетических связях и эволюционных сценариях, сопоставления структурных особенностей с функциональной диверсификацией.

#### *Строение NO-синтазы у эукариотических организмов*

NO-синтазы млекопитающих являются наиболее полно охарактеризованными представителями класса NOS: именно для них впервые были получены трехмерные структуры методом рентгеноструктурного анализа, что позволило детально описать молекулярные механизмы биосинтеза оксида азота [3].

У млекопитающих выявлены три основные изоформы NO-синтазы (NOS), каждая из которых кодируется отдельным геном: нейрональная (nNOS), индуцируемая (iNOS) и эндотелиальная (eNOS) [4, 5]. Изоформы nNOS и iNOS представляют собой растворимые ферменты, локализующиеся преимущественно в цитозоле, тогда как eNOS ассоциирована с плазматической мембраной [6].

Все три изоформы NOS представляют собой гомодимерные мультимодульные белки, включающие оксидазный домен на N-конце, редуктазный домен на C-конце и кальмодулин-связывающий участок между ними [5]. Оксидазный домен катализирует превращение L-аргинина в NO и цитруллин, редуктазный – обеспечивает перенос электронов от

NADPH через FAD и FMN, а кальмодулин-связывающий участок регулирует  $\text{Ca}^{2+}$ - зависимую активацию фермента, за исключением iNOS, который связывает кальмодулин независимо от уровня кальция [4]. Нейрональная NO-синтаза содержит на N-конце PDZ-домен из 100 аминокислот, который обеспечивает её точную локализацию и участие в белок-белковых взаимодействиях, особенно в нейронах [7].

Прямая визуализация переходных состояний методом электронной микроскопии показала, что у конститутивных изоформ NOS (nNOS и eNOS) связывание кальмодулина (CaM) с  $\alpha$ -спиралью инициирует освобождение FMN-домена от FAD/NADPH-домена, позволяя электронному потоку достигать оксидазного центра. CaM стабилизирует положение FMN-домена, ограничивая его подвижность и обеспечивая точное выравнивание с активным центром, что повышает катализическую эффективность [6, 8]. В iNOS кальмодулин формирует комплекс с оксидазным доменом, фиксируя FMN-домен в активной конфигурации. Электронный поток в NOS реализуется асимметрично: активен лишь один редуктазный домен, что обеспечивает поочередную активацию и предотвращает избыточную продукцию оксида азота [7, 9].

Геномный анализ последовательностей NOS у птиц выявил наличие полноразмерных изоформ NOSI и NOSII у *Gallus gallus* и *Taeniopygia guttata*. NOSI характеризуется наличием PDZ-домена, тогда как NOSII отличается отсутствием тормозной петли, что отражает их структурную дифференциацию. У *Gallus gallus* обнаружены две укороченные последовательности NOS (233 а. и 138 а.), идентифицированные как NOSIII, поскольку они демонстрируют высокую гомологию с эндотелиальной NOS млекопитающих [10].

У представителей костистых рыб изоформы NOSI и NOSII были обнаружены исключительно у *Danio rerio* и *Oncorhynchus mykiss* [10-13]. У хрящевых рыб выявлены NOSI (*Callorhinchus milii*, *Squalus acanthias*) и NOSII (*Scyliorhinus canicula*). У миноги идентифицирован ген NOSA, обладающий признаками NOSI – наличием ингибирующей петли и сходством аминокислотной последовательности, но без PDZ-домена; а также ге-

ны NOSB и NOSC, гомологичные человеческой NO-синтазе [10, 11].

У представителей рептилий и амфибий была обнаружена только NOSIII. NOSIII характеризуется наличием ингибиторной петли, регулирующей каталитическую активность фермента, однако отсутствуют N-консенсусная миристоилированная последовательность и сайт пальмитоилирования на N-конце, что может указывать на измененную мембранный локализацию [10, 12].

У головохордовых идентифицировано три гена NO-синтазы: NOSA, NOSB и NOSC. Изоформы NOSA и NOSC содержат PDZ-домен и ингибиторную петлю, что свидетельствует об их функциональном сходстве с нейрональной и эндотелиальной NOS (NOSI и NOSIII), в противоположность им, NOSB лишен обеих структур, что соответствует признакам индуцируемой NOSII [14].

У оболочников *Ciona intestinalis* и *Ciona savignyi* идентифицирован единственный ген NOS, демонстрирующий гомологию с изоформой NOSI млекопитающих.

У полухордовых была идентифицирована частичная последовательность NO-синтазы, лишенная ингибиторной петли, что указывает на ее сходство с индуцируемой изоформой NOSII [10, 15].

У иглокожих идентифицированы две последовательности NOS, обе из которых содержат ингибиторную петлю, характерную для кальций-зависимых конститутивных изоформ NOS [10].

У беспозвоночных животных (кольчатых червей, моллюсков и членистоногих) идентифицированы NOS-последовательности с ингибиторной петлей, характерной для конститутивных форм. Домен PDZ обнаружен только у моллюска *Lottia*. У других моллюсков и членистоногих выявлена ингибиторная петля [15].

У базальных многоклеточных животных выявлены разнообразные изоформы NOS, отражающие раннюю функциональную диверсификацию фермента. У книдарии *Nematostella vectensis* идентифицирован ген NOS, обладающий смешанными признаками NOSI/NOSII – наличием PDZ-домена и отсутствием ингибиторной петли. У другого представителя книдарий, *Discosoma striata*, отсутствуют оба элемента, что указывает на

возможную индуцируемую природу фермента. У плакозоя *Trichoplax adhaerens* обнаружены три NOS-последовательности с признаками конститутивной NOS. Частичные последовательности NOS, выявленные у гребневика *Pleurobrachia pileus* и губки *Oscarella carmela*, имеют признаки индуцируемой и конститутивной форм фермента [16]. Такая структурная неоднородность может свидетельствовать о том, что механизмы регуляции активности NOS начали формироваться уже на ранних этапах эволюции многоклеточных, еще до дивергенции *Bilateria*.

NOS-подобный фермент OtNOS, обнаруженный у водоросли *Ostreococcus tauri*, демонстрирует структурное и функциональное сходство с животной NO-синтазой [3]. OtNOS содержит оксидазный домен на N-конце и редуктазный домен, способен связывать кальмодулин и сохраняет значительную каталитическую активность даже в отсутствие  $\text{Ca}^{2+}$ -CaM, что сближает его с индуцируемой формой NOS (iNOS) [17]. Несмотря на отсутствие генов синтеза  $\text{BH}_4$ , предполагается использование альтернативного кофактора – тетрагидрофолата (THF), характерного для растительных метаболических путей, что отражает адаптацию фермента к специфическим условиям окружающей среды [18].

У растения *Arabidopsis thaliana* был идентифицирован NOS-подобный белок AtNOS1, экспрессируемый преимущественно в корневой системе [19]. AtNOS1 демонстрирует высокую гомологию с NOS улитки *Helix pomatia* и признаки аргинин-зависимого синтеза NO [20]. Однако, структурный анализ выявил отсутствие PDZ-домена и ингибиторной петли – элементов, характерных для животной NO-синтазы [19]. При этом AtNOS1 активируется комплексом  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулина по механизму, сходному с активацией eNOS, однако его каталитическая активность значительно ниже [21, 22].

NOS-подобные ферменты грибов отличаются от канонической NOS по строению: вместо одного белка, содержащего оксидазный и редуктазный домены, у грибов эти домены представлены отдельными белками (например, K2S718\_MACPH и EKG20706.1 у *Macrophomina phaseolina*), функционирующими независимо [23, 24]. Несмотря на модульную организацию, NOS-подобные фер-

менты грибов сохраняют зависимость от NADPH,  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{BH}_4$ , аналогично NO-синтазам животных [25].

Структура NOS-подобных ферментов у грибов и растений остается на сегодняшний день недостаточно охарактеризованной. Идентифицированные аминокислотные последовательности NOS демонстрируют лишь фрагментарное сходство с доменами животных NOS и не содержат таких ключевых структурных элементов, как PDZ-домен и ингибиторная петля. Эти особенности создают значительные трудности для таксономической классификации данных ферментов, а также для понимания молекулярных механизмов их регуляции у растений и грибов.

#### Строение NO-синтазы у прокариот

NO-синтаза, обнаруженная у *Rhodospirillaceae bacterium TMED140*, демонстрирует альтернативный редуктазный домен, лишённый классического SDR-мотива [26]. Некоторые бактериальные NO-синтазы отличаются отсутствием типичного PEF-регуляторного мотива. Так, у *Nyphotomonas* sp. TMED17 вместо него выявлены нетипичные структурные компоненты, включая кинезин-ассоциированный домен и CAP-ED – эффекторный элемент, гомологичный доменам транскрипционных регуляторов семейства CAP [26, 27].

NO-синтаза *Bacillus subtilis* (bsNOS) лишена собственного редуктазного домена, но её активность поддерживается за счёт экзогенных электронтранспортных белков [28]. Исследование Чжицяна Вана и коллег показало, что флавопротеины YkuN и YkuP могут передавать электроны bsNOS через комплекс NADPH/FLDR/FLD, обеспечивая эффективный синтез NO из L-аргинина и промежуточного продукта NOHA [29]. Эти белки проявляют структурное сходство с NADPH-цитохром P450 редуктазой, что указывает на функциональную конвергенцию прокариотических и эукариотических систем электронного переноса [28, 29].

NO-синтаза радиорезистентной бактерии *Deinococcus radiodurans* (deiNOS) демонстрирует выраженное структурное сходство с оксидазным доменом NOS млекопитающих, достигающее 34% идентичности аминокислотной последовательности, однако при этом лишена  $\text{Zn}(\text{Cys})_4$ -сайта [30]. deiNOS демон-

стрирует способность к спонтанной димеризации и самоорганизации, предположительно за счет N-концевой замены «крючков», что отражает архаичные механизмы стабилизации, предшествовавшие эукариотическим структурам [31-32]. Димеризация фермента происходит без участия кальмодулина, подчёркивая протоэволюционную природу белка [31]. Согласно данным Мохаммада Адаке, гем deiNOS способен принимать электроны от эукариотического редуктазного домена NOS, инициируя синтез NO с высокой скоростью, зависящей от тетрагидробиоптерина или тетрагидрофолата, что сопровождается образованием гем-диоксикаталитического промежуточного состояния [30].

NO-синтаза *Streptomyces turgidiscabies* (stNOS) характеризуется наличием N-концевого расширения в оксидазном домене. Предполагается, что N-концевое расширение способствует удержанию модифицированного  $\text{Zn}^{2+}$ -сайта, в котором вместо одного цистеина присутствует гистидин. Этот модифицированный  $\text{Zn}^{2+}$ -сайт stNOS, вероятно, участвует в нитровании тактомина A – фитотоксического соединения, определяющего патогенность *Streptomyces turgidiscabies* [33].

NO-синтаза *Sorangium cellulosum* (scNOS) является единственной известной бактериальной формой NOS, сочетающей оксидазный и редуктазный домены в одной полипептидной цепи фермента [3, 34]. Её оксидазный домен демонстрирует более 48% сходства с эукариотическими NOS, а редуктазный компонент включает сайты связывания NADPH, FAD и FMN и локализован на N-конце, где также присутствуют FNR-подобные участки и сегмент, связывающий кластер [2Fe–2S], гомологичный Bfd. Такая организация делает scNOS каталитически самодостаточной и функционально близкой к NOS млекопитающих [3, 35].

NO-синтазы у цианобактерий *Nostoc* sp., *Synechococcus* sp. и *Scytonema hofmanni* содержат два домена – оксидазный и редуктазный, однако лишены структурных элементов, характерных для эукариотических NOS, таких как CaM-связывающий мотив и  $\text{Zn}(\text{Cys})_4$ -сайт. Вместо них присутствуют N-концевые расширения и глобиновый до-

мен, который, предположительно, выполняет буферирующую функцию по отношению к оксиду азота и участвует в регуляции активности фермента в зависимости от уровня кислорода, отражая экологическую адаптацию цианобактерий [26].

#### *Гипотеза химерного происхождения NOS эукариот*

Гипотетические корни эволюции NOS-синтазы восходят к ранним бактериальным формам жизни, существовавшим на Земле около двух миллиардов лет назад. У архетипических прокариот NOS представлена исключительно оксидазным доменом (bNOSoxy), что указывает на их зависимость от внешних доноров электронов [36]. Комплексный филогенетический анализ bNOSoxy выявил значительную структурную и функциональную гомологию с эукариотическими изоформами NOS, что позволяет предположить происхождение всех эукариотических форм от архетипического прокариотического предшественника, содержащего только оксидазный домен [37]. Примечательно, что современные представители прокариот, такие как *Bacillus subtilis*, *Streptomyces spp.* и *Sorangium cellulosum*, сохраняют аналогичные доменные структуры, что подтверждает консервативность архитектуры и функциональную значимость bNOSoxy в ранней эволюции NOS [36, 37].

Согласно гипотезе химерного происхождения NOS эукариот, в эпоху кислородной революции протерозоя прокариотический предшественник NO-синтазы подвергся функциональной адаптации, включив в свою структуру электрон-донорный редуктазный домен, гомологичный флавопротеину сульфитредуктазы (SiR-FP) [38]. Структурный анализ подтвердил гомологию SiR-FP с редуктазным доменом эукариотической NOS, включая цитохром P450-редуктазу (CPR). Таким образом, это слияние доменов привело к формированию химерного фермента, сочетающего бактериальный оксидазный домен с редуктазным доменом, функционально сходным с CPR [39].

#### *Гипотезаserialных дупликаций генов NOS у позвоночных*

Эволюционное разнообразие NOS у позвоночных – NOS1 (nNOS), NOS2 (iNOS) и NOS3 (eNOS) – сформировалось в результате

трех последовательных событий дупликации всего генома [40].

Первая дупликация произошла у общего предка хордовых и привела к образованию двух паралогов гена NOS. У бесчелюстных, таких как *Petromyzon marinus*, наблюдается независимая амплификация генов NOS, не связанная с последующими дупликациями у гнатостомов, что отражает уникальный путь эволюции данной ферментной системы [8, 40].

Вторая дупликация произошла у челюстных позвоночных и привела к формированию трёх функциональных изоформ: двух конститутивных, регулируемых кальмодулином (NOS I/III), и одной индуцируемой (NOS II), функционально аналогичной iNOS у млекопитающих. У современных рыб эти изоформы представлены отдельными генами, чётко разграниченными по экспрессии и биологической функции [40].

Третья дупликация произошла после расхождения лучепёрых рыб и четвероногих. У костистых рыб произошло удвоение, однако сохранились лишь две копии – NOS I/III и NOS II, что может свидетельствовать о функциональной избыточности либо специфической утрате одной из копий. У четвероногих же копия NOS I/III подверглась дополнительной дупликации, что привело к формированию двух конститутивных изоформ: нейрональной NOS1 и эндотелиальной NOS3 [41, 42].

Эта трехступенчатая эволюция NO-синтазы сопровождалась процессами неофункционализации, субфункционализации и линейно-специфических потерь копий, что обеспечило формирование тканевой специфичности, функционального разнообразия и регуляторной гибкости.

#### *Основные функции NO-синтазы у прокариот и эукариот*

NO-синтазы симбиотических бактерий *Rhizobium spp.*, *Sinorhizobium meliloti* и *Bradyrhizobium japonicum* участвуют в регуляции взаимодействия с бобовыми растениями, такими как *Lupinus albus* и *Medicago truncatula*, координируя процессы инвазии, морфогенеза и адаптации к стрессу. Продуцируемый ими монооксид азота инициирует сигнальные каскады, способствующие формированию устойчивых межвидовых ассоци-

аций и поддержанию функциональной стабильности симбиоза [43]. Аналогичный механизм выявлен у морской бактерии *Silicibacter sp.* TrichCH4B, взаимодействующей с водорослью *Trichodesmium erythraeum*, где экспрессия гена NOS способствует биопленообразованию и стабилизации симбиоза [44].

Монооксид азота, продуцируемый патогенами *Staphylococcus aureus* и *Bacillus anthracis*, защищает бактерии от действия антибиотиков посредством активации катализы и ингибирования реакции Фентона, предотвращая образование гидроксильных радикалов [45]. При дефиците bNOS у *B. anthracis* нарушается экспрессия гена SodA, что повышает уязвимость к окислительному стрессу. Генетическая инактивация NOS у этого вида приводит к неспособности спор выживать внутри макрофагов вследствие отсутствия NO-зависимой антиоксидантной защиты, особенно каталазы, что критически снижает вирулентность [46].

В рамках нашего исследования впервые продемонстрирована NO-синтазная активность по отношению к триптофану у микроводоросли *Chlorella vulgaris* [47]. Ранее подобная способность считалась характерной исключительно для бактерий, включая пробиотическую *Bifidobacterium infantis* [48, 49].

У диатомовых водорослей реактивные альдегиды индуцируют NOS-подобную активность, что приводит к интенсивной продукции оксида азота (NO) и, как следствие, инициирует программируемую клеточную смерть на популяционном уровне. Этот процесс функционирует как механизм популяционного самоконтроля, предотвращая чрезмерный рост численности и истощение ресурсов [50].

У *Drosophila melanogaster* при обнаружении патогена энteroциты активируют синтез монооксида азота (NO) посредством NO-синтазы, что инициирует иммунный ответ. NO-сигналинг активирует гемоциты, которые индуцируют транскрипционные перестройки в жировом теле (аналог печени), обеспечивая системную адаптацию к инфекции [51].

Фермент NOS регулирует нейронные процессы, лежащие в основе пищевого поведения, включая оценку съедобности субстрата

и выбор подходящего пищевого стимула. У *Aplysia californica* оксид азота (NO) оказывает стимулирующее влияние на процесс откладки яиц [52].

У личинок *Crepidula fornicata* высокий уровень NO поддерживает активное движение (плавание, ползание), тогда как его снижение связано с переходом к метаморфозу [53].

У морских ежей и амфибий активность NOS ассоциирована с капацитацией и мейозом [54].

Наши исследования выявили закономерную эволюционную перестройку системы синтеза оксида азота (NOS) у позвоночных: от локальной неспецифической регуляции к глубокой нейрофункциональной интеграции [55]. У лягушки озерной наблюдается повышение плотности NO<sup>+</sup> нейронов (74–82 кл/мм<sup>2</sup>), преимущественно в сенсорных и лимбических областях, что отражает начальный этап вовлечения NO в контроль эмоционально-поведенческих реакций [58]. У карпа чешуйчатого (NO-позитивные нейроны регистрируются по всей ЦНС, но преимущественно в продолговатом мозге (48–64 кл/мм<sup>2</sup>); напротив, передний мозг характеризуется минимальной экспрессией (2–6 кл/мм<sup>2</sup>), что соответствует его автономно-вегетативной специализации [59, 60]. У домашних кур NOS-нейроны представлены в супраоптическом (280–400 кл/мм<sup>2</sup>) и дорсомедиальном (210–480 кл/мм<sup>2</sup>) ядрах гипоталамуса, демонстрируя усиление нейроэндокринной регуляции и начало функционального усложнения. У морских свинок и крыс отмечается значительное расширение зон NOS-активности: гипоталамус содержит от 140 до 820 кл/мм<sup>2</sup> NO<sup>+</sup> нейронов, а премаммиллярные ядра – более 1000 кл/мм<sup>2</sup>; дополнительная экспрессия нейрональной NOS идентифицирована в мицелевидном теле и префронтальной коре, что свидетельствует о вовлечённости NO в механизмы нейропластичности, эмоциональной регуляции и долговременной памяти [60].

В сосудистой системе eNOS, экспрессируемая в эндотелии, регулирует сосудистый тонус, препятствует тромбообразованию и участвует в ремоделировании [56]. В кардиомиоцитах nNOS контролирует сократимость посредством кальциевого обмена. В нервной системе nNOS обеспечивает синап-

тическую пластичность, модуляцию боли и когнитивные функции, тогда как при воспалении активируются астроциты и микроглия, экспрессирующие iNOS и инициирующие нейровоспаление [57]. В иммунной системе iNOS индуцируется в ответ на патогены и выполняет цитотоксическую функцию. В пищеварительной системе задействованы все три изоформы: nNOS регулирует перистальтику, eNOS кровоток, а iNOS активируется при воспалении. В дыхательной системе eNOS и iNOS участвуют в регуляции бронхиального тонуса и слизистого клиренса [55]. В почках все изоформы вовлечены в процессы гломерулярной фильтрации и водно-солевого баланса, при этом nNOS локализуется в юкстагломерулярном аппарате, а eNOS – в клубочковом эндотелии [57]. В репродуктивной системе eNOS участвует в овуляции и имплантации, nNOS – в нейроэндокринной регуляции, а iNOS активируется при воспалении. В эндокринной системе оксид азота регулирует секрецию гормонов, включая инсулин и кортизол, через сосудистые механизмы (eNOS) и нейроэндокринные пути (nNOS) [55].

Наши исследования выявили закономерную эволюционную перестройку системы синтеза оксида азота (NOS) у позвоночных: от локальной неспецифической регуляции к глубокой нейрофункциональной интеграции. У лягушки озерной наблюдается повышение плотности  $\text{NO}^+$  нейронов ( $74\text{--}82 \text{ кл}/\text{мм}^2$ ), преимущественно в сенсорных и лимбических областях, что отражает начальный этап вовлечения NO в контроль эмоционально-поведенческих реакций [58]. У карпа чешуйчатого (NO-позитивные нейроны регистрируются по всей ЦНС, но преимущественно в продолговатом мозге ( $48\text{--}64 \text{ кл}/\text{мм}^2$ ); напротив, передний мозг характеризуется минимальной экспрессией ( $2\text{--}6 \text{ кл}/\text{мм}^2$ ), что соответствует его автономно-вегетативной специализации [59, 60]. У домашних кур NOS-нейроны представлены в супраоптическом ( $280\text{--}400 \text{ кл}/\text{мм}^2$ ) и дорсомедиальном ( $210\text{--}480 \text{ кл}/\text{мм}^2$ ) ядрах гипоталамуса, демонстрируя усиление нейроэндокринной регуляции и начало функционального усложнения. У морских свинок и крыс отмечается значительное расширение зон NOS-активности: гипоталамус содержит от 140 до  $820 \text{ кл}/\text{мм}^2$   $\text{NO}^+$  нейронов, а премаммиллярные ядра –

более  $1000 \text{ кл}/\text{мм}^2$ ; дополнительная экспрессия нейрональной NOS идентифицирована в миндалевидном теле и префронтальной коре, что свидетельствует о вовлечённости NO в механизмы нейропластичности, эмоциональной регуляции и долговременной памяти [60].

**Заключение.** Эволюция NO-синтазы демонстрирует переход от простых бактериальных форм с ограниченной активностью к специализированным эукариотическим изоформам (nNOS, iNOS, eNOS), обладающим сложной структурой и строго определенными функциями. Усложнение доменной организации – включая flavиновые, гемовые и регуляторные элементы – сопровождало рост функциональной специализации. Обнаружение NOS-подобных белков у грибов и растений может свидетельствовать о независимых эволюционных путях.

#### Список использованных источников

1. Structure, distribution, regulation, and function of splice variant isoforms of nitric oxide synthase family in the nervous system / Curr. Protein Pept. Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 510–534.
2. Feng, C. Mechanism of nitric oxide synthase regulation: Electron transfer and interdomain interactions / C. Feng // Coordination Chemistry Reviews. – 2012. – Vol. 256, № 3–4. – P. 393–411.
3. Correa-Aragunde, N. Structure diversity of nitric oxide synthases (NOS): the emergence of new forms in photosynthetic organisms / N. Correa-Aragunde, N. Foresi, L. Lamattina // Frontiers in Plant Science. – 2013. – Vol. 4, № 232. – P. 1–6.
4. Wierońska, J.M. Nitric oxide-dependent pathways as critical factors in the consequences and recovery after brain ischemic hypoxia / J.M. Wierońska, P. Cieślik, L. Kalinowski // Biomolecules. – 2021. – Vol. 11, No. 8. – P. 1–10.
5. Zhang, W. Nitric oxide synthase and its function in animal reproduction: an update / W. Zhang, S. Chen, L. Guo, Z. Zhang, J. Zhang, X. Wang, et al. // Future Journal of Physiology. – 2023. – Vol. 14, № 1288669. – P. 1–20.
6. Alderton, W.K. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition / W.K. Alderton, C.E. Cooper, R.G. Knowles // Biochemical

- Journal. – 2001. – Vol. 357, № 3. – P. 593–615.
7. Campbell, M.G. Molecular architecture of mammalian nitric oxide synthases / M.G. Campbell, B.C. Smith, C.S. Potter, B. Carragher, M.A. Marletta // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2014. – Vol. 111, № 33. – P. E3614–E3622.
8. Förstermann, U. Nitric oxide synthases: Regulation and function / U. Förstermann, W.C. Sessa // European Heart Journal. – 2012. – Vol. 33, № 7. – P. 829–837.
9. Smith, B.C. Nitric oxide synthase domain interfaces regulate electron transfer and calmodulin activation / B.C. Smith, E.S. Underbakke, D.W. Kulp, W.R. Schief, M.A. Marletta // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2013. – Vol. 110, № 38. – P. E3577–E3586.
10. Foresi, N. Characterization of nitric oxide synthase (NOS)-like activity in *Arabidopsis thaliana* / N. Foresi, N. Correa-Aragunde, F. Parisi, R. Calo, L. Salerno, L. Lamattina // Molecular Biology and Evolution. – 2011. – Vol. 28, № 1. – P. 163–173.
11. Poon, K.L. Expression pattern of neuronal nitric oxide synthase in embryonic zebrafish / K.L. Poon, M. Richardson, C.S. Lam, H.E. Khoo, V. Korzh // Gene Expression Patterns. – 2003. – Vol. 3. – P. 463–466.
12. Lepiller, S. Comparative analysis of zebrafish nos2a and nos2b genes / S. Lepiller, N. Franche, E. Solaray, J. Chluba, V. Laurens // Gene. – 2009. – Vol. 445. – P. 58–65.
13. Wang, T. Molecular cloning, gene organization and expression of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene / T. Wang, M. Ward, P. Grabowski, C.J. Secombes // Biochemical Journal. – 2001. – Vol. 358. – P. 747–755.
14. Godoy, L. S-Nitrosoglutathione reductase activity of amphioxus ADH3: insights into the nitric oxide metabolism / L. Godoy, R. González-Duarte, R. Albalat // International Journal of Biological Sciences. – 2006. – Vol. 2. – P. 117–124.
15. Matsuo, R. Genomic structure of nitric oxide synthase in the terrestrial slug is highly conserved / R. Matsuo, K. Misawa, E. Ito // Gene. – 2008. – Vol. 415. – P. 74–81.
16. Moroz, L.L. On the comparative biology of nitric oxide (NO) synthetic pathways: parallel evolution of NO-mediated signalling / L.L. Moroz, A.B. Kohn, B. Trimmer, B. Tota // In: Nitric Oxide. Advances in Experimental Biology. – Amsterdam ; Oxford : Elsevier, 2007. – P. 1–44.
17. Foresi, N. Characterization of a nitric oxide synthase from the plant kingdom: NO generation from the green alga *Ostreococcus tauri* is light irradiance and growth-phase dependent / N. Foresi, N. Correa-Aragunde, G. Parisi, G. Calo, G. Salerno, L. Lamattina // In: Plant Cell. – 2010. – Vol. 22. – P. 3816–3830. – DOI: 10.1105/tpc.109.073510.
18. Derelle, E. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features / E. Derelle, C. Ferraz, S. Rombauts, P. Rouzé, A.Z. Worden, S. Robbins [et al.] // In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2006. – Vol. 103. – P. 11647–11652. – DOI: 10.1073/pnas.0604795103.
19. Guo, F. Q. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signalling / F. Q. Guo [et al] // Science. – 2003. – V. 302. – P. 100-103.
20. Guo, F. Q. *Arabidopsis* nitric oxide synthase 1 is targeted to mitochondria and protects against oxidative damage and dark-induced senescence / F. Q. Guo, N. M. Crawford // Plant Cell. – 2005. – V. 17. – P. 3436-3450.
21. Hasanuzzaman, M. Physiological and biochemical mechanisms of nitric oxide induced abiotic stress tolerance in plants / M. Hasanuzzaman, M.A. Hossain, M. Fujita // In: American Journal of Plant Physiology. – 2010. – Vol. 5. – P. 295–324.
22. Crawford N.M. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants / N.M. Crawford // Journal of Experimental Botany. – 2006. – Vol. 57, № 3. – P. 471–478.
23. Arasimowicz-Jelonek, M. Nitric oxide in the offensive strategy of fungal and oomycete plant pathogens / M. Arasimowicz-Jelonek, J. Floryszak-Wieczorek // In: Frontiers in Plant Science. – 2016. – Vol. 7. – Article 252.
24. Sarkar, T.S. Nitric oxide production by necrotrophic pathogen *Macrophomina phaseolina* and the host plant in charcoal rot disease of jute: complexity of the interplay between necrotroph–host plant interactions /

- T.S. Sarkar, P. Biswas, S.K. Ghosh, S. Ghosh // In: PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, № 9. – Article e107348.
25. Röszer T. NO synthesis in subcellular compartments of fungi / T. Röszer // In: The Biology of Subcellular Nitric Oxide / ed. T. Röszer. – New York : Springer Science Business Media B.V. – 2012. – P. 83–102.
26. Santolini, J. What does “NO-Synthase” stand for? / J. Santolini // In: Frontiers in Bioscience (Landmark Edition). – 2019. – Vol. 24, № 1. – P. 129–167.
27. Hannibal, L. Influence of heme thiolate in shaping the catalytic properties of a bacterial nitric-oxide synthase / L. Hannibal, R. Somasundaram, J. Tejero, A. Wilson, D.J. Stuehr // In: Journal of Biological Chemistry. – 2011. – Vol. 286, № 45. – P. 39224–39235.
28. Pant, K. Structure of a nitric oxide synthase heme protein from *Bacillus subtilis* / K. Pant, A.M. Bilwes, S. Adak, D.J. Stuehr, B.R. Crane // In: Biochemistry. – 2002. – Vol. 41, № 37. – P. 11071–11079.
29. Wang, Z.-Q. Bacterial flavodoxins support nitric oxide production by *Bacillus subtilis* nitric-oxide synthase / Z.-Q. Wang, R.J. Lawson, M.R. Buddha, C.-C. Wei, B.R. Crane, A.W. Munro, D.J. Stuehr // In: Journal of Biological Chemistry. – 2007. – Vol. 282, № 4. – P. 2196–2202.
30. Cloning, expression, and characterization of a nitric oxide synthase protein from *Deinococcus radiodurans* / S. Adak, A.M. Bilwes, K. Panda [et al] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2002. – Vol. 99, № 1. – P. 107–112.
31. Reaction intermediates of nitric oxide synthase from *Deinococcus radiodurans* as revealed by pulse radiolysis: evidence for intramolecular electron transfer from biopterin to  $\text{Fe}^{2+}\text{O}_2$  complex / Y. Tsutsui, K. Kobayashi, F. Takeuchi [et al] // Biochemistry. – 2018. – Vol. 57, № 10. – P. 1611–1619.
32. An unusual tryptophanyl tRNA synthetase interacts with nitric oxide synthase in *Deinococcus radiodurans* / M.R. Buddha, K.M. Kirsch, B.R. Crane [et al] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2004. – Vol. 101, № 45. – P. 15881–15886.
33. A bacterial nitric oxide synthase functions in oxidative stress defense / M.R. Buddha, K.M. Kirsch, B.R. Crane [et al] // Nature. – 2004. – Vol. 427, № 6977. – P. 153–156.
34. NO formation by a catalytically self-sufficient bacterial nitric oxide synthase from *Sorangium cellulosum* / T. Agapie, S. Suseno, J.J. Woodward [et al] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2009. – Vol. 106, № 38. – P. 16221–16226.
35. Complete genome sequence of the myxobacterium *Sorangium cellulosum* / S. Schneiker, R. Keller, A. Zähner [et al] // Nature Biotechnology. – 2007. – Vol. 25. – P. 1281–1289.
36. Evolutionary roots of arginase expression and regulation / J.M. Dzik, S. Mills, D.M. Mosser [et al] // Frontiers in Immunology. – 2014. – Vol. 5. – Article 544.
37. A bacterial nitric oxide synthase from *Bacillus subtilis*: a flavoprotein with nitric oxide synthase activity but no heme / S. Sudhamsu, K. Crane, D.J. Stuehr [et al] // FEBS Letters. – 2003. – Vol. 555, № 3. – P. 387–392.
38. In search of the prototype of nitric oxide synthase / T. Zemojtel, R.C. Wade, T. Dandekar [et al] // FEBS Letters. – 2003. – Vol. 554, № 1–2. – P. 1–5.
39. Solution structure of the sulfite reductase flavodoxin-like domain from *Escherichia coli* / N. Sibille, M. Blackledge, B. Brutscher [et al] // Biochemistry. – 2005. – Vol. 44, № 25. – P. 9086–9095.
40. Evolution of the nitric oxide synthase family in metazoans / N. Andreakis, S. D’Aniello, R. Albalat [et al] // Molecular Biology and Evolution. – 2011. – Vol. 28, № 1. – P. 163–179.
41. Evolution of the nitric oxide synthase family in vertebrates and novel insights in gill development / G. Annona, I. Sato, J. Pascual-Anaya [et al] // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2022.
42. NO modulation of myocardial performance in fish hearts / B. Tota, D. Amelio, D. Pellegrino, Y.K. Ip, M.C. Cerra // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2005. – Vol. 142. – P. 164–177.
43. Умаров Б.Р. Ризобиальные бактерии рода *Sinorhizobium fredii* и *Bradyrhizobium japonicum*, вступающие в симбиоз с растениями сои / Б.Р. Умаров // Universum: хи-

- мия и биология. – 2019. – № 4(58). – С. 1–3.
44. Nitric oxide mediates biofilm formation and symbiosis in *Silicibacter* sp. strain TrichCH4B / M. Rao, B.C. Smith, M.A. Marletta [et al.] // *mBio*. – 2015. – Vol. 6, № 3. – Article e00206-15.
45. Endogenous nitric oxide protects bacteria against a wide spectrum of antibiotics / I. Gusarov, K. Shatalin, M. Starodubtseva, E. Nudler // *Science*. – 2009. – Vol. 325. – P. 1380–1384.
46. Gusarov, I. NO-mediated cytoprotection: instant adaptation to oxidative stress in bacteria / I. Gusarov, E. Nudler // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2005. – Vol. 102. – P. 13855–13860.
47. Губейко, А. С. Определение NO-синтазной активности у прокариот и эукариот непрямым методом / А.С. Губейко, Д.А. Слиж // Молодежь в науке – 2024 : тезисы докладов XX Международной научной конференции молодых ученых, Минск, 29–31 октября 2024 г. : в 2 ч. / Нац. акад. наук Беларусь, Совет молодых ученых ; редкол.: В. Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Минск : Беларусская наука, 2024. – Ч.1. – С. 262-264.
48. Губейко, А. С. Оценка NO-синтазной активности у прокариот и низших эукариот / А. С. Губейко, О. Н. Жук, В. И. Дунай // Пинские чтения : материалы II международной научно-практической конференции, приуроченной к 927-летию основания города Пинска, Пинск, 3 октября 2024 г. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.]; редкол.: В. И. Дунай (гл. ред.), И. Э. Бученков. – Пинск : ПолесГУ, 2024. – С. 63-66.
49. Губейко, А. С. Способность пробиотических бактерий к NO-синтазной активности / А.С. Губейко; науч. рук. В. И. Дунай // Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси : материалы XVIII международной молодежной научно-практической конференции, Пинск, 19 апреля 2024 г. : в 2 ч. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.]; редкол.: В. И. Дунай [и др.]. – Пинск : ПолесГУ, 2024. – Ч. 2. – С. 190-192.
50. Stress Surveillance System Based on Calcium and Nitric Oxide in Marine Diatoms / A. Vardi, F. Formiggini, R. Casotti [и др.] // *PLoS Biology*. – 2006. – Т. 4, № 3. – С. e60.
51. Droujinine, I.A., Perrimon, N. Interorgan communication pathways in physiology: focus on *Drosophila* / I.A. Droujinine, N. Perrimon // *Annual Review of Genetics*. – 2016. – Vol. 50. – P. 539–570.
52. Susswein, A.J. Nitric oxide as a regulator of behavior: new ideas from *Aplysia* feeding / A.J. Susswein, H.J. Chiel // *Progress in Neurobiology*. – 2012. – Vol. 97, № 3. – P. 304–317.
53. Pechenik, J.A. Nitric oxide inhibits metamorphosis in larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* / J.A. Pechenik, T.R. Cochrane, K. Li, D. Pires // *The Biological Bulletin*. – 2007. – Vol. 213, № 2. – P. 160–171.
54. Tosti, E. Calcium and nitric oxide in the activation of gametes / E. Tosti, G. Boni // *Molecular Reproduction and Development*. – 2004. – Vol. 67, № 3. – P. 293–299.
55. Khan, A.U. Regulation of Inflammatory Mediators in Nitric Oxide Signaling and Its Role in Inflammatory Diseases / A.U. Khan, M. Alsahli, M. Rahmani [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 26, № 3. – Article 1204.
56. Nitric Oxide: Physiological Functions, Delivery, and Biomedical Applications / S.M. Andrabi, N.S. Sharma, A. Karan [et al.] // *Advanced Science*. – 2023. – Vol. 10. – Article e2303259.
57. Dysfunctional and Dysregulated Nitric Oxide Synthases in Cardiovascular Disease: Mechanisms and Therapeutic Potential / R. Roy, J. Wilcox, A.J. Webb [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – Article 15200.
58. Дунай, В. И. Распределение NO-позитивных нейронов в головном мозге у пойкилотермных организмов / В. И. Дунай // Журнал Гродненского государственного медицинского университета: ежеквартальный научно-практический журнал. – 2008. – № 2 (22). – С. 44-46.
59. Дунай, В. И. Филогенез NO-ергической системы головного мозга / В. И. Дунай, Б. В. Лысый, С. Б. Мельнов // Весці БДПУ. Серыя 3. Фізіка. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія: навукова-метадычны часопіс. – 2007. – № 4 (54). – С. 40-43.

60. Дунай, В. И. Распределение NO-ergicеской системы головного мозга позвоночных в процессе филогенеза / В. И. Дунай // Доклады Национальной академии наук Беларуси : научно-практический журнал. – 2007. – Т. 51. – № 5. – С. 106-109.

*Received 9.10.2025*

**М.М. ВОРОБЬЕВА**, канд. биол. наук, доцент  
заведующий кафедрой биотехнологии<sup>1</sup>  
*E-mail: masch.89@mail.ru*

**А.С. ПОПОК**  
магистрант биотехнологического факультета<sup>1</sup>  
*E-mail: alina\_popok@mail.ru*

<sup>1</sup>Полесский государственный университет,  
г. Пинск, Республика Беларусь

*Статья поступила 10.10.2025 г.*

## **ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА РИСУНКА ПЕРЕДНЕСПИНКИ ИМАГО *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY, 1824 И ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕМЕЙСТВ ГЕНОВ CYP450 КАК МЕХАНИЗМОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ИНСЕКТИЦИДАМ**

*В популяциях *L. decemlineata*, коллектированных на территории Брестской области, отмечены все описанные Фасулати феноформы рисунка переднеспинки имаго с разной частотой встречаемости. Сравнительный анализ фенотипической структуры исследуемых популяций *L. decemlineata* показал, что пространственно-разобщенные популяции характеризуются сходством рисунка центральной части переднеспинки. В разные годы частота встречаемости различается, что, возможно, обусловлено применением разных групп инсектицидов.*

*Разные феноформы демонстрируют разный уровень устойчивости к препарату «Битоксибациллин», что указывает на необходимость постоянного мониторинга и подбора эффективных инсектицидов для использования в сельском хозяйстве с учетом эволюционных изменений в популяциях *L. decemlineata*.*

*У имаго *L. decemlineata* представлены большим числом копий и обладают высоким уровнем вариабельности следующие гены: CYP4BN13, CYP4C1, CYP4C3, CYP6A23 и CYP6K1LIKE. Поскольку на увеличение числа копий генов оказывает влияние воздействие инсектицидов, можно предположить, что анализируемые имаго *L. decemlineata* подвергались обработке инсектицидов, что вызвало их экспрессию генов.*

**Ключевые слова:** *Leptinotarsa decemlineata*, резистентность, инсектициды, препарат «Битоксибациллин», феноформы, система CYP450, вариабельность.

**VARABYOVA M.M.**, PhD. in Biol. Sc., Associate Professor  
Head of the Department of Biotechnology<sup>1</sup>

**POPOK A.S.**, Master's Student at the Faculty of Biotechnology<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

## **STUDY OF POLYMORPHISM PATTERN OF THE PRONOTUM OF IMAGO *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY, 1824 AND VARIABILITY OF CYP450 GENE FAMILIES AS MECHANISMS OF RESISTANCE TO INSECTICIDES**

*In *L. decemlineata* populations collected in the Brest region, all the pronotum pattern phenoforms described by Fasulati were observed in adults with varying frequencies. A comparative analysis of the phenotypic structure of the studied *L. decemlineata* populations revealed that areal separated populations*

are characterized by similarities in the central pronotal pattern. The frequency of occurrence varies between years, possibly due to the use of different groups of insecticides. Different phenoforms exhibit varying levels of resistance to «Bitoxibacillin», indicating the need for ongoing monitoring and selection of effective insecticides for agricultural use, taking into account evolutionary changes in *L. decemlineata* populations. In *L. decemlineata* adults, the following genes are expressed in high copy numbers and exhibit high variability: CYP4BN13, CYP4C1, CYP4C3, CYP6A23, and CYP6K1LIKE. Since exposure to insecticides influences copy number variation increases, it can be assumed that the analyzed *L. decemlineata* adults were exposed to insecticides, what triggered their gene expression.

**Keywords:** resistance, insecticides, preparation «Bitoxibacillin», phenoforms, CYP450 system, variability.

**Введение.** Одной из важнейших народохозяйственных, социальных и природоохранных проблем государства является усовершенствование систем защиты сельскохозяйственных культур от насекомых-фитофагов, в частности экологически пластичных видов, способных к массовым размножениям и активным территориальным экспансиям. Известным классическим примером является *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824, принадлежащий в условиях Беларуси к числу экономически значимых вредителей картофеля в соответствии с постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь № 29 от 17.10.2016 г. Как известно, высокая численность фитофага способствует снижению урожая картофеля, уменьшению размера клубней и повышению содержания в них крахмала, а также распространению вирусных и бактериальных инфекций [1].

Согласно литературным данным, *L. decemlineata* характеризуются высокой экологической пластичностью, а также биохимической, морфологической и генетической вариабельностью, что позволяет им быстро и эффективно адаптироваться к изменениям условий окружающей среды. Индукторами микроэволюционных процессов, проводящих к изменению генетической структуры популяций колорадского жука, являются условия питания и экологические факторы, ведущую роль среди которых играет применение в системах защиты картофеля инсектицидов различной химической природы. В последние годы отмечается появление новых генетических форм *L. decemlineata* с повышенной агрессивностью или иными непредсказуемыми свойствами, к числу которых принадлежит устойчивость к инсектицидам из клас-

сов фосфорорганических соединений, карбаматов, пиретроидов, нереистоксинов и неоникотиноидов, а также наличии тесной связи между устойчивостью имаго колорадского жука к инсектицидам и частотой встречаемости определенных фенов [2–3].

Существует предположение, что в основе устойчивости насекомых к инсектицидам лежат те же механизмы, что и отвечают за устойчивость к природным фитотоксинам. Установлено, что семейство генов Р450 является ключевым в системе формирования резистентности у насекомых. Данный факт позволяет связать эволюционно выработанную устойчивость насекомых к естественным фитотоксинам с устойчивостью к инсектицидам, что имеет колossalное значение для разработки современных приемов борьбы с насекомыми-вредителями [4–5].

Исходя из представленного выше, можно заключить, что *L. decemlineata* является универсальной моделью для изучения внутривидового фенотипического полиморфизма, а также устойчивости конкретных морф к инсектицидам и изменений системы СҮР450, отвечающей за нейтрализацию метаболитов растений и инсектицидов. В связи с этим целью работы являлось изучить вариабельность рисунка переднеспинки и оценить резистентность разных феноформ имаго *L. decemlineata*, коллектированных на территории Брестской области, к инсектицидам, а также получить новые научно обоснованные данные о микроэволюционных изменениях в системе СҮР450, отвечающей за нейтрализацию к инсектицидам.

**Материалы и методика исследований.** Объектом исследования послужили имаго *L. decemlineata*, коллектированные с посадок картофеля на личных приусадебных участках

Бресткой области (г. Иваново, г. Пинск, г. Лунинец и г.п. Паражонск) в летний и осенний период 2024–2025 года.

Сбор материала проводился вручную с посадок картофеля по диагональной линии участка через каждые 10–15 метров, по 2 экземпляра имаго с куста [6]. *L. decemlineata* помещали в контейнеры, дно которых было выстлано фильтровальной бумагой, смоченной несколькими каплями воды, для сохранения влажности. В каждый контейнер помещали фрагмент листа картофеля для поддержания питания транспортируемых *L. decemlineata*. Объем выборки в каждой популяции составил 50 штук.

Для анализа фенотипического полиморфизма в популяциях *L. decemlineata* использовали долевое соотношение девяти различных фенов центральной части переднеспинки (рисунок 1) [3].

Статистический анализ полученных данных провели методом непараметрической статистики (U-критерий Манна-Уитни) в программе STATISTICA 8.0. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

Для оценки устойчивости *L. decemlineata* использовали препарат «Битоксибациллин» (РФ, действующие вещество – спорокристаллический комплекс *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis*).

Эксперимент проводили в чашках Петри, предварительно выстлав дно фильтровальной бумагой, смоченной несколькими каплями воды, для поддержания влажности. В каждую чашку Петри помещали листовую пластинку картофеля, смоченную с обеих сторон раствором препарата (для опытных образцов) или водой (для контрольных образцов) и по 5 особей имаго колорадского жука.

Подбор концентрации инсектицида проводили экспериментально, основываясь на концентрациях, предложенных производителями. Для проведения экспериментов использовали концентрации, при которых погибало 50% и 95% особей в каждом эксперименте. Учет выживших/погибших особей проводили на протяжении нескольких суток через 1ч., 3 ч., 6 ч. и 20 ч.

Расчет смертности в опытных вариантах (С) проводили по формуле Аббота (Abbott 1925):

$$C = (A - B) / A \times 100,$$

где А – общее число особей в опытной группе, В – число выживших особей [7].

В работе использовали информацию о семействах генов Р450, депонированных в GenBankNCBI [8]. Для оценки вариабельности представленных семейств генов последовательности выравнивали в программе MEGA11 поочередным использованием алгоритмов Muscle и Clustal при установленном разрешении на включение пробелов в выровненные последовательности [9] и рассчитывали парные генетические дистанции.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Анализ результатов свидетельствует о том, что в популяциях *L. decemlineata*, коллектированных на территории Брестской области, отмечены все описанные Фасулати феноформы рисунка переднеспинки имаго с разной частотой встречаемости.

В популяциях *L. decemlineata*, коллектированных в Брестской области, хорошо представлены феноформа 1 (30%), феноформа 3 (16,7%) и феноформа 5 (13,3%). Феноформа 8 является очень редкой для данной популяции колорадского жука (3,3%).

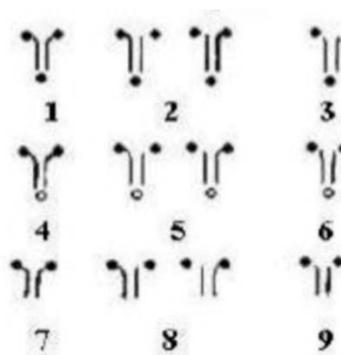


Рисунок 1. – Фены рисунка переднеспинки имаго *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824

Полученные нами результаты в 2024–2025 гг. по частоте встречаемости вариаций фена рисунка центральной части переднеспинки *L. decemlineata*, коллектированных на территориях Брестской области, несколько отличаются с результатами, полученными нами ранее. Так, например, в 2018–2019 гг. на данной территории наиболее хорошо были представлены феноформа 1 (25,9%), феноформа 4 (21,7%) и феноформа 6 (20,3%), а наиболее плохо – феноформа 8 (2,4%) и феноформа 9 (3,4%).

Сравнительный анализ фенотипической структуры исследуемых популяций *L. decemlineata* показал, что пространственно-разобщенные популяции из Брестской области характеризуются сходством рисунка центральной части переднеспинки. Статистически значимых различий при сравнении выборок из разных точек сбора по частотам анализируемых фенов отмечено не было ( $p \geq 0,05$ ). Тем не менее, внутрипопуляционное разнообразие рисунка центральной части переднеспинки *L. decemlineata* свидетельствует об изменении фенотипической структуры в разные годы, что, возможно, обусловлено инсектицидным прессом.

Согласно литературным данным, ключевую роль в индуцировании микроэволюционных процессов в популяциях *L. decemlineata* играют вторичные метаболиты, входящие в состав кормовых растений, и антропогенные факторы, связанные с агропроизводством. Как показывают многочисленные исследования, за последнее 50 лет популяции *L. decemlineata* сформировали резистентность к большинству применяемым инсектицидам. Интересным является то, что феноформы обладают разным уровнем резистентности к разным группам инсектицидов. Согласно литературным данным, феноформа 3, феноформа 6 и феноформа 9 обладают более высоким уровнем резистентности к пиретроидным инсектицидам, чем феноформа 1, феноформа 2, феноформа 5, феноформа 7 и феноформа 8. На сегодняшний день, в литературе отсутствуют информация об устойчивости *L. decemlineata* к биологическим препаратам.

Результаты нашего исследования позволили заключить, что наибольшую чувствительность к препарату «Битоксибациллин»

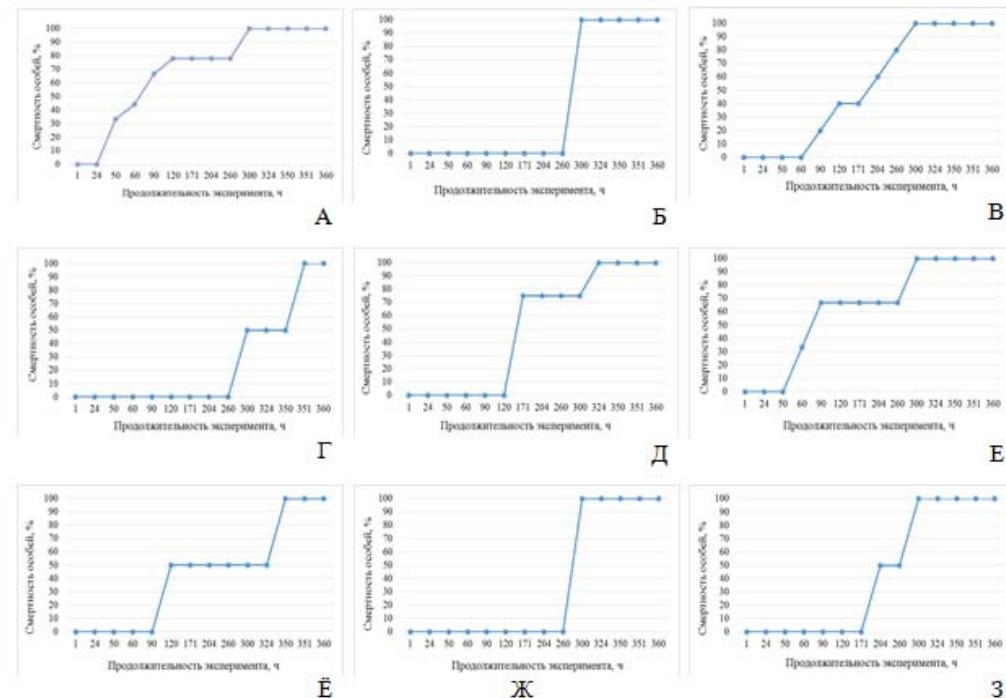
показали особи, относящиеся к феноформе 1. Смертность особей феноформы 1 уже на 50-ом часу эксперимента составила 33,3%, тогда как у особей остальных восьми феноформ наблюдалась 100% выживаемость. Высокая степень резистентности к испытуемому препарату была выявлена у особей феноформы 4, гибель первого имаго зафиксирована на 300-ом часу эксперимента (рисунок 2).

Таким образом, можно заключить, что разные феноформы действительно демонстрируют разный уровень устойчивости к инсектицидам в зависимости от времени контакта с ним. Результаты устойчивости особей *L. decemlineata*, принадлежащих разным феноформам, к испытуемому препарату указывают на необходимость постоянного мониторинга и подбора эффективных инсектицидов для использования в сельском хозяйстве с учетом эволюционных изменений в популяциях *L. decemlineata*.

Как было представлено выше, цитохромы p450 играют ключевую роль в метаболизме ксенобиотиков у *L. decemlineata* и, согласно литературным данным, существует корреляция между уровнем экспрессии этих генов и резистентностью к инсектицидам. В рамках настоящего исследования мы решили оценить представленность CYP450 в GenBank и уровень их вариабельности для *L. decemlineata*.

Как оказалось, в GenBank хорошо представлены CYP4: CYP4AA1, CYP4Q10, CYP4BN13, CYP4BN14, CYP4BN12, CYP4G34, CYP4G29, CYP4AC1, CYP4Q11, CYP4C1, CYP4C3, CYP4S3, CYP4V2, CYP4D8, CYP4D2, CYP4G15, CYP4CW1, CYP4BN15, CYP4G58, CYP4G57. Эти гены отличаются по количеству копий и длине. Обращает на себя внимание то, что у *L. decemlineata* представлены большим числом копий гены CYP4BN13, CYP4C1 и CYP4C3.

Для оценки вариабельности последовательностей CYP4 провели сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей паралогичных генов, представленных максимальным числом копий, в частности генов CYP4BN13, CYP4C1 и CYP4C3, и рассчитали парные дистанции между ними.



А – феноформа 1, Б – феноформа 2, В – феноформа 3, Г – феноформа 4, Д – феноформа 5,  
Е – феноформа 6, Ё – феноформа 7, Ж – феноформа 8, З – феноформа 9

Рисунок 2. – Чувствительность феноформы имаго *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824  
к препарату «Битоксибациллин»

Оказалось, средневзвешенное значение нуклеотидной дистанции для копий гена CYP4BN13 составило  $0,056 \pm 0,020$  (здесь и далее по тексту раздела первый показатель является средним значением, а второй – стандартной ошибкой среднего), гена CYP4C1 –  $1,069 \pm 0,480$  и гена CYP4C3 –  $1,315 \pm 0,583$ . Гены CYP4C3 и CYP4C1 имели высокие показатели значений генетических дистанций, что указывает на высокий уровень внутривидового генетического полиморфизма.

В GenBank также хорошо представлены CYP6: CYP6EG1, CYP6BJ1V, CYP6BJ2, CYP6BJ3, CYP6BU1, CYP6BH1V, CYP6LIKE, CYP6D4, CYP6A23, CYP6A2LIKE, CYP6K1LIKE, CYP6A14, CYP6A13, CYP6A8, CYP6EG1, CYP6EF1, CYP6EH1, CYP6ED1, CYP6BD18, CYP6BD17, CYP6BD16, CYP6BD15, CYP6BD19, CYP6BH2 и CYP6BD20, которые также разнились по количеству копий и длине.

Оказалось, что гены CYP6A23 и CYP6K1LIKE обладали большим числом ко-

пий, поэтому именно для этих генов были рассчитаны парные дистанции. Средневзвешенное значение генетической дистанции для копий CYP6A23 составило  $0,465 \pm 0,210$  (здесь и далее по тексту раздела первый показатель является средним значением, а второй – стандартной ошибкой среднего), а CYP6K1LIKE –  $1,026 \pm 0,558$ . Таким образом, можно заключить, что гены CYP6A23 и CYP6K1LIKE характеризуются высоким уровнем внутривидового генетического полиморфизма.

Учитывая имеющуюся в литературе информацию о том, что количество копий генов зависит от содержания вторичных метаболитов в кормовых растениях и воздействия инсектицидов, можно предположить, что анализируемые имаго *L. decemlineata* обрабатывались инсектицидами, что вызвало экспрессию этих генов.

**Заключение.** Внутрипопуляционное разнообразие рисунка центральной части переднеспинки *L. decemlineata* свидетельствует об изменении фенотипической структуры, что,

возможно, обусловлено воздействием инсектицидов.

Устойчивость имаго *L. decemlineata* к препаратору «Битоксибациллин» указывает на необходимость постоянного мониторинга и подбора эффективных инсектицидов для использования в сельском хозяйстве с учетом эволюционных изменений в популяциях *L. decemlineata*.

У имаго *L. decemlineata* представлены большим числом копий и обладают высоким уровнем вариабельности следующие гены: CYP4BN13, CYP4C1, CYP4C3, CYP6A23 и CYP6K1LIKE. Поскольку на увеличение количества копий генов оказывает влияние воздействие инсектицидов, можно предположить, что анализируемые имаго *L. decemlineata* подвергались обработке инсектицидов, что вызвало экспрессию этих генов.

#### Список использованных источников

1. Об установлении перечня особо опасных вредителей, болезней растений и сорняков и признании утратившими силу некоторых постановлений Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь : постановление М-ва сельского хозяйства и продовольствия Респ. Беларусь от 17 октября 2016 года №29 // ЭТАЛОН : информ.-поисковая система (дата обращения: 23.11.2025).
2. Сухорученко, Г. И. Положение с резистентностью колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae) к инсектицидам в разных зонах картофелеводства России / Г. И. Сухорученко [и др.] // Вестник защиты растений. – 2010. – №3. – С. 30–38.
3. Фасулати, С. Р. Формирование внутривидовой структуры у насекомых в условиях агроэкосистем на примерах колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Coleoptera, Chrysomelidae) и вредной чешуекрылки *Eurygaster integriceps* Puton, 1881 (Heteroptera, Scutelleridae) / С. Р. Фасулати // Науковий вісник Ужгородського університету. Сер. Біологія. – 2010. – Випуск 29. – С. 13–27.
4. Feyereisen, R. Molecular biology of insecticide resistance / R. Feyereisen // Toxicol. Lett. – 1995 – Vol. 82, № 3. – P. 83–90.
5. Полиморфизм рисунков переднеспинки, темени, элітр и фенотипическое проявление резистентности в популяциях *Leptinotarsa decemlineata* Say южных регионов Беларуси / М. М. Воробьева, Н. В. Воронова, Е. А. Абакумова, К. В. Аргер // Веснік Мазырскага дзяржаўнага педагогічнага ўніверсітэта імя І.П. Шамякіна : навуковы часопіс. – 2020. – № 1 (55). – С. 9–15.
6. Бабкина, Л. А. Изучение фенотипического полиморфизма в популяциях колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) Льговского и Рыльского районов Курской области / Л. А. Бабкина, И. П. Балабина, Н. А. Балабина, К. В. Мерзлякова // Auditorium. Электронный научный журнал Курского государственного университета. – 2016. – №4 (12). – С. 10–16.
7. Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide / W. S. Abbott // Econ. Entomol. – 1925. – № 18. – P. 265–267.
8. GenBank Overview [Electronic resource] / GenBank Overview. – [USA], 2017. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (date of access: 13.11.2025).
9. Kumar, S. A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences / S. Kumar [et al.] // Briefings in Bioinformatics. – 2008. – Vol. 9. – P. 299–306.

#### References

1. *On establishing a list of particularly dangerous pests, plant diseases and weeds and recognizing as invalid certain resolutions of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus* [On the establishment of a list of particularly dangerous pests, plant diseases and weeds and the invalidation of certain resolutions of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus]. Resolution of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus dated October 17, 2016, no. 29. ETALON: information retrieval system (date accessed: November 23, 2025). (In Russian)
2. Sukhoruchenko G. I. et al. Polozhenie s rezzistentnostyu koloradskogo zhuka *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae) k insekticidam v raznykh zonakh kartofelevodstva Rossii [The status of resistance of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae) to insecticides in different potato-growing zones of Russia]. Vestnik Minskogo gosudarstvennogo universiteta imeni I.P. Shamykina. Ser. Biologiya. – 2010. – № 29. – S. 13–27.

- Chrysomelidae) to insecticides in different potato growing zones of Russia]. *Vestnik zashchity rastenij* [Plant Protection Bulletin]. 2010, no. 3, pp. 30–38. (In Russian)
3. Fasulati S. R. Formirovanie vnutrividovoj struktury u nasekomy'kh v usloviyakh agroekosistem na primerakh koloradskogo zhuka Leptinotarsa decemlineata Say, 1824 (Coleoptera, Chrysomelidae) i vrednoj cherepashki Eurygaster integriceps Puton, 1881 (Heteroptera, Scutelleridae) [Formation of intraspecific structure in insects under conditions of agroecosystems on the examples of the Colorado potato beetle Leptinotarsa decemlineata Say, 1824 (Coleoptera, Chrysomelidae) and the harmful turtle Eurygaster integriceps Puton, 1881 (Heteroptera, Scutelleridae)]. *Naukovij vi'snik Uzhgorods'kogo universitetu. Ser. Biologiya* [Scientific Bulletin of Uzhgorod University. Series: Biology], 2010. Issue 29. (In Russian)
  4. Feyereisen R. Molecular biology of insecticide resistance. *Toxicol. Lett.* 1995. Vol. 82, no.3, pp. 83–90.
  5. Vorobyova M.M., Voronova N.V., Abakumova E.A., Arger K.V. Polimorfizm risunkov perednespinki, temeni, e'litri i fenotipicheskoe proyavlenie rezistentnosti v populyaciyakh Leptinotarsa decemlineata Say yuzhny'kh regionov Belarusi [Polymorphism of patterns of pronotum, crown, elytra and phenotypic manifestation of resistance in populations of Leptinotarsa decemlineata Say from the southern regions of Belarus]. *Vesnik Mazyrskaga dzjarzhaynaga pedagogichnaga jniversiteta imya I.P. Shamyakina* [Bulletin of the Mozyr State Pedagogical University named after I.P. Shamyakin]. 2020, no. 1 (55), pp. 9–15. (In Russian)
  6. Babkina L.A., Balabina I.P., Balabina N.A., Merzlyakova K.V. Izuchenie fenotipicheskogo polimorfizma v populyaciyakh koloradskogo zhuka (Leptinotarsa decemlineata Say) L'govskogo i Ry'-l'skogo rajonov Kurskoj oblasti [Study of phenotypic polymorphism in populations of the Colorado potato beetle (Leptinotarsa decemlineata Say) of the Lgovsky and Rylsky districts of the Kursk region]. *Auditorium. E'lektronnyj nauchnyj zhurnal Kurskogo gosudarstvennogo universiteta* [Auditorium. Electronic scientific journal of Kursk State University]. 2016, no.4 (12), pp. 10–16. (In Russian)
  7. Abbott W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Econ. Entomol.* 1925, no.18, pp. 265–267.
  8. GenBank Overview [USA], 2017. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (accessed: 13.11.2025).
  9. Kumar S. et al. A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics*. 2008. Vol. 9, pp. 299–306.

Received 10.10.2025

**МА МИН**

аспирант кафедры физиологии и биохимии<sup>1</sup>

*E-mail: 961712250@qq.com*



**Е.В. СНЫТКОВ**

научный сотрудник лаборатории генетики человека  
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»,  
г. Минск, Республика Беларусь



**Т.Л. ЛЕБЕДЬ**

научный сотрудник лаборатории биохимии  
Республиканский научно-практический центр спорта,  
г. Минск, Республика Беларусь  
*E-mail: hlebus@mail.ru*



**С.Б. МЕЛЬНОВ**, доктор биол. наук, профессор  
профессор кафедры анатомии<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет физической культуры и спорта,  
г. Минск, Республика Беларусь  
*E-mail: sbmelnov@gmail.com*



*Статья поступила 13.10.2025 г.*

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ  
КСЕНОБИОТИКОВ В ИГРОВЫХ ВИДАХ СПОРТА  
(НА ПРИМЕРЕ БАСКЕТБОЛА)**

**Цель** – анализ генетических особенностей системы биотрансформации ксенобиотиков у квалифицированных баскетболистов.

**Материалы и методы.** Молекулярно-генетический анализ полиморфизма генов *CYP1B1* rs1056836, *CYP2C19* rs12248560, *CYP3A4* rs2740574, *CYP3A5* rs776746, *CYP2B6* rs707265, *CYP2C19* rs4244285, *CYP19A1* rs1008805) и 2-ой (*GSTM1* rs366631, *GSTP1* rs1695, *GSTT1* rs17856199). Статистический анализ, анализ межгеновых взаимодействий.

**Результаты.** Молекулярно-генетический анализ позволил установить частоты носительства неблагоприятных генотипов и аллелей генов биотрансформации веществ. Значимые различия в распределении генотипов выявлены для четырех локусов: *GSTM1* (rs17856199), *GSTM1* (rs366631), *GSTP1* (rs1695) и *CYP2B6* (rs707265). Модель межгенового взаимодействия базируется на полиморфизмах *CYP2C19* (rs4244285), *CYP2B6* (rs707265) и *GSTT1* (rs17856199). Установлены характерные комбинации генотипов для группы спортсменов.

**Заключение.** Полученные данные могут быть полезны в фармакогенетике и персонализированной медицине для прогнозирования индивидуальных рисков и адаптационного потенциала конкретного спортсмена.

**Ключевые слова:** молекулярно-генетический маркер, полиморфизм гена, генетика спорта, баскетбол, биотрансформация веществ, детоксикация, адаптация, фенотип, энергообеспечение, физическая активность.

**MA MING**, Postgraduate Student<sup>1</sup>

**SNYTKOV E.V.**, Researcher, Institute of Genetics & Cytology  
National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

**LEBED T.L.**, Researcher, Biochemistry Laboratory,  
Public Institution «Republican Scientific and Practical Center of Sports», Minsk, Republic of Belarus

**MELNOV S.B.**, Doctor of Biol. Sc.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State University of Physical Culture, Minsk, Republic of Belarus

## GAME SPORTS PLAYERS GENETIC PECULIARITIES IN XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION SYSTEM STATUS, AS THE EXAMPLE OF BASKETBALL

**Objective.** Analyses of the genetic xenobiotic biotransformation system peculiarities for the in qualified basketball players.

**Materials and methods.** Molecular genetic analysis for gene polymorphisms in *CYP1B1* rs1056836, *CYP2C19* rs12248560, *CYP3A4* rs2740574, *CYP3A5* rs776746, *CYP2B6* rs707265, *CYP2C19* rs4244285, *CYP19A1* rs1008805, *GSTM1* rs366631, *GSTP1* rs1695, *GSTT1* rs17856199 have been done. Statistical analysis, analysis of intergenic interactions were fullfield.

**Results.** Molecular genetic analysis allowed us to determine the carriage frequencies of unfavorable genotypes and alleles for biotransformation genes. Significant genotype distribution differences were identified for four loci: *GSTT1* (rs17856199), *GSTM1* (rs366631), *GSTP1* (rs1695), and *CYP2B6* (rs707265). The intergene interaction model has been based on polymorphisms of *CYP2C19* (rs4244285), *CYP2B6* (rs707265), and *GSTT1* (rs17856199). Characteristic genotype combinations were identified for athletes group.

**Conclusion.** The obtained data may be useful in pharmacogenetics and personalized medicine for predicting individual risks and the adaptive potential for individual athletes.

**Keywords:** molecular genetic markers, gene polymorphism, sports genetics, basketball, biotransformation and detoxification, adaptation; physical activity.

**Введение.** Командные спортивные игры – состязания, в которых команды соревнуются друг с другом, используя различные тактические и физические навыки. Участники должны успешно владеть коммуникацией, координацией, стратегией, мышлением, физической подготовкой, внося индивидуальный вклад в общекомандный спортивный успех. Несмотря на то, что соревновательная деятельность имеет много общего в различных спортивных играх, однако каждая из них имеет свою специфику и определенные отличия, связанные с характером двигательной активности, способами взаимодействия с мя-

чом, интенсивностью и продолжительностью нагрузок, а также с критериями оценки спортивного результата.

Баскетбол – вид спорта, характеризующийся прерывистыми высокоинтенсивными упражнениями, при этом оптимальные результаты в баскетболе достигаются за счет физической тренированности и сочетания технико-тактических навыков. Энергообеспечение имеет аэробно-анаэробный характер, обеспечивая многократные переходы от высоко – к низкоинтенсивной деятельности. Но, при этом, как правило, ведущий фактор спе-

циальной работоспособности – анаэробное энергообеспечение организма.

Развитие специальной выносливости, высокий объем физических нагрузок – факторы, которые «выжимают» из атлета ресурсы и силы. Немаловажным становится вопрос о приоритетности протекающих в его организме биохимических процессах, в частности, биотрансформации (детоксикации) веществ, процесса, который способствует повышенной выносливости и восстановления. Сохранение здоровья, обеспечение спортивного долголетия спортсмена – наиболее важные задачи, решение которых возможно путем молекулярно-генетического тестирования, детализации адаптационно-приспособительных механизмов организма спортсмена [4]. Биохимическая адаптация, происходящая в организме спортсмена, является частью приспособления организма в целом к особым условиям окружающей среды.

Цитохром Р-450 [1] – класс моноокигеназ, ключевых ферментов метаболизма неполярных соединений экзогенного и эндогенного происхождения, локализован в мембранах эндоплазматической сети, в наружной митохондриальной мембране и ядерной оболочке. Это гемопротеид, осуществляющий реакции окисления молекулярным кислородом неполярных органических соединений с использованием НАДФ - Н, как источника эквивалентов окисления-восстановления. Функции Р-450 не ограничиваются лишь детоксикацией ксенобиотиков (печень, легкие, кожа). Он участвует в биотрансформации эндогенных веществ при их биосинтезе (например, окисление холестерина при синтезе стероидных гормонов, желчных кислот, ароматизации соединений).

Эндогенные активные метаболиты обладают высокой биологической активностью, в то время как метаболиты лекарств, ксенобиотиков весьма токсичны. Снижение токсичности достигается 2-ой фазой биотрансформации с участием конъюгирующих ферментов, в частности глутатионтрансфераз, сульфотрансфераз, метил- и ацилтрансфераз и др.

Глутатионтрансферазы (ГТс) – это семейство энзимов, катализирующих конъюгацию глутатиона с различными электрофильными субстратами и обладающих широкой субстратной специфичностью.

Выполнение физической нагрузки спортсменом происходит благодаря биохимическому обеспечению энергетических потребностей организма, а также активации восстановительных и адаптивных процессов. Несмотря на то, что процесс детоксикации также весьма важен, однако является неприоритетным во время физической работоспособности, т.к. на прямую не обеспечивает мышечную деятельность.

В контексте спортивной медицины детоксикационные процессы и дополнительные стимулирующие этот процесс приемы – перевод организма в гомеостатическое состояние, поддержка организма в состоянии готовности выполнения больших нагрузок, минимизация повреждения биологических структур на различных уровнях (молекулярном, клеточном, физиологическом). На сегодняшний день основное внимание исследователей в спортивной генетике сконцентрировано на изучении предeterminирования морфофизиологических, энергетических особенностей, развития физической работоспособности, скоростно-силовых качеств спортсменов, поэтому данные генетических исследований о детоксикационных особенностях носят отрывочный, фрагментарный и несистематизированный характер.

Цель исследования – анализ генетических особенностей системы биотрансформации ксенобиотиков у квалифицированных баскетболистов.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования служили образцы bukkального эпителия 51 спортсмена (27 девушек и 24 юноши), занимающихся баскетболом. Группа сравнения была представлена 51 человеком, профессионально не занимающимся спортом и не отличающихся по основным демографическим показателям (социальный статус, пол, возраст и т.д.) от представителей основной группы.

Для молекулярно-генетических исследований были отобраны полиморфные варианты генов, потенциально ассоциированные с метаболизмом ксенобиотиков и детоксикацией организма спортсмена. Одним из важнейших параметров для отбора SNP являлась частота минорного аллеля. Данные по частотам аллелей европейской популяции были взяты из базы данных dbSNP (Short Genetic Variations, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>).

Несмотря на тот факт, что некоторые полиморфные варианты располагаются в инtronных областях ДНК и не принимают участия в кодировании основной сплайс-формы гена, нельзя исключать тот факт, что эффект таких SNP может быть обусловлен наличием регуляторной области в данном участке гена. При анализе же экзонов могут представлять интерес не только несинонимические замены, которые определяют изменения в аминокислотной последовательности кодируемой белковой молекулы, но и синонимические, поскольку они могут влиять на структуру и стабильность мРНК и на кинетику ее трансляции за счет использования разных изоакцепторных тРНК.

Молекулярно-генетические исследования проводились с использованием амплификатора Bio-Rad CFX96 Touch Real-Time PCR System (США). В качестве метода выделения ДНК был выбран метод фенольной экстракции с использованием готовой смеси ROTI®Phenol (CarlRoth, Германия).

Для последующей амплификации использовали универсальный, готовый к использованию реагент для ПРЦ с детекцией результатов в режиме «реального времени» ArtMix («АтраТиоТех», Республика Беларусь) в соответствии с рекомендуемым производителем протоколом. Для выявления достоверных различий между номинальными показателями использовали метод  $\chi$ -квадрат. Уровень статистической значимости  $p$  при множественных сравнениях вычислялся экспериментально для каждого конкретного случая в процессе моделирования в пакете SPSS v.20.0. Использовали точный критерий Фишера, основанный на пермутации – уровень  $p$  вычисляется по формулам комбинаторной теории вероятностей.

Анализ межгенных взаимодействий проводили биоинформационским методом многофакторного сокращения размерности (multifactor dimensionality reduction,) с применением размещенного в открытом доступе программного обеспечения MDR v.3.0.2. В процессе моделирования были использованы высококонсервативные настройки поиска конфигурации модели, которые позволили однозначно дифференцировать наличие либо отсутствие статистически значимых эффектов: количество атрибутов; воспроизводимость модели – 100; анализ топ-моделей –

1000; поиск конфигурации модели – всесторонний; метод сравнения – точный тест Фишера; классификация ячеек – неклассифицированные. Математической базой данной программы является непараметрический кластерный анализ для обнаружения и описания нелинейного типа взаимодействия между дискретными генетическими атрибутами.

**Результаты и их обсуждение.** В настоящем исследовании анализировалось частотное распределение полиморфных систем, работа которых ассоциирована с 1-ой (CYP1B1 rs1056836, CYP2C19 rs12248560, CYP3A4 rs2740574, CYP3A5 rs776746, CYP2B6 rs707265, CYP2C19 rs4244285, CYP19A1 rs1008805) и 2-ой (GSTM1 rs366631, GSTP1 rs1695, GSTT1 rs17856199) фазами биотрансформации. Функции гена и эффекты неблагоприятного типа аллелей приведены в таблице 1.

Распределение генотипов и аллелей в исследуемой группе представлено в таблице 2. Полученные данные были сопоставлены с результатами группы, группы сравнения. Статистический анализ показал наличие значимых различий в распределении генотипов для четырёх локусов: GSTT1 (rs17856199), GSTM1 (rs366631), GSTP1 (rs1695) и CYP2B6 (rs707265). Значения  $p$  для этих локусов были ниже общепринятого порога статистической значимости 0,05. Кроме того, был выявлен тренд в сторону статистической значимости для локуса CYP2C19 (rs4244285), где  $p$ -value составил 0,0505, что находится на границе значимости.

Первая фаза биотрансформации, в общем, характеризуется образованием промежуточных полярных метаболитов, зачастую с выраженным токсичным эффектом. Поэтому наиболее оптимальным вариантом развития данного процесса для организма спортсмена является медленное и постепенное высвобождение активированных веществ.

Среди полиморфных локусов 1-ой фазы биотрансформации у большинства спортсменов встречались гомозиготные генотипы (CYP1B1, CYP3A4), обуславливающие снижение активности данных цитохромов. Так же можно отметить у 1/5 части обследованных сочетанное носительство «низкоактивных» аллелей одновременно по 5 полиморфным системам.

Таблица 1. – Характеристика исследуемых полиморфных систем

Полиморфизм гена	Функция	Эффект неблагоприятного аллеля
CYP1B1 C4326G Leu432Val (rs1056836)	Метаболизм ксенобиотиков (полициклические ароматические углеводороды, проканцерогены), лекарств и стероидов (холестерин, 17 $\beta$ -эстрадиол), жирных кислот	Val(G)-аллель – повышенная (3-кратная) активность фермента, участвующего в превращении эстрогенов или проканцерогенов в ДНК-реактивные электрофилы, которые могут действовать токсически, канцерогенно
CYP2C19 C(-806)T (rs12248560)	Метаболизм ряда ксенобиотиков, лекарств, прогестерона, жирных кислот, ретиноидов, желчных кислот, биогенных аминов, лейкотриенов	T-аллель – повышенная функция фермента
CYP3A4 A(-392)G (rs2740574)	Метаболизм около 60 % окисляемых препаратов, стероидов, ксенобиотиков, тестостерона	1B(G) – аллель с пониженной экспрессией каталитической активностью фермента
CYP3A5 A6986G (rs776746)	Метаболизм ксенобиотиков, множества лекарств, обмен холестерина, стероидов и других липидов	G-аллель – сниженная активность, развитие риска нежелательных лекарственных реакций
CYP2B6 G/A (rs707265)	Метаболизм множества лекарств, тестостерона и эстрадиола	A-аллель – повышенная активность фермента
CYP2C19 G681A (rs4244285)	Метаболизм около 20 % лекарств, стероидных гормонов и жирных кислот	A-аллель – снижение активности фермента
CYP19A1 (rs1008805)	Метаболизм лекарственных препаратов, ксенобиотиков, биотрансформация андрогенов в эстрогены	G-аллель – повышение активности ароматазы
GSTT1 rs17856199	Защита организма от повреждений, вызванных токсинами и свободными радикалами, образованными в ходе 1-ой фазы биотрансформации	A-аллель – маркер делеции региона гена, нарушение метаболического выведения канцерогенных соединений из организма
GSTM1 C/T (rs366631)	Защита организма от повреждений, вызванных токсинами и свободными радикалами, образованными в ходе 1-ой фазы биотрансформации	T-аллель – маркер делеции региона гена, нарушение метаболического выведения канцерогенных соединений из организма
GSTP1 A3136G Ile105Val rs1695	Защита организма от повреждений, вызванных токсинами и свободными радикалами, образованными в ходе 1-ой фазы биотрансформации	Val(G)-аллель – снижение активности фермента, вследствие чего повышенна чувствительность к воздействию канцерогенов и токсинов

Таблица 2. – Распределение генотипов и аллелей в группах сравнения и спортсменов

Локус	Генотип / аллель	Группа сравнения		Спортсмены		p	$\chi^2$
		n	%	n	%		
1	2	3	4	5	6	7	8
CYP1B1 rs1056836	CC	15	27.27	12	23.53	0.2933	2.45
	CG	20	36.36	13	25.49		
	GG	20	36.36	26	50.98		
	C	50	45.45	37	36.27	0.2000	1.48
	G	60	54.55	65	63.73		
CYP2C19 rs12248560	CC	31	56.36	30	58.82	0.9332	0.14
	CT	18	32.73	15	29.41		
	TT	6	10.91	6	11.77		
	C	80	72.73	75	73.53	1.0000	0.00
	T	30	27.27	27	26.47		

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8
CYP3A4 rs2740574	GG	0	0.00	0	0.00	0.2532	1.31
	GA	8	14.55	3	5.88		
	AA	47	85.45	48	94.12		
	G	8	7.27	3	2.94	0.2180	1.23
	A	102	92.73	99	97.06		
CYP3A5 rs776746	GG	40	72.73	43	84.31	0.2658	2.65
	GA	11	20.00	7	13.73		
	AA	4	7.27	1	1.96		
	G	91	82.73	93	91.18	0.1030	2.60
	A	19	17.27	9	8.82		
CYP2B6 rs707265	AA	12	21.82	4	7.84	0.0364*	6.63
	AG	13	23.64	22	43.14		
	GG	30	54.55	25	49.02		
1	2	3	4	5	6	7	8
	A	37	33.64	30	29.41	0.5560	0.26
	G	73	66.36	72	70.59		
CYP2C19 rs4244285	AA	2	3.64	9	17,65	0.0505	5.97
	AG	11	20.00	11	21.57		
	GG	42	76.36	31	60.78		
	A	15	13.64	29	28.43	0.0110*	6.17
	G	95	86.36	73	71.57		
CYP19A1 rs1008805	AA	20	36.36	18	35.29	0.3209	2.27
	AG	28	50.91	21	41.18		
	GG	7	12.73	12	23.53		
	A	68	61.82	57	55.88	0.404	0.54
	G	42	38.18	45	44.12		
GSTT1 rs17856199	AA	39	70.91	51	100.00	0.0002*	17.47
	AC	10	18.18	0	0.00		
	CC	6	10.91	0	0.00		
	A	88	80.00	102	100.00	0.0000*	20.66
	C	22	20.00	0	0.00		
GSTM1 rs366631	TT	38	69.09	38	74.51	0,0266*	7.25
	TC	10	18.18	13	25.49		
	CC	7	12.73	0	0.00		
	T	86	78.18	89	87.25	0.1030	2.42
	C	24	21.82	13	12.75		
GSTP1 rs1695	AA	20	36.36	33	64.70	0,0023*	12.19
	AG	30	54.55	11	21.57		
	GG	5	9.09	7	13.73		
	A	70	63.64	77	75.49	0.0700	2.96
	G	40	36.36	25	24.51		

\*p<0.05

При сравнении групп спортсменов и сравнения были обнаружены значимые различия для гена CYP2B6 (rs707265). Так наблюдалось уменьшение количества генотипов AA и GG в группе спортсменов. Относительно локуса rs4244285 (CYP2C19) можно отметить следующее: значение *p* близко к порогу статистической значимости, что дает нам основание говорить о тенденции к влиянию дан-

ного локуса на процесс детоксикации. Так наблюдалось снижение доли генотипа GG в основной группе, в то время как в группе сравнения он встречался чаще. Такая тенденция может указывать на потенциальную роль этого аллельного варианта в адаптации индивида к физическим нагрузкам, однако требует его дальнейшего изучения на более крупных выборках. Для остальных изученных

локусов (rs1056836, rs12248560, rs2740574, rs776746, rs1008805) значимых различий между группами в распределении генотипов выявлено не было.

Для второй фазы биотрансформации характерны конъюгационные процессы, направленные на снижение токсичности промежуточных полярных метаболитов и повышение способности для выведения из организма. Наиболее оптимальным вариантом развития данного процесса для организма спортсмена является быстрый процесс конъюгации.

Для локуса rs17856199 (GSTT1) в группе спортсменов не были выявлены генотипы AC и CC и наблюдалось явное преобладание генотипа AA по сравнению с группой сравнения. Похожая ситуация была отмечена для rs366631 (GSTM1): генотип CC отсутствовал в группе спортсменов, в отличии от группы сравнения. Локус rs1695 (GSTP1) также демонстрировал значимую ассоциацию: наиболее распространённым в группе спортсменов был генотип AA, тогда как генотип AG чаще наблюдался в группе сравнения. Это позволяет предположить, что данные аллельные варианты могут быть связаны с изучаемым фенотипом.

Гены GSTT1, GSTM1 и GSTP1 кодируют ферменты глутатион-S-трансферазы, играющие ключевую роль в детоксикации электрофильных соединений. Полиморфизмы данных генов приводят к снижению или полной потере активности ферментов, что, в свою очередь, приводит к понижению детоксикационной функции и повышению риска развития мультифакториальных заболеваний, а также влияют на индивидуальную чувствительность к лекарственным препаратам. Так у всех обследованных спортсменов установлено сочетанное носительство «неблагоприятных» аллелей генов GSTT1, GSTM1 и GSTP1: 13,73% – 1 гомо- и 1 гетерозиготный вариант генотипов, 9,80% – 1 гомо- и 2 гетерозиготных варианта, 9,80% – 1 гомо- и 2 гетерозиготных варианта, 50,98% – 2 гомозиготных варианта, 13,73% – 2 гомо- и 1 гетерозиготный варианта, 11,76% – 3 гомозиготных варианта. Учитывая сложность и динамичность биохимических процессов во время выполнения физической нагрузки, а также потенциальное генетическое несовершенство процессов биотрансформации, можно кон-

статировать, что указанные гены могут играть важную роль, гарантируя выносливость и ускоренное восстановление спортсмена.

Для индивидуальной оценки процесса биотрансформации спортсменов был применен метод общего генетического балла (ОГБ). «Благоприятному» генотипу было присвоено 0 баллов, «неблагоприятному» – 3 балла, гетерозиготному – 2 балла. Сумма всех баллов каждого спортсмена делилась на 30, что соответствовало максимальному значению, и выражалась в процентах.

Так минимальное значение ОГБ составило 50,00%, максимальное – 80,00%, среднее – 66,54%. У большинства спортсменов наблюдалось сочетанное носительство «неблагоприятных» аллельных вариантов, что может обуславливать индивидуальные особенности предрасположенности как к снижению метаболизма ксенобиотиков, фармакологических средств, эндогенных метаболитов («медленный метаболайзер»), так и к его активации («быстрый метаболайзер»). Частный случай – десинхронизация 1-ой и 2-ой фаз биотрансформации, что способствует максимальному причинению ущерба организма особенно на фоне высокой физической активности.

Моделирование взаимодействия исследуемых полиморфных вариантов генов было проведено с учетом всей полученной в процессе молекулярно-генетического анализа информации. Преимуществом использованного MDR-анализа является возможность оценить совокупные взаимодействия, ассоциированные с формированием мультифакториального фенотипа [2,3]. Так установлен ярко выраженный синергичный эффект rs1008805 и rs12248560, в то время как rs1695 и rs17856199 характеризуются дублирующим эффектом.

Результаты моделирования межгенных взаимодействий позволили построить статистически значимую генетическую модель биотрансформации веществ.

Модель базируется на трех полиморфизмах: CYP2C19 (rs4244285), CYP2B6 (rs707265) и GSTT1 (rs17856199).

Характеристики разработанной модели: сбалансированная точность предсказания – 74,27%, чувствительность – 100,00%, специфичность – 94,44%, воспроизводимость – 97/100,  $\chi^2 = 24,0404$  при  $p < 0,0001$ ) показаны на рисунке.

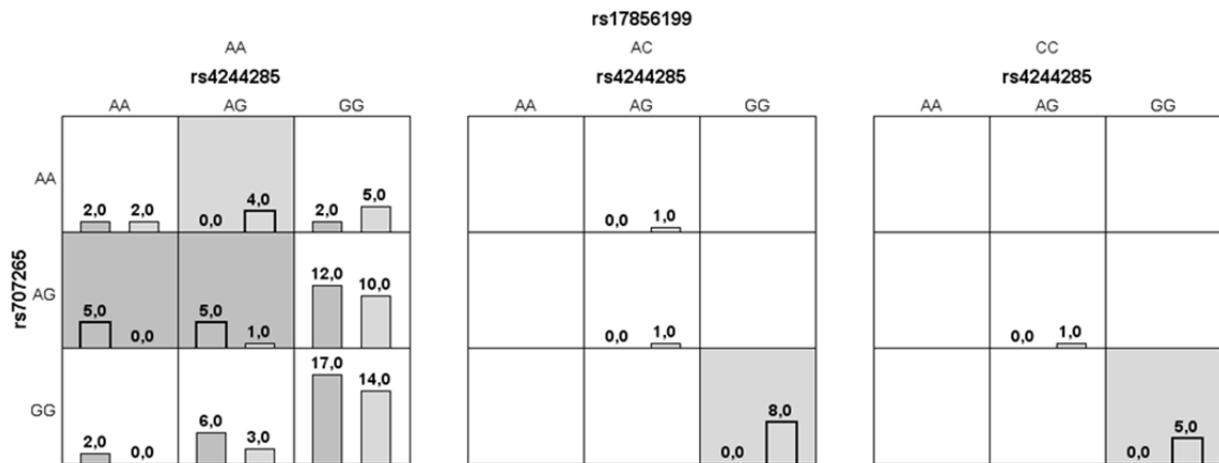


Рисунок – Разработанная модель межгеновых взаимодействий

Для группы спортсменов характерны комбинации генотипов (темно-серый цвет):

AA (rs17856199) // AA (rs4244285) // AG (rs707265)

AA (rs17856199) // AG (rs4244285) // AG (rs707265)

В то же время, для группы сравнения характерны следующие генотипы (светло-серый цвет):

AA (rs17856199) // AG (rs4244285) // AA (rs707265)

CC (rs17856199) // GG (rs4244285) // GG (rs707265)

AC (rs17856199) // GG (rs4244285) // GG (rs707265)

Иные комбинации генотипов не показали статистически значимых различий.

**Заключение.** В ходе наших исследований установлено, что полиморфизмы генов GSTT1 (rs17856199), GSTM1 (rs366631), GSTP1 (rs1695) и CYP2B6 (rs707265) значительно влияют на адаптационные возможности организма. Выявленные генные сети, включающие полиморфные аллели генов CYP2C19 (rs4244285), CYP2B6 (rs707265) и GSTT1 (rs17856199), способствуют формированию устойчивого адаптивного фенотипа, снижаю риск развития патологических состояний. Учитывая высокую энергозатратность процессов биотрансформации у спортсменов, можно допустить, что указанные особенности способствуют оптимизации энергетических ресурсов и их экономии, направляя их на физическую активность.

Известно также, что долголетие может быть связано с носительством аллелей, обеспечивающих более эффективный метаболизм ксенобиотиков [5], что снижает экологическую нагрузку на организм человека. Таким образом, полученные данные могут быть полезны в фармакогенетике и персонализированной медицине для прогнозирования индивидуальных рисков и адаптационного потенциала конкретного баскетболиста.

Генетические исследования, включая анализ полиморфизмов ферментов детоксикации и MDR-анализ, открывают новые возможности для прогнозирования спортивного потенциала, оптимизации здоровья спортсменов и продления активного долголетия.

#### Список использованных источников

1. Вавилин, В. А. Роль полиморфных вариантов генов CYP3A4, CYP3A5, CYP1A1 и CYP2B6 в развитии органотоксических эффектов химиотерапии у больных лимфомой Ходжкина / В. А. Вавилин, О. Б. Горева, Я. Ю. Шебуняева [и др.] // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2024. – № 1. – С. 31-43. – DOI 10.37489/2588-0527-2024-1-31-43.
2. Иванюкович, В. А. Интерпретация динамики энтропии при проведении генетических исследований методом снижения мультифакторной размерности / В. А. Иванюкович, С. Б. Мельнов, М. Мин // Экспериментальная биология и биотехнология. – 2025. – № 1. – С. 40-46.

3. Лебедь, Т. Л. Многофакторное снижение размерности (MDR-анализ) в генетических исследованиях / Т. Л. Лебедь, Н. В. Жур, Н. В. Шепелевич // Российский журнал информационных технологий в спорте. – 2024. – Т. 1. – № 3. – С. 16-21. – DOI 10.62105/2949-6349-2024-1-3-16-21.
4. Сосна, Л. С. Роль генов систем биотрансформации в индивидуализации фармакологического обеспечения спортсменов / Л. С. Сосна, А. С. Козлова, С. Б. Мельнов // Сахаровские чтения 2015 года : экологические проблемы XXI века : 15-я международная научная конференция, 21-22 мая 2015 года. – Мин., 2015. – С. 94-95.
5. Эрдман, В. В. Ассоциация с возрастом ДНК-маркеров генов «фармакологического ответа» в этнической группе абхазов / В. В. Эрдман, Т. Р. Насибуллин, И. А. Туктарова [и др.] // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2020. – №2. – С. 24-25. – DOI 10.37489/2588-0527-2020-2-24-25.

#### References

1. Vavilin V.A., O. B. Goreva, Ya. Yu. Shebunyaeva, S. I. Makarova, M. S. Voitko, A. Yu. Grishanova, T. I. Rol' polimorfny'kh variantov genov CYP3A4, CYP3A5, CYP1A1 i CYP2B6 v razvitiu organotoksicheskikh effektov khimioterapii u bol'ny'kh limfomoj Khodzhkina [Pospelova The role of polymorphic variants of the CYP3A4, CYP3A5, CYP1A1 and CYP2B6 genes in the development of organotoxic effects of chemotherapy in patients with Hodgkin's lymphoma]. *Farmakogenetika i farmakogenomika* [Pharmacogenetics and pharmacogenomics]. 2024, no. 1, pp. 31-43. (In Russian). DOI: 10.37489/2588-0527-2024-1-31-43
2. Ivanyukovich V.A., Melnov S.B., Min M. Interpretacija dinamiki entropii pri provedenii geneticheskikh issledovanij metodom snizheniya multifaktornoj razmernosti [Interpretation of the dynamics of entropy in genetic studies using the multifactorial dimensionality reduction method]. *Eksperimental'naya biologiya i biotekhnologiya* [Experimental biology and biotechnology]. 2025, no. 1, pp. 40-46. (In Russian)
3. Lebed T.L., Zhur N.V., Shepelevich N.V. Mnogofaktornoe snizhenie razmernosti (MDR-analiz) v geneticheskikh issledovaniyakh [Multifactorial dimensionality reduction (MDR analysis) in genetic studies]. *Rossijskij zhurnal informacionnykh tekhnologij v sporte* [Russian journal of information technology in sports]. 2024. Vol. 1, no. 3, pp. 16-21. (In Russian). DOI 10.62105/2949-6349-2024-1-3-16-21.
4. Sosna L.S., Kozlova A.S., Melnov S.B. Rol' genov sistem biotransformaczii v individualizaczii farmakologicheskogo obespecheniya sportsmenov [The role of genes of biotransformation systems in the individualization of pharmacological support for athletes]. *Sakharovskie chteniya 2015 goda : ekologicheskie problemy XXI veka* [Sakharov Readings 2015: Environmental Problems of the 21st Century]. Minsk, 2015, pp. 94-95. (In Russian)
5. Erdman V.V., Nasibullin T.R., Tuktarova I.A., Timasheva Ya. R., Matua A. Z., Viktorova T.V. [Association of DNA markers of "pharmacological response" genes with age in the ethnic group of Abkhazians]. [Pharmacogenetics and pharmacogenomics]. 2020, no. 2, pp. 24-25. (In Russian). DOI 10.37489/2588-0527-2020-2-24-25.

Received 13.10.2025

**А.Г. ШЛЯХТУН**

старший научный сотрудник отдела витаминологии и нутрицевтики<sup>1</sup>

**Е.Ф. РАДУТА**

ученый секретарь<sup>1</sup>

**В.Ч. ПОЛУБОК**

научный сотрудник отдела доклинического и экспериментального исследования<sup>1</sup>

**В.А. ГУРИНОВИЧ**, канд. бiol. наук,

ведущий научный сотрудник отдела витаминологии и нутрицевтики<sup>1</sup>

**А.А. ОСТРОВСКИЙ**, доктор мед. наук, профессор,

Почетный профессор<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие  
«Институт биохимии биологически активных соединений

Национальной академии наук Беларусь»,

г. Гродно, Республика Беларусь

*Статья поступила 13.10.2025 г.*

## **МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКИ БИОСИНТЕЗА НАД В ПРОФИЛАКТИКЕ СТЕАТОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС**

*Показано, что предшественники биосинтеза НАД обеспечивают нормализацию ряда показателей липидного метаболизма при хронической алкогольной интоксикации и препятствуют развитию алкоголь-индукцированного стеатоза печени у крыс.*

**Ключевые слова:** алкогольная болезнь печени, стеатоз, гепатопротектор, никотинамидаденин-динуклеотид, никотинамид, никотинамид рибозид, никотинамидмононуклеотид, обмен липидов.

**SHLYAHTUN A.H.**, Senior Researcher<sup>1</sup>

**RADUTA A.F.**, Scientific Secretary<sup>1</sup>

**POLUBOK V.CH.**, Researcher<sup>1</sup>

**GURINOVICH V.A.**, PhD in Biol. Sc., Leading Researcher<sup>1</sup>

**ASTROWSKI A.A.**, Doctor of Med.Sc., Professor, Professor Emeritus<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of biochemistry of biologically active compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

## **METABOLIC PRECURSORS OF NAD BIOSYNTHESIS IN THE PREVENTION OF ALCOHOL-INDUCED LIVER STEATOSIS IN RATS**

*It has been shown that precursors of NAD biosynthesis restore key parameters of lipid metabolism in chronic alcohol intoxication and inhibit the progression of alcohol-induced hepatic steatosis in rats.*

**Keywords:** *alcoholic liver disease, steatosis, hepatoprotectant, nicotinamide adenine dinucleotide, nicotinamide, nicotinamide riboside, nicotinamide mononucleotide, lipid metabolism.*

**Введение.** Хроническое злоупотребление алкоголем является одной из ведущих причин заболеваний печени во всем мире. Алкогольная болезнь печени (АБП) охватывает широкий спектр патологий, включая стеатоз, алкогольный гепатит, фиброз и цирроз. Наиболее ранним и распространенным проявлением является алкогольный стеатоз – избыточное накопление липидов в гепатоцитах. Эта стадия обычно протекает бессимптомно и может быть обратимой, однако при продолжительном воздействии этианола она прогрессирует до стеатогепатита, а затем – до фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы. Более чем у 90% лиц, хронически злоупотребляющих алкоголем, развивается стеатоз, при этом у 25% формируется алкогольный гепатит, а у 15% – цирроз [1].

Ключевым механизмом формирования стеатоза является нарушение окислительно-восстановительного баланса НАД/НАДН в гепатоцитах. В результате окисления этианола и ацетальдегида происходит истощение пула НАД и накопление НАДН. Этот дисбаланс усугубляется комплексом нутриционных, метаболических и транспортных нарушений [2]. Дефицит НАД затрагивает все звенья липидного метаболизма: синтез и экспорт триглицеридов, поглощение и  $\beta$  окисление жирных кислот, липофагию и внутриклеточное накопление липидов. Нарушения липидного метаболизма рассматриваются как важнейшее звено патологического каскада повреждения печени при алкогольной интоксикации [3].

На поздних стадиях АБП (цирроз, карцинома) единственным эффективным методом

лечения остается трансплантация печени. В настоящее время отсутствуют фармакологические средства с доказанной эффективностью для терапии АБП, что делает актуальной разработку новых подходов к профилактике и лечению [4, 5].

Перспективным направлением является поддержание метаболического равновесия НАД/НАДН и предотвращение необратимых структурных повреждений печени.

Ранее нами было показано, что предшественники биосинтеза НАД – никотинамид (НАМ), никотинамида рибозид (НР) и никотинамидмононуклеотид (НМН) (рисунок 1) – нормализуют соотношение НАД/НАДН при хронической алкогольной интоксикации и обладают гепатопротекторным действием [6, 7], что впоследствии подтвердили и другие исследователи [8, 9].

Однако механизмы их влияния на липидный метаболизм и потенциал применения для профилактики алкоголь-индуцированного стеатоза остаются не изученными.

**Целью** настоящей работы являлась оценка профилактической эффективности предшественников НАД (НАМ, НР и НМН) в отношении развития стеатоза печени при моделировании ХАИ у крыс.

**Материалы и методы исследований.** В работе использовали НАМ производства Sigma-Aldrich (№ кат. N-3376). Синтез НР и НМН проводили как описано ранее [10].

Подлинность соединений и чистота (>98 %) подтверждены при помощи ИК-Фурье-спектроскопии и хроматографически.

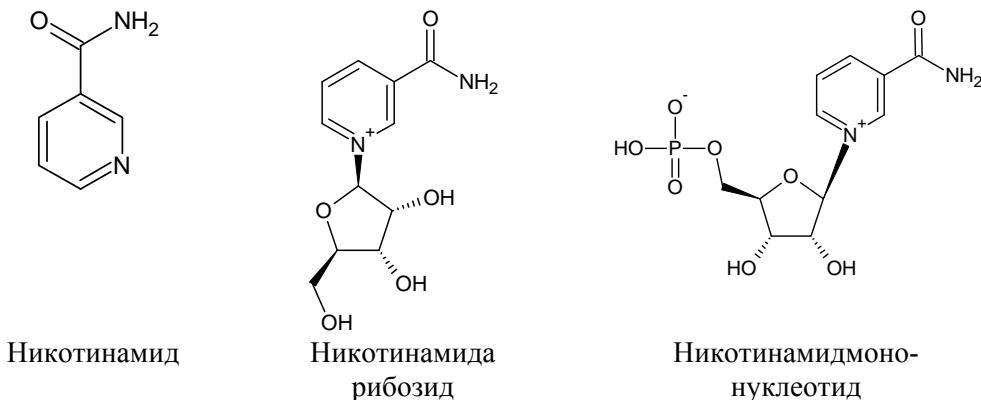


Рисунок 1. – Химические структуры биосинтетических предшественников НАД

Все прочие использованные реагенты были квалификации «х.ч.» или «о.с.ч.». Буферные растворы готовили с использованием деионизированной воды, полученной на системе водоподготовки Ultra H7 (Hydrolab, Польша).

Исследование проведено на 40 половозрелых крысах самцах линии Wistar с массой в начале эксперимента 180-200 г. Животные были акклиматизированы к условиям вивария в течение 7 дней до начала эксперимента. Содержание осуществляли в стандартных пластиковых клетках (по 8 особей в клетке) при контролируемой температуре ( $22 \pm 2$  °C), влажности ( $55 \pm 10\%$ ) и естественном световом цикле. Доступ к стандартному гранулированному комбикорму и воде осуществлялся *ad libitum*.

При работе с животными соблюдались этические нормы, установленные "Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях". Дизайн эксперимента одобрен комитетом по биоэтике ГП "Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларусь".

Животные были случайным образом разделены на 5 экспериментальных групп по 8 крыс в каждой – контрольную, ХАИ, ХАИ + НАМ, ХАИ + НР и ХАИ + НМН.

Для индукции алкогольного поражения печени крысам в/ж вводили 30 % раствор этанола в дозе 10 г/кг/сут на протяжении 14 суток. Раствор этанола вводился дважды в сутки в дозе 5,0 г/кг/раз, в утреннее и вечернее время, с интервалом 12 часов (800 и 2000). Животные контрольной группы получали эквиобъемные количества воды.

С первого дня и на протяжении 14 суток эксперимента животные ежедневно в 10<sup>00</sup>, через 2 часа после утренней интоксикации этанолом, получали НАМ, НР или НМН в дозах по 2,05 ммоль/кг/сут. Субстанции вводили в/ж в 2 % крахмале. Животные в группах Контроль и ХАИ получали эквиобъемные количества 2 % крахмала вместо препаратов.

По истечении 14 дней эксперимента, после 12-часовой пищевой депривации (с сохранением свободного доступа к воде), животных подвергали эвтаназии путем декапитации [11]. После чего собирали образцы

крови и выделяли печень без перфузирования на льду (0–4 °C). Печень быстро извлекали, промокали фильтровальной бумагой и взвешивали. Для биохимических исследований ткани немедленно замораживали в жидком азоте. До анализа образцы хранились при -82 °C.

Сыворотку крови получали центрифугированием при 3000 g × 15 мин. В сыворотке определяли уровни ОХ, ТГ, ЛПВП с помощью клинико-диагностических наборов реагентов ("АнализМед", Беларусь). Уровни СЖК определяли по методу Duncombe [12].

Определение содержания ТГ и ОХ, а также жирнокислотного состава, проводили в хлороформ-метанольных экстрактах печени [13]. Содержание ТГ и ОХ в экстрактах определяли с использованием вышеуказанных наборов после удаления растворителя током азота. Для анализа жирнокислотного состава проводили трансэтерификацию ТГ и эфиров холестерола в экстракте липидов печени свежеприготовленным NaOCH<sub>3</sub> в абсолютном метаноле с последующим газохроматографическим детектированием метиловых эфиров ЖК. Пример хроматограммы приведен на рисунке 2. Анализ проводился с использованием газового хроматографа модели 7890B (Agilent Technologies, США) с пламенно-ионизационным детектором. В качестве газа-носителя использовался азот (ОСЧ 1 сорт по ГОСТ 9293-74). Разделение осуществляли на колонке HP-88 100 м × 0,25 мм × 0,20 мкм (J&W Scientific, № кат. 112-88A7) в температурном градиенте: 75°C с выдержкой в течение 1 мин, нагрев 20 °C/мин до 175°C с выдержкой в течение 30 мин, нагрев 15 °C/мин до 210 °C с выдержкой в течение 50 мин. Температура детектора – 250°C. Время анализа образца – 85 мин.

Расчет содержания ЖК в образцах проводили с использованием метода внешнего стандарта (Supelco, США; № кат. CRM47885). Для расчётов использовали программное обеспечение OpenLab CDC (Agilent Technologies, США) и UniChrom 5.1 (ООО "Новые Аналитические Системы", Беларусь).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного обеспечения Prism 8 (GraphPad, США) и Statistica 12 (StatSoft, США).

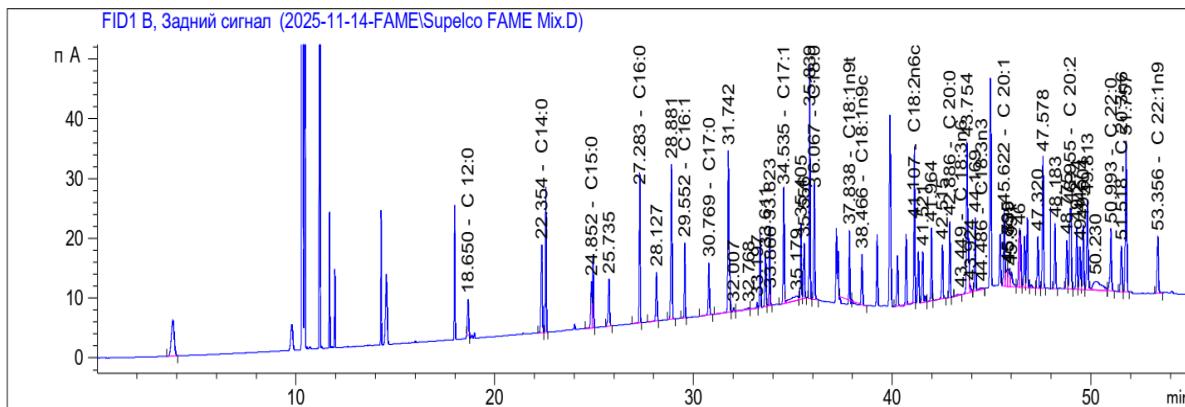


Рисунок 2. – Хроматограмма стандартной смеси метиловых эфиров ЖК

Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, а однородность дисперсий – критерия Левена. Для выявления различий между группами применяли однофакторный дисперсионный анализ с последующим тестом Тьюки. Для данных, не отвечающих критериям нормальности, использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса с *post-hoc* тестом Данна. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . При нормальном распределении данные выражены как  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – стандартная ошибка среднего. В случае отклонения от нормальности – в виде  $Me [Q25; Q75]$ , где  $Me$  – медиана,  $Q25$  – 25-й процентиль, а  $Q75$  – 75-й процентиль.

**Результаты и обсуждение.** ХАИ индуцировала комплексное нарушение липидного обмена, что проявлялось развитием стеатоза печени и дислипидемии. Как показано в Таблице 1, в группе ХАИ наблюдалось значимое увеличение печеночного индекса на 24,9 %, а

содержание ТГ и ОХ в ткани печени возросло в 2,3 и 1,4 раза соответственно по сравнению с контролем.

Параллельно в сыворотке крови зафиксирована картина атерогенной дислипидемии: концентрация ОХ и ТГ повысилась на 81 % и 152 % соответственно, на фоне снижения уровня ХЛВП и повышения концентрации СЖК (таблица 2).

Введение НАМ оказывало умеренный протекторный эффект, незначительно снижая уровни липидов в печени и сыворотке, но не приводя к полной нормализации показателей. В отличие от НАМ, введение НР и НМН эффективно предотвращало развитие стеатоза и дислипидемии. В этих группах печеночный индекс, содержание ТГ и холестерола в печени достоверно не отличались от контрольных значений. В сыворотке крови отмечалась полная нормализация липидного профиля: уровни ОХ, ТГ, ХЛВП и СЖК соответствовали показателям контрольных животных.

Таблица 1. – Влияние предшественников биосинтеза НАД на маркеры развития алкогольного стеатоза в печени крыс в условиях хронической алкоголизации

Группы	Печеночный индекс, %	Содержание липидов	
		ТГ, мг/г печени	ОХ, мкг/г печени
Контроль	2,73±0,30	10,95±0,88	333,6±22,8
ХАИ	3,41±0,04 *	24,96±1,70 ***	464,7±25,8 ***
ХАИ + НАМ	3,23±0,07 *	19,37±1,13 **	402,7±32,9 **
ХАИ + НР	2,86±0,02 #	15,43±1,10 ##	352,9±22,3 ##
ХАИ + НМН	2,90±0,05 #	14,84±0,88 ##	353,3±20,2 ##

Примечание – здесь и далее в таблицах – \*, \*\*, \*\*\* –  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  по сравнению с контрольной группой соответственно; #, ##, ### –  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  по сравнению с группой ХАИ соответственно

Таблица 2. – Влияние предшественников биосинтеза НАД на содержание липидов в сыворотке крыс в условиях хронической алкоголизации, ммоль/л

Группы	Показатели			
	ОХ	ТГ	ХЛВП	СЖК
Контроль	4,05±0,40	0,715±0,07	2,83±0,37	0,47±0,01
ХАИ	7,34±0,95 *	1,80±0,08 *	2,24±0,28 *	0,72±0,06 *
ХАИ + НАМ	5,71±0,54	1,16±0,09 *	2,30±0,26 *	0,68±0,03 *
ХАИ + НР	4,02±0,38 #	1,03±0,13 #	2,88±0,32 #	0,58±0,03 #
ХАИ + НМН	3,56±0,62 #	0,77±0,13 #	2,81±0,15 #	0,55±0,03 #

Соотношение жирных кислот в печени в целом отражает изменения транспорта, метаболизма, и процессов окисления липидов.

В условиях эксперимента выявлены значительные изменения жирнокислотного состава липидов печени крыс, индуцированные хроническим введением этанола (таблица 3).

Наблюдалось значимое увеличение уровней пальмитата (C16:0) на 55 % и олеата (C18:1n9) на 35%, при одновременном снижении уровней стеарата (C18:0) на 36 % и доли ПНЖК, включая арахидоновую (C20:4n6) на 33% и докозагексаеновую (C22:6n3) на 32%, также отмечено значительное снижение содержания их предшественников (C18:3n3, C18:3n6).

Наблюдаемые изменения жирнокислотного состава аналогичны таковым у людей. Так, в печени пациентов с алкогольной зависимостью наблюдается повышение уровней МНЖК и снижение ПНЖК, что является прогностическим критерием прогрессирования АБП [14].

Увеличение доли насыщенных ЖК и МНЖК при ХАИ является последствием ингибирования  $\beta$ -окисления и активации *de novo* липогенеза, а снижение уровня ПНЖК связано со снижением активностей микросомальных элонгаз и десатураз, в частности  $\Delta 5$ - и  $\Delta 6$ -десатураз [15].

Таблица 3. – Изменение жирнокислотного состава липидов печени крыс под воздействием предшественников биосинтеза НАД в условиях хронической алкоголизации

ЖК	Группы				
	Контроль	ХАИ	ХАИ + НАМ	ХАИ + НР	ХАИ + НМН
C16:0	16,42 [14,67; 19,1]	25,46 *** [24,02; 27,16]	24,41 ** [23,24; 27,42]	14,11 ## [13,66; 15,63]	13,73 ## [13,05; 14,72]
C18:0	24,12 [23,87; 27,32]	16,27 *** [14,66; 17,88]	16,43 *** [15,95; 16,92]	23,76 ## [22,17; 25,83]	25,10 ## [23,63; 25,9]
C18:1n9	16,79 [16,43; 18,41]	22,71 *** [20,61; 23,26]	23,04 ** [22,38; 23,49]	14,44 ## [14,28; 15,52]	15,99 ## [13,97; 16,45]
C18:2n6	8,15 [7,85; 8,71]	11,12 *** [10,78; 12,35]	11,29 *** [11,01; 11,34]	7,89 ### [7,22; 8,64]	7,11 ### [6,75; 7,7]
C18:3n6	0,040 [0,039; 0,051]	0,010 *** [0,010; 0,011]	0,010 *** [0,009; 0,011]	0,040 ### [0,039; 0,041]	0,040 ### [0,039; 0,041]
C18:3n3	0,097 [0,091; 0,102]	0,025 *** [0,023; 0,029]	0,027 *** [0,025; 0,028]	0,085 ### [0,08; 0,098]	0,100 ### [0,093; 0,103]
C20:3n6	0,017 [0,016; 0,02]	0,014 *** [0,012; 0,015]	0,013 *** [0,012; 0,013]	0,016 ## [0,015; 0,017]	0,016 # [0,015; 0,016]
C22:1n9	0,015 [0,014; 0,017]	0,007 *** [0,007; 0,007]	0,008 *** [0,006; 0,008]	0,017 ### [0,016; 0,018]	0,016 ### [0,015; 0,017]
C20:4n6	23,10 [20,51; 23,51]	15,47 *** [14,41; 16,52]	13,81 *** [13,21; 15,92]	19,68 ## [17,84; 22,56]	18,15 # [17,63; 21,12]
C22:6n3	3,10 [2,91; 3,17]	2,10 * [1,90; 2,22]	2,13 * [2,01; 2,22]	3,51 ## [3,43; 3,74]	3,23 # [2,92; 3,29]

Введение НАМ не оказывало значимого влияния на жирнокислотный состав липидов печени, в то время как НР и НМН в условиях хронической алкоголизации эффективно предотвращали изменения уровней ЖК, сохраняя их на уровне контрольных животных.

Наблюдаемые различия в антистеатозном и гиполипидемическом действии изученных соединений, по-видимому, связаны с их различной эффективностью как предшественников НАД. Слабая эффективность НАМ согласуется с известными ограничениями его биотрансформации в НАД. Напротив, мощный антистеатозный эффект НР и НМН, вероятно, опосредован их способностью быстро и эффективно восполнять пул НАД, тем самым нивелируя ключевое метаболическое последствие алкогольной интоксикации – нарушение окислительно-восстановительного баланса НАД/НАДН в гепатоцитах [6–9].

Для построения целостной картины протекторного действия НР и НМН в отношении липидного метаболизма печени при алкогольной интоксикации целесообразно проведение дополнительных исследований, направленных на изучение экспрессии генов ключевых транскрипционных факторов (PPAR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c) и активностей ферментов липидного обмена. В первую очередь это касается маркеров *de novo* липогенеза (ацетил-КоА-карбоксилаза, синтаза жирных кислот), ферментов синтеза МНЖК (стеароил-КоА-десатураза-1), а также  $\Delta 5$ - и  $\Delta 6$ -десатураз, участвующих в биосинтезе длинноцепочечных ПНЖК.

**Заключение.** В результате проведенного исследования была впервые проведена сравнительная оценка профилактической эффективности трех предшественников биосинтеза НАД – никотинамида, никотинамид рибозида и никотинамидмононуклеотида – в отношении развития алкоголь-индуцированного стеатоза печени у крыс.

Установлено, что никотинамид рибозид и никотинамидмононуклеотид проявляют выраженный гепатопротекторный эффект, предотвращая накопление триацилглицеролов и холестерина в ткани печени и нормализуя липидный профиль сыворотки крови в условиях хронической алкоголизации. Важ-

ным результатом является также их способность восстанавливать физиологический жирнокислотный состав печеночных липидов, нарушенный действием этанола.

В отличие от них, никотинамид оказывал лишь умеренное и статистически неполное защитное действие на все исследованные параметры липидного обмена.

Полученные данные позволяют заключить, что выраженный антистеатозный эффект никотинамида рибозида и никотинамидмононуклеотида, вероятно, обусловлен их высокой биодоступностью и способностью быстро восполнять пул НАД в гепатоцитах, тем самым нивелируя ключевое метаболическое последствие алкогольной интоксикации – нарушение окислительно-восстановительного баланса НАД/НАДН. Ограниченнная эффективность НАМ согласуется с известными особенностями его метаболизма.

Таким образом, никотинамидрибозид и никотинамидмононуклеотид продемонстрировали наибольший потенциал в качестве перспективных средств для профилактики ранних стадий алкогольной болезни печени. Дальнейшие исследования должны быть сфокусированы на изучении молекулярных механизмов их действия, включая влияние на экспрессию ключевых транскрипционных факторов и активность ферментов липидного метаболизма.

**Благодарности.** Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Исследовать гепатопротекторную активность метаболических предшественников никотинамидадининуклеотида при алкогольной интоксикации» (№ гос. регистрации 20210990) по заданию 4.1.2.3. подпрограммы «Экспериментальная медицина» государственной программы научных исследований «Трансляционная медицина» на 2021–2025 годы (договор № 03/21/2021-29-018 от 17.02.2021).

Авторы выражают свою искреннюю благодарность M. Tomulewicz и A. Zakrzeska, M.D., PhD (Высшая медицинская школа г. Белосток, Польша) за бескорыстное предоставление некоторых реагентов, использованных в работе.

### Список обозначений

АБП – алкогольная болезнь печени; ЖК – жирная кислота; МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; НАД – никотинамидаденинди-

нуклеотид окисленный; НАДН – никотинамида-дининдинуклеотид восстановленный; НАМ – никотинамид; НР – никотинамида рибозид; НМН – никотинамидмононуклеотид; ОХ – общий холестерин; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; СЖК – свободные жирные кислоты; ТГ – триацилглицеролы; ХЛВП – холестерол липопротеинов высокой плотности; ХАИ – хроническая алкогольная интоксикация

#### Список использованных источников

1. Alcohol-associated liver disease - Global epidemiology / F. Åberg, Z. G. Jiang, H. Cortez-Pinto, V. Männistö // Hepatology. – 2024. – Vol. 80, № 6. – P. 1307–1322. DOI: 10.1097/HEP.0000000000000899.
2. French, S. W. Chronic alcohol binging injures the liver and other organs by reducing NAD<sup>+</sup> levels required for sirtuin's deacetylase activity / S. W. French // Exp. Mol. Pathol. – 2016. – Vol. 100, № 2. – P. 303–306. DOI: 10.1016/j.yexmp.2016.02.004.
3. Chen, M. Alcohol and the mechanisms of liver disease / M. Chen, W. Zhong, W. Xu // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2023. – Vol. 38. – P. 1233–1240. DOI: 10.1111/jgh.16282.
4. Pharmacological interventions for alcoholic liver disease (alcohol-related liver disease): an attempted network meta-analysis / E. Buzzetti, M. Kalafateli, D. Thorburn [et al.] // Cochrane Database Syst Rev. – 2017. – Vol. 3, № 3. – Art. CD011646. doi: 10.1002/14651858.CD011646.pub2.
5. ACG Clinical Guideline: alcohol-associated liver disease / L. L. Jophlin, A. K. Singal, R. Bataller [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2024. – Vol. 119, № 1. – P. 30–54. DOI: 10.14309/ajg.0000000000002572.
6. Шляхтун, А.Г. Влияние профилактического введения предшественников биосинтеза никотинамиддининуклеотида на активность систем метаболизма спиртов и альдегидов в печени крыс при острой тяжелой алкогольной интоксикации / А.Г. Шляхтун, Е. В. Букша, Е. В. Богдевич [и др.] // Физ.-хим. биол. как основа совр. медицины : докл. междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию со дня рождения проф. Е. В. Барковского, Минск, 28 октября 2022 г. / под ред. В. В. Хрусталёва, А. Д. Тагановича, Т. А. Хрусталёвой. – Минск, 2022. – С. 377–382.
7. Шляхтун, А. Г. Протекторное действие предшественников биосинтеза никотина-мидадениндинуклеотида на функциональное состояние митохондрий печени при алкогольной интоксикации / А. Г. Шляхтун, И. П. Сутько, Е. В. Букша [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 3. – С. 14–21.
8. Restoring energy metabolism by NAD<sup>+</sup> supplement prevents alcohol-induced liver injury and boosts liver regeneration / Y. Liu, C. Cheng, H. Gao [et al.] // Food Sci. Nutr. – 2024. – Vol. 12, № 7. – P. 5100–5110. DOI: 10.1002/fsn3.4159.
9. β-Nicotinamide mononucleotide alleviates alcohol-induced liver injury in a mouse model through activation of NAD<sup>+</sup>/SIRT1 signaling pathways / X. Yang, E. Zheng, Y. Lin [et al.] // Hereditas. – 2025. – Vol. 162, № 1. – Art. 161. doi: 10.1186/s41065-025-00529-x.
10. Liu, R. A novel preparation of nicotinamide mononucleotide / R. Liu, J. Visscher // Nucleosides Nucleotides. – 1994. – Vol. 13, № 5. – P. 1215–1216. DOI: 10.1080/15257779408011891.
11. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission / B. Close, K. Banister, V. Baumans [et al.] // Lab Anim. – 1996. – Vol. 30, № 4. – P. 293–316. DOI: 10.1258/002367796780739871.
12. Duncombe, W. G. The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma / W. G. Duncombe // Clinica Chim. Acta. – 1964. – Vol. 9. – P. 122–125. DOI: 10.1016/0009-8981(64)90004-x.
13. Folch, J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, M. Lees, S. G. H. Sloane // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, № 1. – P. 497–509.
14. Fatty acid composition of liver total lipids in alcoholic patients with and without liver damage / M. P. de la Maza, S. Hirsch, S. Nieto [et al.] // Alcohol Clin. Exp. Res. – 1996. – Vol. 20, № 8. – P. 1418–1422. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1996.tb01143.x.
15. Buko, V. U. Role of microsomal ethanol-oxidizing system in regulation of linoleoyl-CoA desaturase activity after long-term ethanol administration / V. U. Buko, L. I. Sushko // Alcohol Alcohol. – 1988. – Vol. 23. – № 1. – P. 69–71.

## References

1. Åberg F., Jiang Z.G., Cortez-Pinto H., Männistö V. Alcohol-associated liver disease—Global epidemiology. *Hepatology*, 2024, vol. 80, iss. 6, pp. 1307–1322. DOI: 10.1097/HEP.0000000000000899
2. French S.W. Chronic alcohol binging injures the liver and other organs by reducing NAD<sup>+</sup> levels required for sirtuin's deacetylase activity. *Exp. Mol. Pathol.*, 2016, vol. 100, iss. 2, pp. 303–306. DOI: 10.1016/j.yexmp.2016.02.004
3. Chen M., Zhong W., Xu W. Alcohol and the mechanisms of liver disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2023, vol. 38, pp. 1233–1240. DOI: 10.1111/jgh.16282
4. Buzzetti E., Kalafateli M., Thorburn D., et al. Pharmacological interventions for alcoholic liver disease (alcohol-related liver disease): an attempted network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev.*, 2017, vol. 3, no. 3, article CD011646. DOI: 10.1002/14651858.CD011646.pub2
5. Jophlin L.L., Singal A.K., Bataller R., et al. ACG Clinical Guideline: alcohol-associated liver disease. *Am. J. Gastroenterol.*, 2024, vol. 119, iss. 1, pp. 30–54. DOI: 10.14309/ajg.00000000000002572
6. Shlyahutn A.H., Buksha E.V., Bogdevich E.V., et al. Vliyanie profilakticheskogo vvedeniya predshestvennikov biosinteza nikotinamidadenindinukleotida na aktivnost' sistem metabolizma spirtov i al'degidov v pecheni kry's pri ostroj tyazheloj alkogol'noj intoksikaczii [The effect of prophylactic administration of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis precursors on the activity of alcohol and aldehyde metabolism systems in rat liver during acute severe alcohol intoxication]. *Fiz.-khim. biol. kak osnova sovr. medicziny* [Physico-chemical biology as the basis of modern medicine: abstracts of reports of participants of the republican conference with international participation]. Eds. Khrustalev V.V., Taganovich A.D., Khrustaleva T.A., Minsk, 2022, pp. 377–382. (Russian)
7. Shlyahutn A.H., Sutsko I.P., Buksha E.V., et al. Protektornoe dejstvie predshestvennikov biosinteza nikotinamidadenindinukleotida na funkczional'noe sostoyanie mitokhondrii pecheni pri alkogol'noj intoksikaczii [Protective effect of precursors of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis on liver mitochondrial functions in alcohol intoxication]. *Biokhimiya i molekulyarnaya biologiya* [Biochemistry and Molecular Biology]. 2023, vol. 2, iss. 3, pp. 14–21. (Russian)
8. Liu Y., Cheng C., Gao H., et al. Restoring energy metabolism by NAD<sup>+</sup> supplement prevents alcohol-induced liver injury and boosts liver regeneration. *Food Sci. Nutr.*, 2024, vol. 12, iss. 7, pp. 5100–5110. DOI: 10.1002/fsn3.4159
9. Yang X., Zheng E., Lin Y., et al.  $\beta$ -Nicotinamide mononucleotide alleviates alcohol-induced liver injury in a mouse model through activation of NAD<sup>+</sup>/SIRT1 signaling pathways. *Hereditas*, 2025, vol. 162, iss. 1, article 161. DOI: 10.1186/s41065-025-00529-x
10. Liu R., Visscher J. A novel preparation of nicotinamide mononucleotide. *Nucleosides Nucleotides*, 1994, vol. 13, iss. 5, pp. 1215–1216. DOI: 10.1080/1525779408011891.
11. Close B., Banister K., Baumans V., et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. *Lab Anim.*, 1996, vol. 30, iss. 4, pp. 293–316. DOI: 10.1258/002367796780739871
12. Duncombe W. G. The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clinica Chim. Acta*, 1964, vol. 9, pp. 122–125. DOI: 10.1016/0009-8981(64)90004-x
13. Folch J., Lees M., Sloane S.G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, vol. 226, iss. 1, pp. 497–509.
14. de la Maza M. P., Hirsch S., Nieto S., et al. Fatty acid composition of liver total lipids in alcoholic patients with and without liver damage. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 1996, vol. 20, iss. 8, pp. 1418–1422. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1996.tb01143.x
15. Buko V.U., Sushko L.I. Role of microsomal ethanol-oxidizing system in regulation of linoleoyl-CoA desaturase activity after long-term ethanol administration. *Alcohol Alcohol.*, 1988, vol. 23, iss. 1, pp. 69–71.

Received 13.10.2025

**А.С. ЧЕРЕМИСИН**

младший научный сотрудник отдела витаминологии и нутрицевтики<sup>1</sup>



**Е.Ф. РАДУТА**

ученый секретарь<sup>1</sup>



**О.В. ТИТКО**

научный сотрудник отдела витаминологии и нутрицевтики<sup>1</sup>



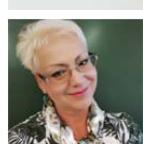
**И.Н. КАТКОВСКАЯ**

научный сотрудник отдела витаминологии и нутрицевтики<sup>1</sup>



**Ж.В. МОТЫЛЕВИЧ**, канд. биол. наук,

заведующий отделом витаминологии и нутрицевтики<sup>1</sup>



**Н.П. КАНУННИКОВА**, доктор биол. наук, профессор,  
главный научный сотрудник<sup>1</sup>



**С.Г. АЗИЗБЕКЯН**

старший научный сотрудник

ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси»,  
г. Минск, Республика Беларусь



**В.А. ГУРИНОВИЧ**, канд. биол. наук,

ведущий научный сотрудник отдела витаминологии и нутрицевтики<sup>1</sup>



**А.Г. МОЙСЕЕНOK**, член-корреспондент НАН Беларуси,

доктор биол. наук, профессор,

главный научный сотрудник<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»,  
г. Гродно, Республика Беларусь



Статья поступила 14.10.2025 г.

## МОДУЛЯЦІЯ D-ПАНТЕНОЛОМ МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО БАЛАНСА В КРОВООБРАЩЕНИІ ПРИ ОСТРОЙ ІШЕМІІ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС

Баланс микроэлементов организма тесно связан с формированием металлопротеома, что нарушается при ишемии ЦНС. Исследование эффекта D-пантенола, обладающего противоишемической активностью, представляет интерес для экспериментальной и клинической неврологии.

**Цель исследования** –исследовать микроэлементный статус периферической крови при моделировании состояния острой ишемии центральной нервной системы.

**Материалы и методы.** Методом масс-спектрометрии с индуктивно связанный плазмой изучен элементный состав периферической крови (цельной крови и плазмы) половозрелых крыс-самцов, подвергнутых хирургической двусторонней перевязке сонных артерий в течение 2 ч. В качестве протекторов использовали D-пантенол (200 мг/кг), и его композицию с наноформами Fe, Se, и Zn, вводимых накануне операции в течение 3 сут.

**Результаты** в расчете на уровень белка в плазме и гемоглобина в цельной крови выявили дисбаланс элементного статуса у оперированных животных с разнонаправленным изменением Mg, Cr, Fe, Co и падением Mn в цельной крови, а также падение уровня Cr и рост Se в плазме крови.

**Заключение.** Изменения микроэлементного статуса частично корректировались введением предшественника КоA, D-пантенола, указывая на метаболическую связь биосинтеза кофермента с формированием ответа металлопротеома при остром ишемическом поражении центральной нервной системы.

**Ключевые слова:** ишемия головного мозга, кровь, пантенол, микроэлементы, масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой.

**CHEREMISIN A.S.**, Junior Researcher at the Department of Vitaminology and Nutraceuticals<sup>1</sup>

**RADUTA E.F.**, Scientific Secretary<sup>1</sup>

**TITKO O.V.**, Researcher at the Department of Vitaminology and Nutraceuticals<sup>1</sup>

**KATKOVSKAYA I.N.**, Researcher at the Department of Vitaminology and Nutraceuticals<sup>1</sup>

**MOTYLEVICH ZH.V.**, PhD in Biol. Sc.,

Head of the Department of Vitaminology and Nutraceuticals<sup>1</sup>

**KANUNNIKOVA N.P.**, Doctor of Biol. Sc., Professor,  
Leading Research Associate<sup>1</sup>

**AZIZBEKYAN S.G.**, Senior Researcher

Institute of Physical and Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,  
Minsk, Republic of Belarus

**GURINOVICH V.A.**, PhD in Biol. Sc.,

Leading Researcher, Department of Vitaminology and Nutraceuticals<sup>1</sup>

**MOISEYENOK A.G.**, Doctor of Biol. Sc., Professor,

Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, Chief Researcher<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds, National Academy of Sciences of Belarus,  
Grodno, Republic of Belarus

## D-PANTHENOL MODULATION OF MICROELEMENT BALANCE IN BLOOD CIRCULATION IN ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA IN WHITE RATS

*The balance of micronutrients in the body is closely linked to the formation of the metalloproteome, which is disrupted during ischemia of the CNS. The research of the effect of D-pantthenol, which has anti-ischemic activity, is of interest for experimental and clinical neurology.*

**Aim of the study.** To study the trace element status of peripheral blood in a simulated state of acute ischemia of the central nervous system.

**Materials and Methods.** The elemental composition of peripheral blood (whole blood and plasma) of male rats subjected to surgical bilateral ligation of the carotid arteries for 2 h was studied using inductively coupled plasma mass spectrometry. D-panthenol (200 mg/kg) and its composition with nanoforms of Fe, Se, and Zn were administered as protectors for 3 days prior to surgery.

**Results.** The results revealed an imbalance in elemental status in the operated animals, with opposing changes in Mg, Cr, Fe, and Co and a decrease in Mn in whole blood, as well as a decrease in Cr and an increase in Se in plasma.

**Conclusion.** Changes in microelement status were partially corrected by the administration of the CoA precursor, D-panthenol, indicating a metabolic link between coenzyme biosynthesis and the formation of a metalloproteome response in acute ischemic damage to the central nervous system.

**Keywords:** cerebral ischemia, blood, panthenol, microelements, inductively coupled plasma mass spectrometry.

**Введение.** Внезапное и критическое снижение или прекращение мозгового кровотока влечет за собой падение энергетического метаболизма, активацию процессов гликолиза, блокаду транспорта ионов, с открытием  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующих каналов и увеличением уровня нейронального  $\text{Ca}^{2+}$  с его многообразием метаболических и сигнальных эффектов на фоне манифестирующего ацидоза и глутамат-опосредованный эксайтотоксичности [1, 2]. Несмотря на очевидное снижение переноса кислорода в ЦНС, наблюдается активация окислительного стресса – ослабление антиоксидантной защиты и увеличение воздействия на нервную ткань активных форм кислорода, азота, серы и других нейротоксикантов [3].

Сопутствующие ишемии головного мозга водно-электролитные нарушения создают дополнительные неблагоприятные условия для функции механизмов нейропротекции, являются компонентами развития церебрального отека, приобретающего цитотоксический характер [1]. Причастные к этому процессу каналы аквапорины могут быть вовлечены в ограничение NO-зависимой дилатации, а также в неблагоприятный нейрональный баланс  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  с изменением осмотической характеристики клеток. Огромная роль в формировании гипоксического повреждения и включения процессов антигипоксической защиты принадлежит металлопротеому, объем которого чрезвычайно велик и интегрирует более 1000 ферментативных и транспортных белков, участвующих в гомеостазе ЦНС. Исследования в области патохимии ионов при ишемии головного мозга ограни-

чиваются в большинстве своем макроэлементами и ограниченными экспериментами с измерением селена, цинка, марганца, меди, т.е. уровня микроэлементов, непосредственно участвующих в формировании каталитических центров антиоксидантных ферментов. Их роль в развитии ишемии недостаточно изучена, по сравнению, например, со значимостью баланса  $\text{Mg}^{2+}$ , являющемуся прямым нейропротектором. Элементы с переменной валентностью, в частности Fe и Cu, формирующие редокс-системы ( $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Cu}^{+}/\text{Cu}^{2+}$ ) и вовлеченные в механизмы апоптоза, а также специфические формы программируемой клеточной гибели – ферроптоз и купроптоз, наряду с другими функционально значимыми элементами, продолжают оставаться в центре научного внимания [3]. Некоторые из них, например Al, уже используются в моделях нейродегенеративной патологии [4].

Особый интерес представляет взаимодействие микроэлементов в процессе функционирования металлопротеома, связанное с массивом депонирования и переноса элементов в кровеносной системе, печени и селезенке при инициации окислительного стресса (ОС). Допускается, что дисбаланс эсценциальных элементов влечет за собой накопление токсичных форм металлов в ЦНС и отягощает развитие ишемического синдрома и постишемической нейродегенерации. Опыт клинического наблюдения убеждает в необходимости системного исследования баланса элементов при острой ишемии головного мозга.

При этом представляется необходимым изучение возможности коррекции микроэлементного дисбаланса функционально связанными (с точки зрения защиты от ОС) наноформами микроэлементов, такими как Fe, Se, и Zn, а также оценка эффективности D-пантенола. Это соединение, являющееся предшественником витамина B5, обладает нейропротекторным действием, в том числе в модели фокальной ишемии мозга [5].

**Материалы и методы.** Для разложения органических образцов и извлечения анализируемых элементов использовали концентрированную азотную кислоту по ГОСТ 11125-84 с плотностью 1,42 г/см<sup>3</sup>. Для введения животным использовали нанокомплекс (НК) Fe+Se+Zn производства НТООО «АКТЕХ» и D-пантенол. Все прочие использованные реактивы были квалификации «х.ч.» или «о.с.ч.». При пробоподготовке использовали деионизированную воду, полученную на системе водоподготовки Ultra H7 (Hydrolab, Польша).

Экспериментальная модель была выполнена на самцах крыс линии Wistar CRL: (WI) WUBR массой 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария в соответствии с существующими нормами содержания лабораторных животных. Моделирование ишемии головного мозга (Иш) осуществляли путем перевязывания обеих общих сонных артерий у крыс на 2 ч. Все препараты вводили внутрибрюшно трижды (за 2 дня, за 1 день и за 40 мин до перевязки сонных артерий) в следующих дозах: пантенол (ПЛ) – 200 мг/кг, нанокомплекс Fe+Se+Zn (НК) – 1 мг/кг. Животные были разделены на 4 группы: I – контрольная, II-IV – экспериментальная ишемия головного мозга. На фоне ишемии III гр вводился ПЛ, IV гр – комплекс «ПЛ+НК». В качестве наркоза использовали хлоралъгидрат в дозе 350 мг/кг, вводимый внутрибрюшно. Животных выводили из опыта путем декапитации на 3-й день эксперимента через 2 ч после проведения операции. Образцы крови объемом 100 мкл растворяли в 900 мкл 65 % азотной кислоты, аликовты полученных растворов объемом 100 мкл разбавляли водой до 5 мл и

подвергали масс-спектрометрии с индуктивно связанный плазмой на приборе NexION 2000B (PerkinElmer, США). Анализ данных проводился в ПО Syngistix™ (Perkin Elmer, США).

Дизайн эксперимента одобрен комиссией по биоэтике Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (протокол №1 от 20.02.2024) и соответствуют Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, и руководству NIH уходу и использованию лабораторных животных (публикация NIH № 80-23; пересмотрено в 2011 г.).

Для обработки данных использовали пакет статистических программ STATISTICA 10.0 (StatSoft, USA). Результаты эксперимента обрабатывались с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующим тестом Тьюки. Экспериментальные данные представлены в виде  $M \pm SD$ , где  $M$  – среднее значение,  $SD$  – стандартное отклонение. Статистически значимыми считали различия при значении  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Полученные результаты исследования микроэлементного состава цельной крови показывают, что в ранний период развития постишемического синдрома наблюдаются существенные сдвиги в концентрациях микроэлементов.

Как следует из данных, представленных в таблице 1, наряду с увеличением уровня Mg, Cr, Fe, Co имеет место падение уровня Mn.

Применение предшественника кофермента А (КоА) – D-пантенола, известного защитными свойствами при фокальной ишемии мозга [6], практически полностью нивелирует повышенный уровень Mg, Cr, Fe, Co и предупреждает снижение уровня Mn в периферической крови подопытных животных. Эти же результаты в расчете на мг гемоглобина косвенно показывают нормализующую тенденцию системного инициирования биосинтеза КоА в стабилизации микроэлементного пула кровообращения. Это проявилось в отношении Mg, Cr, Fe, Co, а также выявилось как модулирующий эффект в отношении Zn, Se, Co у прооперированных животных.

Таблица 1. – Содержание химических элементов в образцах цельной крови крыс при экспериментальной ишемии головного мозга и введения ПЛ или комплекса ПЛ+НК, M±SD

Химический элемент		Контроль	Ишемия (2 ч)	Иш + ПЛ (200 мг/кг)	Иш + ПЛ (200 мг/кг) + НК (1 мг/кг)
Mg	(мг/л)	30,64±3,87	40,20±2,10*	34,39±0,52 <sup>○</sup>	36,85±7,00
	(мкг/г гемоглобина)	126,47±17,17	147,11±14,31	121,16±3,58 <sup>○</sup>	131,73±27,79
Ca	(мг/л)	7754,24±68,62	10009,72±124,70*	7293,06±126,62 <sup>*○</sup>	8379,76±70,85 <sup>*○Δ</sup>
	(мг/г гемоглобина)	32,13±3,31	36,58±2,13	25,69±0,57 <sup>*○</sup>	29,95±3,08 <sup>○Δ</sup>
Cr	(мкг/л)	1134,42±111,24	1313,85±85,70*	992,51±55,34 <sup>○</sup>	999,02±67,20 <sup>○</sup>
	(мкг/г гемоглобина)	4,71±0,79	4,79±0,17	3,50±0,20 <sup>*○</sup>	3,56±0,25 <sup>*○</sup>
Mn	(мкг/л)	666,87±30,82	395,27±24,49*	626,52±24,27 <sup>○</sup>	539,35±54,07 <sup>*○Δ</sup>
	(мкг/г гемоглобина)	2,76±0,27	1,44±0,06*	2,21±0,12 <sup>*○</sup>	1,92±0,24 <sup>*○</sup>
Fe	(мг/л)	586,28±42,45	733,74±43,37*	564,17±19,69 <sup>○</sup>	659,86±137,54
	(мг/г гемоглобина)	2,43±0,29	2,68±0,21	1,99±0,10 <sup>*○</sup>	2,36±0,53
Co	(мкг/л)	338,96±8,51	365,89±10,74*	311,89±18,81 <sup>*○</sup>	361,29±21,73 <sup>Δ</sup>
	(мкг/г гемоглобина)	1,40±0,14	1,34±0,07	1,10±0,05 <sup>*○</sup>	1,29±0,17
Cu	(мкг/л)	1275,80±406,08	1009,49±103,78	875,37±134,45	967,98±111,20
	(мкг/г гемоглобина)	5,33±1,92	3,68±0,23	3,08±0,43	3,44±0,36
Zn	(мкг/л)	5955,27±1074,55	4831,33±530,80	4464,51±610,58	4413,22±744,21
	(мкг/г гемоглобина)	24,95±6,43	17,68±2,33	15,76±2,44 <sup>*</sup>	15,69±2,51 <sup>*</sup>
Se	(мкг/л)	929,69±209,44	1096,67±233,33	620,97±233,02 <sup>○</sup>	1714,65±375,81 <sup>*○Δ</sup>
	(мкг/г гемоглобина)	3,90±1,12	3,99±0,73	2,19±0,80 <sup>*○</sup>	6,08±1,09 <sup>*○Δ</sup>
Mo	(мкг/л)	49,14±25,93	47,78±19,54	44,47±11,55	112,81±3,32 <sup>*○Δ</sup>
	(мкг/г гемоглобина)	0,20±0,11	0,18±0,08	0,16±0,04	0,37±0,02 <sup>*○Δ</sup>

Примечание – здесь и далее – \* – p <0,05 по отношению к группе «Контроль», ○ – p <0,05 по отношению к группе «Ишемия (2 ч)», Δ – p <0,05 по отношению к группе «Иш + ПЛ (200 мг/кг)».

Таблица 2. – Содержание химических элементов в образцах плазмы крови крыс при экспериментальной ишемии головного мозга и введения ПЛ или комплекса ПЛ+НК, M±SD

Химический элемент		Контроль	Ишемия (2 ч)	Иш + ПЛ (200 мг/кг)	Иш + ПЛ (200 мг/кг) + НК (1 мг/кг)
Mg	(мг/л)	20,22±2,10	18,41±0,40	19,54±1,97	17,10±2,02
	(мкг/г белка)	273,68±30,38	266,75±11,10	253,76±38,97	221,24±21,94 <sup>○</sup>
Ca	(мг/л)	7477,13±133,19	6070,22±89,87*	6272,10±85,49 <sup>*○</sup>	7357,53±56,59 <sup>○Δ</sup>
	(мг/г белка)	101,27±6,09	87,91±2,40*	81,21±6,19*	95,34±3,01 <sup>○Δ</sup>
Cr	(мкг/л)	1232,89±55,10	865,83±109,32*	900,76±57,95*	978,32±105,04 <sup>*</sup>
	(мкг/г белка)	16,67±0,48	12,56±1,78*	11,71±1,73*	12,66±1,12 <sup>*</sup>
Mn	(мкг/л)	867,25±68,40	776,98±22,94*	792,87±31,89	574,37±22,07 <sup>*○Δ</sup>
	(мкг/г белка)	11,75±1,16	11,25±0,19	10,29±1,26	7,44±0,21 <sup>*○Δ</sup>
Fe	(мг/л)	107,62±4,24	92,85±2,16*	96,40±3,65*	98,47±1,34 <sup>*○</sup>
	(мг/г белка)	1,46±0,10	1,34±0,05	1,25±0,11*	1,28±0,04 <sup>*</sup>
Co	(мкг/л)	266,02±26,14	265,58±22,13	278,41±11,92	295,49±10,51
	(мкг/г белка)	3,61±0,48	3,85±0,32	3,61±0,33	3,83±0,09
Cu	(мкг/л)	1397,24±162,31	1102,10±100,72*	1415,72±129,22 <sup>○</sup>	1715,86±329,14 <sup>○</sup>
	(мкг/г белка)	18,91±2,30	15,98±1,76	18,32±2,03	22,15±3,70 <sup>○</sup>
Zn	(мкг/л)	1874,99±871,59	1309,72±226,41	1246,12±161,51	19600,81±6755,96 <sup>*○Δ</sup>
	(мкг/г белка)	25,49±12,32	18,96±3,26	16,29±3,65	250,37±89,79 <sup>*○Δ</sup>
Se	(мкг/л)	574,21±207,05	793,63±389,65	671,51±224,16	1329,74±459,89 <sup>*○Δ</sup>
	(мкг/г белка)	7,71±2,45	11,57±5,91	8,57±2,52	17,14±5,65 <sup>*○Δ</sup>
Mo	(мкг/л)	124,99±15,43	123,18±42,65	62,04±7,90 <sup>*○</sup>	66,78±9,11 <sup>*</sup>
	(мкг/г белка)	1,69±0,21	1,79±0,63	0,80±0,10 <sup>*○</sup>	0,87±0,08 <sup>*</sup>

Параллельное исследование плазмы крови обнаружило эффекты воздействия гипоксии на элементный статус совершенно противоположного характера. В этом случае наблюдалась слабая тенденция к падению уровня Mg, но проявилось выраженное и достоверное снижение уровня Cr, Mn, Fe, Cu и только тенденция к увеличению уровня Se. Профилактическое курсовое применение D-пантенола в предоперационный период не предупреждало указанных изменений за исключением нормализации уровня Cu и приводило к двукратному падению содержания Mo в плазме крови относительно контроля и группы оперированных крыс. Расчет полученных данных на мг белка выявил умеренную картину микроэлементного дисбаланса в плазме крови при ишемическом поражении головного мозга. В этом случае выявлено падение уровня Cr (не корректируемое D-пантенолом) и слабая тенденция к увеличению уровня Se, предупреждаемая введением пантенола. Последний снижал уровень Mo в плазме крови. Назначение композиции D-пантенола и нанокомплекса микроэлементов стабилизирует уровень Cr, Fe, и увеличивает уровень Zn и Se в плазме крови.

Эти показатели в цельной крови указывают на эффект НК на уровень Cu и Zn (снижение) и Se и Mo (увеличение). Расчет данных на г гемоглобина выявляет отчетливую гиперселенемию.

Сопоставление полученных результатов исследования при оценке влияния острой ишемии головного мозга на уровни элементов в периферическом кровообращении дает противоположные результаты в зависимости от использования в качестве тест-объекта цельной крови или плазмы. Несомненно, имеет место перераспределение элементов между форменными элементами крови и белками-транспортерами, циркулирующими в плазме наряду с процессами депонирования их в печени, селезенке, а также других внутренних органах. Эти физиологические факторы, стабилизирующие макро- и микроэлементный статус при острой ишемии головного мозга, подробно рассматривались [7, 8], однако их значение не следует преувеличивать, поскольку приведение полученных результатов к базовому параметру (гемоглобину цельной крови и общему белку плазмы)

показывает относительную стабильность баланса микроэлементов в кровообращении. Это относится и к эффекту D-пантенола, известного метаболита системы КоA, обладающего противогипоксическими и антиоксидантными свойствами.

В “сухом” остатке мы наблюдаем очевидный эффект этого препарата на внутриорганизменную мобилизацию Fe (ферронемия отчетливо ослабляется) и, вероятно, мобилизацию «антиоксидантных» элементов – Zn, Se, Cr и Mo. В данном случае речь может идти о перестройке металлопротеома, связанной с инициацией окислительного стресса и внешней трансляцией металлопротеинов, в том числе Mo-содержащей ксантинооксидазы – ключевого фермента пуринового обмена, которая, как известно, резко активируется при ишемическом инсульте [9, 10]. На фоне введения D-пантенола эффект НК маловыражен и может быть ассоциирован только с уровнем Se как в цельной, так и в плазме крови.

В экспериментальных и клинических исследованиях при ишемической патологии ЦНС, инсульте, в системе профилактических мероприятий важное место уделяется балансу Mg/Ca. Общепризнано, что обеднение клеток эндотелия магнием способствует избыточному накоплению солей кальция в клеточных компартментах [11, 12]. В результате развития эксайтотоксичности увеличивается поступление  $Ca^{2+}$  в нейроны, одновременно происходит уменьшение митохондриального пула свободного  $Mg^{2+}$ , что может быть маркером инициирования каскада процесса апоптоза [2]. В нашем эксперименте во всех опытных группах и объектах исследования соотношение уровней Mg и Ca оставалось неожиданно стабильным, если не считать его некоторого увеличения (данные не приводятся) в цельной крови животных, получивших только D-пантенол.

**Заключение.** Масс-спектрометрическое исследование цельной и плазмы периферической крови крыс, подвергнутых острой ишемии головного мозга, обнаружило дисбаланс элементного состава крови, различный при исследовании цельной или плазмы крови. В первом случае повышение уровня Mg, Ca, Cr, Fe и Co сопровождалось снижением уровня Mn. Во втором случае наблюдалось сниже-

ние уровня Ca, Cr, Fe, Mn и Cu. Указанные сдвиги ослаблялись или нивелировались при расчете показателей на гемоглобина (цельная кровь) или г белка (плазма), что может быть связано с патофизиологической реакцией организма на соотношение объема циркулирующей крови и выброса клеточной массы [8, 11]. Предварительное введение D-пантенола или его комплекса с наноформами Fe+Se+Zn в значительной мере устранила изменения элементного состава кровообращения, вероятно, в связи с активацией защитной функцией металлопротеома и антиоксидантной протекцией.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках НИР «Витаминно-микроэлементный статус при метаболических нарушениях и его коррекция природными иммуномодуляторами, микроэлементами и производными витаминов» по заданию 4.1.5 подпрограммы «Экспериментальная медицина» государственной программы научных исследований «Трансляционная медицина» на 2021-2025 гг. (договор № 05/21/2021-29-203 от 06 мая 2021 г.).

#### Список использованных источников

1. Нечипуренко, Н. И. Роль макро- и микроэлементов в патогенезе ишемии головного мозга / Н. И. Нечипуренко, И. Д. Пашковская, Т. А. Прокопенко // Медицинские новости. – 2019. – №. 1. – С. 32–37.
2. Новикова, Л. Б. Роль микроэлементов при ишемическом инсульте / Л. Б. Новикова, О. А. Громова, Д. Б. Курамшина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2010. – Т. 5. – №. 4. – С. 156–160.
3. Окислительный стресс в интерактоме реактивных видов, интегрированных га-зотрансмиттерами, редокс-регуляцией, металлопротеинами при развитии хронической сердечной недостаточности / А. Г. Мойсеенок, Ж. В. Мотылевич, М. С. Дешко [и др.] // Кислород и свободные радикалы: сб. материалов республиканской научно-практ. конф. с международным участием, 16 мая 2024 г.; ред. В. В. Зинчук. – Гродно: ГрГМУ, 2024. – С. 86–89.
4. Моделирование редокс-дисбаланса и окислительного стресса в гиппокампе при алюминиевом нейротоксикозе и инициировании биосинтеза кофермента А / Н. П. Канунникова, Д. С. Семенович, И. Н. Катковская [и др.] // Доклады НАН Беларуси. – 2023. – Т. 67. – № 6. – С.481–489.
5. The effects of modulators of the coenzyme A biosynthesis system on metabolic stress and the glutathione system in the CNS in aluminum neurotoxicosis / D. S. Semenovich, V. A. Gurinovich, E. P. Lukienko [et al.] // Neurochem. J. – 2023. – Vol. 17. – P. 65–74.
6. Panthenol as neuroprotectant: study in a rat model of middle cerebral artery occlusion / M. V. Onufriev, M. Y. Stepanichev, N. V. Lazareva [et al.] // Neurochem. J. – 2010. – Vol. 4. – № 2. – P. 148–152.
7. Кудрин, А. В. Микроэлементы в иммунопатологии и онкологии / А. В. Кудрин, О. А. Громова // М.: ГЭОТАР-Мед., 2007. – 617 с.
8. Распределение химических элементов в цельной крови и плазме / Г. К. Барашков, Л. И. Зайцева, М. А. Кондахчан [и др.] // Биомедицинская химия. – 2003. – Т. 49. – №. 3. – С. 297–302.
9. Ишемический инсульт: обмен пуриновых соединений в спинномозговой жидкости / Ю. В. Тихонов, Р. Р. Биктимеров, Р. Т. Тогузов [и др.] // Вестник Российского государственного медицинского университета, 2009. – №. 1. – С. 40–43.
10. Кудрин, А. В. Микроэлементы в неврологии / А. В. Кудрин, О. А. Громова // М.: ГЭОТАР-Мед., 2006. – 303 с.
11. Райцес, В. С. Нейрофизиологические основы действия микроэлементов / В. С. Райцес // Л.: Медицина, 1981. – 152 с.
12. Ребров, В. Г. Витамины и микроэлементы / В. Г. Ребров, О. А. Громова // М.: Алев-Б., 2003. – 648 с.

#### References

1. Nechipurenko N.I., Pashkovskaja I.D., Prokopenko T.A. Rol makro- i mikroelementov v patogeneze ishemii golovnogo mozga [The role of macro- and microelements in the pathogenesis of cerebral ischemia]. *Medicinskie novosti* [Medical news]. 2019, no. 1, pp. 32-37. (Russian)
2. Novikova L.B., Gromova O.A., Kuramshina D.B. Rol mikroelementov pri ishemicheskem insul'te [The role of microelements in ischemic stroke]. *Medicinskij vestnik Bashkortostana* [Medical Bulletin of Bash-

- kortostan]. 2010, no. 5(4), pp. 156-160. (Russian)
3. Mojseenok A.G. et al. Okislitel'nyj stress v interaktome reaktivnyh vidov, integrirovannyh gazotransmitterami, redoks-reguliaciej, metalloproteinami pri razvitiu hronicheskoy serdechnoj nedostatochnosti [Oxidative stress in the interactome of reactive species integrated by gasotransmitters, redox regulation, and metalloproteins in the development of chronic heart failure]. *Kislород i svobodnye radikaly* [Oxygen and free radicals]. Grodno, GrGMU, 2024, pp. 86-89. (Russian)
4. Kanunnikova N.P. et al. Modelirovaniye redoks-disbalansa i okislitel'nogo stressa v gippokampe pri aljuminievom nejrotoksikoze i inicirovaniyu biosinteza kofermenta A [Modeling of redox imbalance and oxidative stress in the hippocampus during aluminum neurotoxicosis and initiation of coenzyme A biosynthesis]. *Doklady NAN Belarusi* [Reports of the NAS of Belarus]. 2023, no. 64(6), pp. 481-489. (Russian)
5. Semenovich DS et al. The Effects of Modulators of the Coenzyme A Biosynthesis System on Metabolic Stress and the Glutathione System in the CNS in Aluminum Neurotoxicosis. *Neurochem. J.* 2023;17:65-74.
6. Onufriev MV, Stepanichev MY, Lazareva NV et al. Panthenol as neuroprotectant: study in a rat model of middle cerebral artery occlusion. *Neurochem. J.* 2010;4:148-152. DOI: 10.1134/S181971241002011X
7. Kudrin A.V., Gromova O.A. *Mikroelementy v immunopatologii i onkologii* [Microelements in immunopathology and oncology]. Moscow, GJEOTAR-Med. 2007, 617 p. (Russian)
8. Barashkov GK et al. Raspredelenie himicheskikh jelementov v cel'noj krovi i plazme [Distribution of chemical elements in whole blood and plasma]. *Biomedicinskaja himija* [Biomedical chemistry]. 2003, no. 49(3), pp. 297-302. (Russian)
9. Tihonov JV et al. Ishemicheskij insul't: obmen purinovyh soedinenij v spinnomozgovoj zhidkosti [Ischemic stroke: metabolism of purine compounds in the cerebrospinal fluid]. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Bulletin of the Russian State Medical University]. 2009, no. 1, pp. 40-43. (Russian)
10. Kudrin AV, Gromova OA. *Mikroelementy v nevrologii* [Microelements in neurology]. Moscow, GJEOTAR-Med. 2006, 303 p. (Russian)
11. Rajces VS. *Nejrofiziologicheskie osnovy dejstviya mikroelementov* [Neurophysiological basis of the action of microelements]. L., Medicina. 1981, 152 p. (Russian)
12. Rebrov VG, Gromova OA. *Vitaminy i mikroelementy* [Vitamins and microelements]. Moscow, Alev-V. 2003, 648 p. (Russian)

Received 14.10.2025

**М.М. ВАБИЩЕВИЧ**

младший научный сотрудник сектора сохранения  
и восстановления растительных ресурсов<sup>1</sup>



**А.Н. МЯЛИК**, канд. бiol. наук, доцент,

заведующий сектором сохранения и восстановления растительных ресурсов<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск



Статья поступила 14.10. 2025 г.

## ДОПОЛНЕНИЯ К ФЛОРЕ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ ГОРОДА ПИНСКА

**Цель** – выявить и задокументировать новые для территории города Пинска виды аборигенных и чужеродных растений.

**Материалы и методы.** Флористических сведения, полученные с помощью рекогносцировочных, маршрутных и полустационарных методов.

**Результаты.** В статье приводятся дополнительные сведения о распространении в пределах городской черты Пинска 54 таксонов сосудистых растений. Установлены ранее не известные места произрастания аборигенных (*Aristolochia clematitis* L., *Cruciata glabra* (L.) Opiz, *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *Hypericum humifusum* L., *Trifolium fragiferum* L.) и чужеродных (*Inula helenium* L., *Lathyrus latifolius* L., *Allium ramosum* L., *Prunus tomentosa* Thunb., *Morus alba* L.) видов, показаны особенности их адаптации к антропогенно преобразованным условиям городской среды.

**Заключение.** Дополнены сведения о видовом составе, распространении, частоте встречаемости и условиях произрастания аборигенных и чужеродных видов, а также особенностях натурализации последних в условиях города Пинска.

**Ключевые слова:** урбanoфлора, аборигенные виды, чужеродные виды, натурализация видов, апофитизация флоры.

**VABISHCHEVICH M.M.**, Junior Researcher,  
Sector for the Conservation and Restoration of Plant Resources<sup>1</sup>

**MALIK A.M.**, PhD in Biol. Sc., Assistant Professor,  
Head of the Sector for the Conservation and Restoration of Plant Resources<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Central Botanical Garden National Academy of Sciences of Belarus, Minsk

## ADDITIONS TO THE FLORA OF VASCULAR PLANTS OF THE CITY OF PINSK

**Objective.** To identify and document new species of native and alien plants in the city of Pinsk.

**Materials and methods.** Floristic information obtained using reconnaissance, route and semi-stationary methods.

**Results.** The article provides additional information on the distribution of 54 taxa of vascular plants within the city limits of Pinsk. Previously unknown habitats of native (*Aristolochia clematitis* L., *Cruciata glabra* (L.) Opiz, *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *Hypericum humifusum* L., *Trifolium fragiferum* L.) and alien (*Inula helenium* L., *Lathyrus latifolius* L., *Allium ramosum* L., *Prunus tomentosa* Thunb., *Morus alba* L.) species have been identified, and the features of their adaptation to anthropogenically transformed conditions of the urban environment are shown.

**Conclusion.** Information on the species composition, distribution, frequency of occurrence and growing conditions of native and alien species, as well as the features of naturalization of the latter in the conditions of the city of Pinsk, has been supplemented.

**Keywords:** urban flora, native species, alien species, naturalization of species, apophytization of flora.

### Научная новизна статьи

В статье приводятся новые данные о произрастании в пределах городской черты Пинска 54 таксонов, редких для флоры Беларуси. Обнаружены новые места произрастания аборигенных (*Hypericum humifusum* L., *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray. и др.) и заносных (*Rubus hirtus* Waldst. & Kit., *Allium ramosum* L. и др.) видов, дополняющие сведения о составе флоры южной части страны.

### What this paper adds

The article presents new data on the growth of 54 taxa rare in the flora of Belarus within the city limits of Pinsk. New habitats of native (*Hypericum humifusum* L., *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray, etc.) and alien (*Rubus hirtus* Waldst. & Kit., *Allium ramosum* L., etc.) species have been discovered, supplementing the information on the flora of the southern part of the country.

**Введение.** Исследование урбanoфлор в настоящее время является актуальным направлением ботанической науки, поскольку урбанизация как процесс, обладающий тенденцией к непрерывному возрастанию во времени и пространстве, приводит к глубоким изменениям природной среды. Формирование городских флор представляет собой частный, но крайне наглядный пример современного изменения растительного покрова под влиянием антропогенных факторов. Преобразование рельефа, изменение микроклимата, нарушение гидрологического режима, а также почвенных условий в совокупности оказывают прямое влияние на течение флорогенеза. Иными словами, темпы современной урбанизации влекут за собой деградацию естественной флоры и растительных сообществ, формируя при этом качественно новую урбанизированную природно-антропогенную среду [0–0].

Для Республики Беларусь эта проблема имеет особое значение, поскольку доля городского населения превышает 78 % [0], что сопровождается ростом городов и, как след-

ствие, трансформацией природной среды в городских условиях. При этом, судя по крайне ограниченной представительности соответствующих публикаций белорусских ботаников, оценка состояния урбanoфлор проводится нерегулярно и, в большинстве случаев, имеет фрагментарный характер [0–0], оставаясь преимущественно второстепенным направлением. Наряду с этим существуют отдельные исследования, посвященные вопросам озеленения населенных пунктов [0, 0], анализу ассортимента декоративных растений и структуре цветников [0], однако эти работы, ориентированные на декоративно-дendрологические аспекты, не затрагивают флористические особенности урбанизированной среды.

В связи с вышесказанным нами была предпринята попытка восполнить локальные пробелы в знаниях о составе и структуре урбanoфлоры Республики Беларусь на примере одного из древнейших городов Белорусского Полесья – Пинска. Имея своеобразное географическое положение, более 900-летнюю историю развития, богатые транспортные,

экономические и культурные связи, на территории города существуют предпосылки формирования специфической флоры, которая по настоящее время остается слабо изученной.

Вышесказанным определяется актуальность и цель данной работы – выявить и зафиксировать новые для территории города Пинска виды аборигенных и чужеродных растений.

**Методика и объекты исследования.** В основу работы положены результаты собственных натурных исследований, выполненных на всей территории города Пинска в 2025 г. с использованием рекогносцировочных, маршрутных и полустационарных методов. Для выявления новых мест произрастания видов спонтанной фракции урбanoфлоры обследовались различные синантропные местообитания, земли транспортных коммуникаций (обочины автомобильных дорог, железнодорожные пути), мусоросвалки, пустыри, некрофации, лесопарки и другие экотопы. Документирование находок проводилось комплексно: гербарный материал собирался и обрабатывался по стандартной методике [0], дополнительно сведения о наблюдениях фиксировались в проекте «Flora of Pinsk» на интернет-платформе iNaturalist.org [0]. Идентификация собранных образцов проводилась с помощью определительных ключей [0–0]. Обработанные гербарные образцы пополнили фонды гербария Центрального ботанического сада НАН Беларуси (MSKH).

Латинские названия видов растений, сокращения авторов таксонов за небольшим исключением приведены согласно энциклопедическому интернет-проекту «World Flora Online» [0]. Для каждого выявленного таксона представлено его географическое происхождение, а для представителей чужеродной фракции дополнительно указывается способ заноса и степень натурализации [0] в условиях города Пинска. Характеристика выявленных местообитаний приводится с указанием условий произрастания растений, их численности, а также географических координат, авторов и даты находки. Дополнительно приводятся ссылки на акроним гербария, где хранится образец, и номер наблюдения (iNaturalist observation ID), предоставляющий доступ к точным географическим координа-

там и оригинальным фотографиям обнаруженных видов.

**Результаты и их обсуждение.** Ранее проведенный ретроспективный анализ урбanoфлоры Пинска показал наличие в пределах городской черты 703 видов сосудистых растений [0, 0], произрастание которых подтверждено указаниями в литературных источниках и гербарными материалами (LE, MSK, MSKH, MSKU, MW). Благодаря выполненным полевым исследованиям, направленным на детальное изучение флористического разнообразия, урбanoфлора Пинска была существенно дополнена и на сегодняшний день включает 1096 видов, относящихся к 521 роду и 108 семействам. Среди них 221 вид известен только как культивируемое растение.

Ниже приводится список аборигенных и чужеродных таксонов, зафиксированных непосредственно на территории города Пинска впервые, являющихся редкими для местной флоры.

#### Аборигенные виды

*Allium oleraceum* L. – европейско-малоазиатский вид.

– сорно-рудеральный участок, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302341284);

– сухой склон и опушка вдоль железнодорожных путей, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302318375).

*Aristolochia clematitis* L. – восточноевропейский вид.

– сорное в посадках живой изгороди, единично; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302674680).

*Armeria maritima* subsp. *elongata* (Hoffm.)

Bonnier – атлантическо-европейский вид.

– разнотравный склон и луговина у железнодорожных путей, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302303634);

– остеиненный пустырь, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (302667197);

*Campanula rotundifolia* L. – евразиатский вид.

– разнотравный склон железнодорожных путей, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302672161);

– разнотравная луговина вблизи грунтовой дороги, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (302666095).

*Carlina biebersteinii* Bernh. ex Hornem. – европейско-сибирский вид.

– древесно-кустарниковый массив вдоль заброшенной железнодорожной насыпи, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302671115).

*Chimaphila umbellata* (L.) W.P.C.Barton – циркумполярный вид.

– сосняк зеленомошный, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (272607600).

*Cruciata glabra* (L.) Opiz – европейско-сибирский вид.

– разнотравная луговина вблизи грунтовой дороги, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302666069).

*Dianthus borbasii* Vandas – евразиатский вид.

– придорожный пустырь, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н. (MSKH; 302317237);

– травяной газон, нередко; Вабищевич М.М., Кулинка Е.М. (MSKH; 319758039);

– разнотравный склон вдоль железнодорожных путей, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (302318409);

– опушка сухого сосняка, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (302679722).

*Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A.Gray – атлантическо-европейский вид.

– тенистый сосняк, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302355822).

*Eleocharis uniglumis* (Link) Schult. – циркумполярный вид.

– сырой придорожный кювет, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302133060).

*Epipactis helleborine* (L.) Crantz – евразиатский вид (список профилактической охраны Красной книги Республики Беларусь (рисунок 1).

– закустаренный высокий берег реки, единично; Вабищевич М.М. (MSKH; 294272656).

*Gagea lutea* (L.) Ker Gawl. – евразиатский вид.

– травяной газон среди захоронений, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272605969).

*Hypericum humifusum* L. – атлантическо-европейский вид.

– влажный песчаный участок у дороги, единично; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302330774).

*Jurinea cyanoides* (L.) Rchb. – восточноевропейский вид (список профилактической охраны Красной книги Республики Беларусь (рисунок 1).



Рисунок 1. – Охраняемые виды урбанизированной флоры Пинска: *Trapa natans* L., *Jurinea cyanoides* (L.) Rchb. и *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (слева направо)

– опушка сухого сосновка зеленомошного, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302679459);

– сухая оステненная луговина, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н. (MSKH; 302669914).

***Phleum phleoides* (L.) H.Karst.** – евросибирско-аралокаспийский вид.

– сухая разнотравная луговина вблизи песчаной дороги, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302321940);

– опушка сухого сосновка, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302679964).

***Plantago media* L.** – евросибирско-аралокаспийский вид.

– разнотравный луг вблизи железнодорожных путей, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302133530).

***Potentilla incana* P.Gaertn., B.Mey. & Scherb.** – центральноевропейский вид.

– опушка сухого сосновка, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302679669).

***Silene borysthenica* (Gruner) Walters** – евразиатский вид.

– разнотравная оステненная луговина вдоль железнодорожных путей, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (302673198);

– придорожный пустырь, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н. (MSKH; 302669792).

***Trapa natans* L.** – евразиатский вид (IV категория охраны Красной книги Республики Беларусь (рисунок 1).

– заводь реки, у берега, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302669081).

***Trifolium fragiferum* L.** – европейско-сибирско-аралокаспийский вид.

– разнотравная луговина у железнодорожных путей, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н. (MSKH; 302132929);

– травяной газон у тротуара, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (302681188).

– травяной склон берега реки, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н. (MSKH; 302669046).

### Чужеродные виды

***Acer tataricum* L.** – европейско-кавказско-малоазиатский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– древесно-кустарниковый массив вдоль заброшенной железнодорожной насыпи, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302317766).

– закустаренный пустырь, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (302677180).

***Alkekengi officinarum* Moench** – евразиатский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– заброшенный цветник, редко; Вабищевич М.М., Кулинка Е.М. (319749956).

***Allium ramosum* L.** – азиатский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– травяной газон у тротуара, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302150418).

***Arrhenatherum elatius* (L.) P.Beaup. ex J.Presl & C.Presl** – европейско-малоазиатско-североафриканский вид, эргазиофигофит, агриофит.

– разнотравная луговина вблизи железнодорожных путей, часто; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302132557).

***Asclepias syriaca* L.** – североамериканский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– обочина дороги у мест культивирования, редко; Вабищевич М.М., Кулинка Е.М. (MSKH; 319915387).

***Berberis aquifolium* Pursh** – североамериканский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– пойменные заросли кустарников, единично; Вабищевич М.М. (MSKH; 294262104).

***Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla** – европейско-малоазиатский вид, ксенофит, агриофит.

– укрепленный камнями склон берега реки, нередко; Вабищевич М.М. (MSKH; 294051945);

– прибрежная песчаная полоса, часто; Вабищевич М.М. (MSKH; 294254735).

***Bromus carinatus* Hook. & Arn.** – североамериканский вид, ксенофит, эпекофит.

– влажные травяные места, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302648702).

***Brunnera sibirica* Steven** – азиатский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– травяные газоны у мест прежнего культивирования, изредка; Вабищевич М.М., Кулинка Е.М. (302657080);

– среди кустарников, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302666582).

***Coreopsis lanceolata* L.** – североамериканский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– участок с нарушенным травяным покровом, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302336865);

– склон дорожной насыпи, редко; Вабищевич М.М., Кулинка Е.М. (319753660).

***Cuscuta epithymum* L.** – европейско-средиземноморский вид, ксенофит, эпекофит.

– разнотравный склон у железнодорожных путей, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302134004).

***Geranium sibiricum* L.** – европейский вид, ксенофит, эпекофит.

– тенистый травяной склон дорожной насыпи, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302654243);

– обочина луговой дороги, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (302295643).

***Inula helenium* L.** – евразиатский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– среди придорожных сорняков, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302141325).

***Lathyrus latifolius* L.** – европейский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– сорное в декоративных посадках, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302658758);

– сухая луговина вблизи дороги, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302666554).

***Ligustrum vulgare* L.** – европейско-кавказско-средиземноморский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– опушка соснового леса, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302680525).

***Lonicera tatarica* L.** – восточноевропейско-азиатский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– зарастающий откос железнодорожных путей, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302134068);

– защитная лесополоса, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (272607533).

***Lunaria annua* L.** – европейский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– опушка сухого сосновка, единично; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272607369).

***Lucium barbarum* L.** – восточноазиатский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– заросли кустарников, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302152489).

***Malus prunifolia* (Willd.) Borkh.** – восточноазиатский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– опушка сосновка, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272606541).

***Morus alba* L.** – восточноазиатский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– самосев у мест культивирования, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н. (302682723);

– закустаренный пустырь у дороги, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302659939).

***Muscari botryoides* (L.) Mill.** – европейский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– травяной газон среди захоронений, часто; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272605663).

***Myosotis sylvatica* Hoffm.** – европейско-кавказско-малоазиатский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– травяные места среди захоронений, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272403870).

***Nicandra physalodes* (L.) Gaertn.** – южноамериканский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– среди придорожных сорняков, изредка; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302657438).

***Phytolacca acinosa* Roxb.** – азиатский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– сорные места у дороги, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302659153).

***Portulaca grandiflora* Hook.** – южноамериканский вид, эргазиофигофит, эфемерофит.

– самосев у мест культивирования, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302656159).

*Primula × polyantha* Mill. – культигенный гибрид, эргазиофигофит, колонофит.

– травяной газон у мест культивирования, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272606125).

*Prunus tomentosa* Thunb. – восточноазиатский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– защитная лесополоса, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272607668).

*Rosa villosa* L. – европейский вид, эргазиофигофит, эпекофит.

– опушка сухого сосновка, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302680143).

*Rubus hirtus* Waldst. & Kit. – европейско-кавказско-малоазиатский вид, ксенофит, агиофит.

– под пологом сосновка, часто; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272409620).

*Scilla siberica* Andrews – восточноевропейско-кавказско-малоазиатский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– травяной газон у мест прежнего культивирования, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272605684).

*Thladiantha dubia* Bunge – восточноазиатский вид, эргазиофигофит, колонофит.

– придорожные сорные места, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302658927).

*Tradescantia × cultorum* D.Dubovik – культигенный гибрид, эргазиофигофит, колонофит.

– месоросвалка, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302340409).

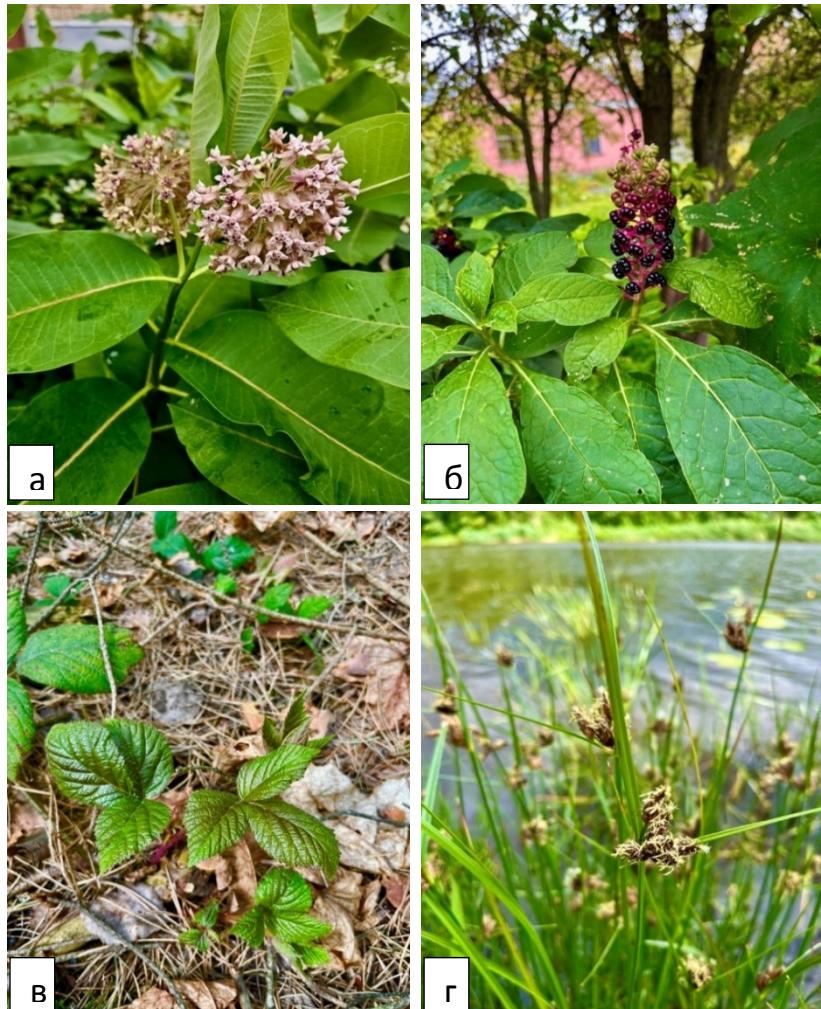


Рисунок 2. – Новые чужеродные виды для города Пинска: а) *Asclepias syriaca* L.; б) *Phytolacca acinosa* Roxb., в) *Rubus hirtus* Waldst. & Kit.; г) *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla.

*Vitis labrusca* L. – североамериканский вид, эргазиофифит, колонофит.

– придорожный пустырь, редко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302659918);

– заброшенные посадки, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 272606267).

*Vitis riparia* Michx. – североамериканский вид, эргазиофифит, колонофит.

– заброшенные посадки, нередко; Вабищевич М.М., Мялик А.Н., Кулинка Е.М. (MSKH; 302659357).

В результате выполненных исследований для урбинофлоры города Пинска получены новые сведения о распространении 54 таксонов различного генезиса, значительная часть которых приурочена к полуестественным фитоценозам. Установлено стабильное существование в синантропных местах таких довольно редких для флоры Беларуси аборигенных видов как *Campanula rotundifolia* L., *Jurinea cyanoides* (L.) Rchb., *Dianthus barbasi* Vandas, *Armeria maritima* subsp. *elongata* (Hoffm.) Bonnier, *Allium oleraceum* L. и некоторых других. Подтверждено естественное произрастание в пределах города Пинска редкого охраняемого вида *Trapa natans* L., последний раз задокументированное И.К. Пачоским в 1897 г. [0].

Выявлен единственный представитель семейства *Orchidaceae* в составе урбинофлоры – *Epipactis helleborine* (L.) Crantz. Обнаружены новые места произрастания редких для флоры Беларуси аборигенных видов *Hypericum humifusum* L. и *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A.Gray.

Особый интерес также представляют заносные таксоны (рисунок 2), успешно натурализовавшиеся в городских условиях. Существенная часть эпекофитов и агриофитов зафиксирована в различных сорнорудеральных и естественных местообитаниях. Эти виды (*Bromus carinatus* Hook. & Arn., *Inula helenium* L., *Ligustrum vulgare* L., *Rubus hirtus* Waldst. & Kit., *Geranium sibiricum* L., *Lonicera tatarica* L. и др.) характеризуются высокой устойчивостью и инвазионным потенциалом.

**Заключение.** Результаты выполненных исследований дополняют сведения о видовом составе флоры города Пинска, а также рас-

ширяют представления об особенностях натурализации некоторых чужеродных видов (*Lathyrus latifolius* L., *Phytolacca acinosa* Roxb., *Brunnera sibirica* Steven) и апофитизации аборигенных представителей флоры (*Armeria maritima* subsp. *elongata* (Hoffm.) Bonnier, *Aristolochia clematitis* L. *Silene borys-thenica* (Gruner) Walters, *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A.Gray) в условиях южной части Беларуси.

#### Список использованных источников

1. Урбинофлористика в России: современное состояние и перспективы / А. С. Третьякова, О. Г. Баранова, С. А. Сенатор [и др.] // *Turczaninowia*. – 2021. – Т. 24. – № 1. – С. 125–144.
2. Антипова, С. В. Урбинофлора города Красноярска (сосудистые растения) / С. В. Антипова, Е. М. Антипова. – 2-е издание, исправленное и дополненное. – Красноярск : Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева, 2016. – 372 с.
3. Статистический бюллетень «Численность населения на 1 января 2024 г. и среднегодовая численность населения за 2023 год по Республике Беларусь в разрезе областей, районов, городов, поселков городского типа» [сайт] / Нац. статистический комитет Респ. Беларусь. – URL: <https://www.belstat.gov.by/upload/iblock/21/0/чай9375ey0b160xtxqm0bmkycb45i04g.pdf>. (дата обращения: 12.11.2025).
4. Басалай, Е. Н. Вклад городских очистных сооружений в синантропизацию флоры и распространение инвазионных видов / Е. Н. Басалай, А. Н. Мялик // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия флоры : материалы международной научной конференции, посвященной 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. В 2-х частях, Минск, 28 июня – 01 2022 года / Редколлегия: В.В. Титок [и др.]. Том Часть 1. – Минск : Белтаможсервис, 2022. – С. 48–50.
5. Жудрик, Е. В. Видовая структура древесных насаждений сквера И. Пулихова г. Минска / Е. В. Жудрик, А.А. Деревинская // Веснік Віцебскага дзяржаўнага

- універсітета. – 2016. – № 1 (90). – С. 79–85.
6. Валетов, В. В. Видовой состав древесно-кустарниковой флоры рекреационных территорий города Мозыря / В. В. Валетов, А. М. Уласик // Вестник Мозырского государственного педагогического университета им. И.П. Шамякина. – 2013. – № 2 (39). – С. 3–12.
7. Шутова, А. Г. Возможности использования высокодекоративных видов автохтонной флоры Беларуси в современном озеленении городской среды / А. Г. Шутова, Е. А. Спиридович, А. В. Башилов // Материалы III международной научной конференции "Етноботанічні традиції в агрономії, фармації та садовому дизайні", г. Умань, 6–9 июля 2020 г. / Национальный дендрологический парк "Софіївка" НАН Украины ; редкол.: И. С. Косенко [и др.]. – Умань, 2020. – С. 322–326.
8. Лунина, Н. М. Цветники белорусских городов / Н. М. Лунина, Ю. И. Рыженкова // Ботанические сады в современном мире. Том выпуск 3. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет "ЛЭТИ" им. В.И. Ульянова (Ленина), 2023. – С. 119–122.
9. Свитковская, О. И. Перспективы использования мелколуковичных растений в озеленении городов и населенных пунктов Беларуси / О. И. Свитковская // Состояние и перспективы развития зеленого строительства в Республике Беларусь : тезисы Республиканского научно-практического семинара, Минск, Беларусь, 26–27 апреля 2018 года / Редколлегия: В.В. Титок [и др.]. – Минск, Беларусь: Медисонт, 2018. – С. 171–174.
10. Гербарное дело: справ. рук. / под ред. Д. Бридсон [и др.]. – Кью : Королев. бот. сад, 1995. – 341 с.
11. Flora of Pinsk / A Community for Naturalists. – URL: <https://www.inaturalist.org/projects/flora-of-pinsk>. – Date of access : 11.11.2025.
12. Маевский, П. Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. / П. Ф. Маевский ; редкол.: В. С. Новиков [и др.]. – М. : Тов-во научн. изд. КМК, 2014. – 635 с.
13. Определитель высших растений Украины / Н. Д. Доброхнова [и др.]. – Киев : Наук. думка, 1987. – 548 с.
14. Exkursionsflora für die Gebiete der DDR und der BRD : in. 4 Bd. / begründet von W. Rothmaler. – Berlin : Volk und Wissen, 1985–1988. – Bd. 3. Atlas der Gefäßpflanzen. – 1988. – 751 s.
15. World Flora Online. An Online Flora of All Known Plants. – URL: <https://www.worldfloraonline.org>. – Date of access : 11.11.2025.
16. Основные термины и понятия, используемые при изучении чужеродной и синантропной флоры / О. Г. Баранова, А. В. Щербаков, С. А. Сенатор [и др.] // Фиторазнообразие Восточной Европы. – 2018. – Т. 12, № 4. – С. 4–22.
17. Вабищевич, М. М. Ретроспективный анализ истории изучения флоры города Пинска / М. М. Вабищевич // Проблемы оценки, мониторинга и сохранения биоразнообразия [Электронный ресурс] : электрон. сб. материалов V Респ. науч.-практ. эколого-конф., Брест, 23 ноября 2023 г. / Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина ; редкол.: Н.М. Матусевич [и др.]. – Брест : БГУ, 2023. – 116–119 с.
18. Вабищевич, М. М. Оценка видового разнообразия урбинофлоры города Пинска и ее таксономический анализ / М. М. Вабищевич // Природнае асяроддзе Палесся і навукова-практычныя аспекты рацыянальнага рэсурсакарыстання : зборнік навуковых прац XII Міжнароднай навуковай канферэнцыі, 8–10 кастрычніка 2025 г., Брэст, Рэспубліка Беларусь / Нацыянальная акадэмія навук Беларусі ; Палескі аграрна-экалагічны інстытут ; рэдкал. М. В. Міхальчук (гал. рэд.) [і інш.]. – Брэст : Альтернатива, 2025. – 242–245 с.
19. Пачоскій, І. К. Флора Пол'сья и прилежащих мѣстностей. Часть I. / І. К. Пачоскій // Труды Императорского Санкт-Петербургского общества естествоиспытателей. Отдѣніе ботаники. – 1897. – Т. 27, Вып. 2. – С. 1–260.

#### References

1. Tret'yakova A.S., Baranova O.G., Senator S.A., Panasenko N.N., Sutkin A.V., Alikhadtchiyev, M.KH. *Urbanofloristika v Rossii: sovremennoye sostoyaniye i perspektivy* [Ur-

- ban Floristics in Russia: Current Status and Prospects]. *Turczaninowia*. 2021, Vol. 24, no 1, pp. 125–144. (In Russian)
2. *Urbanoflora goroda Krasnoyarska (sosudistyye rasteniya. 2-ye izdaniye, ispravленnoye i dopolnennoye)* [Urban flora of Krasnoyarsk (vascular plants). 2th edition, revised and supplemented]. Ed. S.V. Antipova E.M. Antipova. Krasnoyarsk, Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V.P. Astafyev, 2016, 372 p. (In Russian)
3. *Statisticheskiy byulleten' «Chislennost' naseleeniya na 1 yanvarya 2024 g. i srednegodovaya chislennost' naseleeniya za 2023 god po Respublike Belarus' v razreze oblastey, rayonov, gorodov, poselkov gorodskogo tipa»* [Statistical Bulletin "Population as of January 1, 2024 and Average Annual Population for 2023 in the Republic of Belarus by Region, District, City, and Urban-Type Settlement"]. Natsional'nyy statisticheskiy komitet Respubliki Belarus' [National Statistical Committee of the Republic of Belarus]. Available at: <https://www.belstat.gov.by/upload/iblock/21/0/ua9375ey0b160xtxqm0bmkycb45i04g.pdf>. (accessed: 12.11.2025)
4. Basalay Ye. N., Myalik A. M. *Vklad gorodskikh ochistnykh sooruzheniy v sinantropizatsiyu flory i rasprostraneniye invazionnykh vidov* [The contribution of urban wastewater treatment plants to the synanthropization of flora and the spread of invasive species]. *Introduktsiya, sokhraneniye i ispol'zovaniye biologicheskogo raznoobraziya flory* [Proceedings of the international scientific conference. In 2 parts]. Minsk, 2022, Vol. 1, pp. 48–50. (In Russian)
5. Zhudrik Ye. V., Derevinskaya A. A. *Vidovaya struktura drevesnykh nasazheniy skvera I. Pulikhova g. Minska* [Species structure of tree plantings of I. Pulikhov square in Minsk]. *Vesnik Vitsebskaga dzyarzhaŭnaga universiteta* [Bulletin of Vitebsk State University]. 2016, no 1 (90), pp. 79–85. (In Russian)
6. Valetov V. V., Ulasik A. M. *Vidovoy sostav drevesno-kustarnikovoy flory rekreatsionnykh territoriy goroda Mozyrya* [Species composition of tree and shrub flora of recreational areas of the city of Mozyr]. *Vestnik Mozyrskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta im. I.P. Shamyakin* [Bulletin of the Mozyr State Pedagogical University named after I. P. Shamyakin]. 2013, no 2 (39), pp. 3–12. (In Russian)
7. Shutova A. G., Spiridovich Ye. A. Bashilov A. V. *Vozmozhnosti ispol'zovaniya vysokodekora-tivnykh vidov avtokhtonnoy flory Belarusi v sovremennom ozelenenii gorodskoy sredy* [Possibilities of using highly decorative species of autochthonous flora of Belarus in modern landscaping of the urban environment]. *Etnobotanichni traditsii v agronomii, farmatsii ta sadovomu dizayni* [Ethnobotanical traditions in agronomy, pharmacy and garden design]. Uman, 2020, pp. 322–326. (In Russian)
8. Lunina N. M., Ryzhenkova YU. I. Tsvetniki belorusskikh gorodov [Flower gardens of Belarusian cities]. *Botanicheskiye sady v sovremennom mire*. [Botanical gardens in the modern world]. Sankt-Peterburg, 2023, Vol 3, pp 119–122. (In Russian)
9. Svitkovskaya O. I. *Perspektivyy ispol'zovaniya melkoluko-vichnykh rasteniy v ozelenenii gorodov i naseleennykh punktov Belarusi* [Prospects for the use of small-bulbous plants in landscaping cities and towns in Belarus]. *Sostoyaniye i perspektivyy razvitiya zelenogo stroitel'stva v Respublike Belarus'* : tezisy Respublikanskogo nauchno-prakticheskogo seminara [State and prospects for the development of green building in the Republic of Belarus: abstracts of the Republican scientific and practical seminar]. Minsk, 2018, pp. 171–174 (In Russian)
10. *Gerbarnoye delo: spravochnoye rukovodstvo* [Herbarium: a reference guide]. Ed. D. Bridson. K'y, Royal Botanic Gardens, 1995, 341 p. (In Russian)
11. Flora of Pinsk. A Community for Naturalists. Available at: <https://www.inaturalist.org/projects/flora-of-pinsk>. (accessed: 11.11.2025)
12. *Flora sredney polosy yevropeyskoy chasti Rossii. 11-ye izdaniye* [Flora of the middle zone of the European part of Russia. 11th edition]. Ed. V.S. Novikov. Moskow, Tovarishchestvo naunykh izdaniy, 2014, 635 p. (In Russian)
13. *Opredelitel' vysshikh rasteniy Ukrayiny* [Keys to higher plants of Ukraine]. Ed. Y.N. Prokudin. Kiev, Naukova dumka, 1987, 471 p. (In Russian)

14. *Exkursionsflora für die Gebiete der DDR und der BRD*, in. 4 Bd., Bd. 3 [Excursion flora for the areas of the GDR and the FRG, in 4 Vol., Vol.3]. Ed.W. Rothmaler. Berlin, Volk und Wissen, 1988. 751 p. (In Germany)
15. World Flora Online. An Online Flora of All Known Plants Available at: <https://www.worldfloraonline.org> (accessed: 11.11.2025)
16. Baranova O.G., Shcherbakov A.V., Senator S.A., Panasenko N.N., Sagalayev V.A., Sakszonov, S.V. *Osnovnyye terminy i ponyatiya, ispol'zuyemyye pri izuchenii chuzherodnoi i sinantropnoi flory* [Basic terms and concepts used in the study of alien and synanthropic flora]. *Fitoraznoobraziye Vostochnoy Evropy* [Phytodiversity of Eastern Europe]. 2018, Vol. 12, no 4, pp. 4–22. (In Russian)
17. Vabishchevich M. M *Retrospektivnyy analiz istorii izucheniya flory goroda Pinska* [A retrospective analysis of the history of studying the flora of the city of Pinsk]. *Problemy otsenki, monitoringa i sokhraneniya bioraznoobraziya* [Problems of assessment, monitoring and conservation of biodiversity]. Brest, 2023. pp. 116–119. (In Russian)
18. Vabishchevich M. M *Otsenka vidovogo raznoobraziya urbanoflory goroda Pinska i yeye taksonomicheskiy analiz* [Assessment of species diversity of urban flora of the city of Pinsk and its taxonomic analysis]. *Pryrodnoje asiaroddzie Paliessia i navukovopraktychnya aspeкty racyjanańaha resurs-sakarystannia* [The natural environment of Polesie and scientific and practical aspects of rational resource use]. Brest, 2025. pp. 242–245. (In Russian)
19. Pačoskij I. K. *Flora Poles'ya i prilezhashchikh mestnostey. Chast' I.* [Flora of Polesia and adjacent areas. Part I]. *Trudy Imperatorskogo Sankt-Peterburgskogo obshchestva yestestvoispytateley. Otdeleniye botaniki.* [Transactions of the Imperial St. Petersburg Society of Naturalists. Department of Botany]. 1897, Vol.27, iss.2, pp.1–260. (In Russian)

Received 14.10.2025

**В.Т. ЧЕЩЕВІК**, канд. біол. наук, доцент,  
доцент кафедры биохимии и биоинформатики<sup>1</sup>

**Н.Г. ЧЕЩЕВІК**  
ассистент кафедры биохимии и биоинформатики<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Полесский государственный университет,  
г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 15.10.2025 г.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ УБИХИНОЛ-ЦИТОХРОМ С-ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ТРОМБОЦИТОВ В МИКРОПРОБАХ

Спектрофотометрический метод определения активности убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы (комплекс 3) митохондрий является одним из наиболее широко применяемых подходов. При измерении активности комплекса 3 тромбоцитов наиболее целесообразно проводить в микрообъемах (100 мкл) вследствие доступности небольшого количества тромбоцитов в результате забора крови. Наиболее подходящим способом извлечения ферментативной активности комплекса 3 митохондрий тромбоцитов является однократное замораживание/оттаивание супензии тромбоцитов. Оптимальными параметрами измерения активности комплекса 3 митохондрий тромбоцитов являются температура 25<sup>0</sup>С, количество белка в пробе – 80 мкг, концентрации антимицина А – 90 мкМ, додецилубихинола – 100 мкМ, цитохрома С – 75 мкМ, которые обеспечивают стабильную скорость ферментативной реакции комплекса 3 в течение 20 мин в микрообъемах. Нормализация активности комплекса 3 по отношению к активности цитратсинтазы тромбоцитов возможна только с учетом факторов, потенциально оказывающих влияние на активность цитратсинтазы.

**Ключевые слова:** тромбоциты, митохондрии, убихинол-цитохром с-оксидоредуктаза, комплекс 3, цитратсинтаза, цитохром bc1 комплекс, электрон-транспортная цепь.

**CHESHCHEVIK V.T.**, PhD in Biol. Sc., Associate Professor,  
Associate Professor of the Department of Biochemistry and Bioinformatics<sup>1</sup>

**CHESHCHEVIK N.G.**, Assistant Lecturer of the Department of Biochemistry and Bioinformatics<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

## DETERMINATION OF THE ACTIVITY OF MITOCHONDRIAL UBIQUINOL-CYTOCHROME C OXIDOREDUCTASE OF PLATELETS IN MI- CROSAMPLES

*The spectrophotometric method for determining the activity of ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase (complex III) in mitochondria is one of the most widely used approaches. When measuring the activity of complex III in platelets, it is most practical to perform the measurements in microvolumes (100 µl) due to the limited availability of platelets from blood collection. The most suitable method for extracting the enzymatic activity of platelet mitochondrial complex III is a single freeze/thaw cycle of the platelet suspension. The optimal parameters for measuring the activity of platelet mitochondrial complex III are a temperature of 25<sup>0</sup>C, a protein amount in the sample of 80 µg, and concentrations of antimycin A at 90 µM, dodecylubiquinol at 100 µM, and cytochrome c at 75 µM, which ensure a stable enzyme reaction rate of*

*complex III for 20 minutes in microvolumes. Normalization of complex III activity relative to platelet citrate synthase activity is only possible taking into account potential factors.*

**Keywords:** platelets, mitochondria, ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase, complex III, citrate synthase, cytochrome bc1 complex, electron transport chain.

**Введение.** Убихинол-цитохром с-оксидоредуктаза, или комплекс 3 электрон-транспортной цепи митохондрий, который присутствует у всех аэробных эукариот и многих бактерий, является одним из ключевых эволюционно фундаментальных компонентов аэробной биоэнергетики и обеспечивает перенос электронов с кофермента Q (убихинол) на цитохром C, сопряженный с одновременным транспортом протонов из матрикса митохондрий в межмембранные пространство, что приводит к генерации протонного градиента на внутренней митохондриальной мембране. При переносе каждого из 2-ух электронов через молекулы комплекса 3 от убихинола к цитохрому C происходит поглощение 2-ух протонов из матрикса митохондрий и высвобождение 4-х протонов в межмембранные пространство в результате функционирования Q-цикла. В результате функционирования комплекса 3 и генерации протонного градиента происходит сопряжение процессов окисления и фосфорилирования, обеспечивая тем самым восполнение энергетических затрат клетки [1].

Помимо энергетической функции комплекс 3 дыхательной цепи митохондрий является одним из основных источников генерации активных форм кислорода, в частности, супероксиданион радикала, т.к. часть электронов может поступать на кислород непосредственного с третьего комплекса дыхательной цепи, минуя цитохром-с-оксидазу (комплекс 4) [2]. Генерация активных форм кислорода на 3-ем комплексе является одной из форм клеточной сигнализации и регуляции клеточных процессов в норме. В то же время различные нарушения дыхательной цепи от использования специфических ингибиторов 3-го комплекса дыхательной цепи до развития патологических состояний сопровождаются усилением генерации супероксиданион радикалов данным мультиферментным комплексом, что приводит к различным окислительным повреждениям митохондриальных и клеточных структур [2]. В частно-

сти, хорошо известна роль данного ферментативного комплекса в регуляции активации митохондриального пути апоптоза и развития митохондриальных миопатий вследствие мутаций в белковых субъединицах, митохондриально-ассоциированных заболеваний [3].

Исследование активности убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы является важным этапом при анализе биоэнергетики митохондрий и различных типов клеток в норме и установлении механизмов нарушений митохондриальной активности при различных патологических состояниях, в том числе митохондриально-ассоциированных заболеваниях [4]. Необходимость исследования активности комплекса 3 митохондрий тромбоцитов обусловлена непосредственным участием митохондрий в реализации коагуляционной функции тромбоцитов с одной стороны, а также в диагностике патологических состояний при использовании тромбоцитов как легко доступных клеточных маркеров нарушений биоэнергетики клеток органов и тканей с другой стороны [5, 6].

В настоящее время общепринятым методом оценки активности комплекса 3 дыхательной цепи митохондрий является кинетическое спектральное определение восстановления цитохрома С за счет переноса электронов с восстановленной формы додецилубихинона в результате функционирования данного мультиферментативного комплекса [7]. Двумя основными подходами являются определение активности комплекса в объемах с диапазоном от 1 до нескольких миллилитров и в объемах микролитрового диапазона с применением микропланшетных спектрофотометров [8, 9]. Несмотря на то, что оба метода представляются как универсальные вне зависимости от типа используемых клеток, имеющие свои преимущества и недостатки, при исследовании активности комплекса 3 дыхательной цепи в тромбоцитах необходимо учитывать их специфические особенности. В частности, способность тромбоцитов при воздействии различных

факторов (механических, физических, химических) вследствие активации образовывать агрегаты [10], что имеет важное значение для стандартизации и обеспечения воспроизведимости метода определения и наличие небольшого количества митохондрий (3-6 штук на клетку) по сравнению с обычными соматическими клетками (от нескольких сотен до нескольких тысяч митохондрий на клетку) [11], что необходимо учитывать при выборе оптимального количества биологического материала, а также следует принимать во внимание возможность получения лишь небольшого количества крови от одного пациента, из которой в дальнейшем выделяется плазма и в дальнейшем супензии тромбоцитов, что накладывает свои ограничения на количество доступного биологического материала на исследование активности 3-го комплекса дыхательной цепи митохондрий.

В связи с этим целью данной работы явилась оптимизация спектрофотометрического метода определения активности митохондриальной убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы (комплекса 3) тромбоцитов.

**Материалы и методы.** Для исследования осуществляли забор крови натощак у практически здоровых доноров с помощью вакуумных пробирок объемом 9 мл с использованием в качестве антикоагулянта К<sub>2</sub>-ЭДТА, который по сравнению с общепринятым цитратом натрия обеспечивает большую устойчивость тромбоцитарной массы к последующим манипуляциям. Кровь центрифугировали при 200g в течение 15 мин для получения плазмы, содержащей тромбоциты. Для осаждения тромбоцитов плазму переносили в полипропиленовые пробирки и центрифугировали при 2000g в течение 15 мин. Супернатант, безтромбоцитарную плазму, удаляли, а полученный осадок тромбоцитов путем осторожного пипетирования ресуспензировали в бестромбоцитарной плазме до достижения концентрация белка ~50 мг/мл. Концентрацию белка в пробах тромбоцитов определяли методом Брэдфорда [12].

Активность митохондриальной убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы определяли спектрофотометрическим методом по восстановлению цитохрома С с использованием в качестве донора электрона додецилубихинола [9]. Восстановленный додецилубихинол получали в соответствии с методом [13] Ре-

акционная смесь включала 25 мМ калий-фосфатный буфер, 7,5, 6 мМ NaN<sub>3</sub> (блокирование активности комплекса 4), 100 мкМ Na<sub>2</sub>-ЭДТА, 0,025% Твин-20, цитохром С, образец. В контрольные пробы дополнительно добавляли 1 мкл спиртового раствора антимицина А для блокировки активности комплекса 3 с целью определения скорости неэнзиматического восстановления цитохрома С. В опытные пробы добавляли 1 мкл этанола, соответственно. Реакцию инициировали добавлением 1 мкл раствора додецилубихинола. Общий объем опытной и контрольной пробы составлял 100 мкл. Измерения оптической плотности осуществляли на длине волны 550 нм с интервалом 20 с в течение 20 мин. В результате измерения для каждого образца тромбоцитов получали 2 кинетические кривые в присутствии (контрольная проба) и отсутствие (опытная проба) антимицина А. Для каждой из кинетической кривой строили уравнение линейной регрессии и определяли угол наклона кривой, отражающий скорость изменения оптической плотности. Разницу между углами наклона кинетических кривых опытной и контрольной проб использовали для расчета активности комплекса 3 в соответствии с методом [7, 9].

Дополнительно также осуществляли измерение активности фермента цикла Кребса цитратсингтазы, активность которого применяется для стандартизации активности митохондриальной убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы. Активность цитратсингтазы определяли спектрофотометрически [8, 9, 13]. Реакционная смесь включала 20 мМ Трис-буфер, pH 7.6 с 0,2% Тритон X-100, 100 мкМ дитиобис(2-нитробензойная кислота) (DTNB, реактив Эллмана), 300 мкМ ацетил-КоА, образец (количество соответствует таковому в случае комплекса 3). Реакцию инициировали добавлением 5 мкл оксалоацетата (финальная концентрация 500 мкМ). Общий объем пробы составлял 100 мкл. Измерения оптической плотности осуществляли на длине волны 412 нм с интервалом 20 с в течение 20 мин. В результате измерения для каждого образца тромбоцитов получали кинетическую кривую, для которой строили уравнение линейной регрессии и определяли угол наклона кривой, отражающий скорость изменения оптической плотности. Для расче-

та активности цитратсингазы осуществляли в соответствии с методом [9]

С целью осуществления сравнения образцов тромбоцитов осуществляли стандартизацию активности митохондриальной убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы по уровню активности цитратсингазы. Количество измерений для каждой пробы составляло не менее трех. Построение кинетических кривых и уравнение линейной регрессии осуществляли в GraphPad Prism 8.0. Статистическую обработку и визуализацию данных осуществляли в RKWard 0.8.2 [14].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Типичные кинетические кривые и построенные уравнения линейные регрессии для активности митохондриальной убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы (опытной и контрольной проб) и цитратсингазы представлены на рисунке 1.

Как видно в случае с активностью комплекса 3 необходимость измерения контрольной пробы обусловлено наличием неэнзиматического восстановления цитохрома С (угол наклона имеет ненулевое значение) (рисунок 1 А). Введение антимицина А позволяет таким образом учитывать эффект химической (неэнзиматической) редукции цитохрома С при определении активности убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы тромбоцитов.

Для разрушения клеток и извлечения ферментов существует ряд подходов: механическое разрушение путем гомогенизации, осуществление циклов замораживания/оттаивания, использование мембранных

детергентов. В нашем исследовании гомогенизацию не применяли, т.к. каждый образец тромбоцитов содержал небольшое количество биологического материала. При использовании замораживания/оттаивания может также наблюдаться потеря ферментативной активности, поэтому в наших экспериментах мы использовали 1x, 2x и 3x циклы замораживания/оттаивания с целью тестирования эффектов данного подхода разрушения клеток на активность убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы и цитратсингазы. Кроме того, для извлечения и определения активности данных ферментов мы использовали также экстракционный буфер, в состав которого входит 1,5% додецилмальтозид (мембранный детергент), для приготовления образцов тромбоцитов, т.к. в ряде работ на других типах клеток была показана эффективность данного метода [13]. Как видно из рисунка 2, увеличение количества циклов замораживания/оттаивания приводит к снижению скорости ферментативной реакции комплекса 3 и, наоборот, возрастанию скорости работы фермента цитратсингазы. В то же время скорость комплекса 3 в пересчете на скорость цитратсингазы существенно снижается при увеличении количества циклов замораживания/оттаиваний тромбоцитов (рисунок 2 В.1).

Использование экстракционного буфера с содержанием 1,5% додецилмальтозида также приводит к частичному снижению скорости работы фермента убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы (комплекса 3) и в большей степени активности цитратсингазы (рисунок 2 А.2, Б.2).

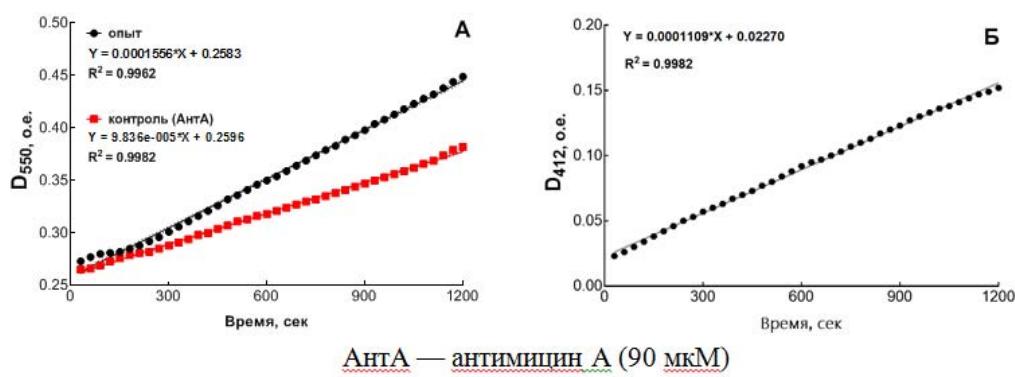


Рисунок 1. – Скорость ферментативной реакции убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы (комплекса III) (А) и цитратсингазы (Б) митохондрий тромбоцитов человека

При этом пересчет скорости ферментативной реакции комплекса 3 на скорость цитратсингтазы приводит к «кажущемуся» росту активности комплекса 3 (рисунок 2 В.2), что обусловлено именно существенным снижением активности цитратсингтазы при действии 1,5% додецилмальтозида в составе экстракционного буфера.

Дополнительно при обоих методах получения ферментативной активности в качестве последующего этапа мы применили центрифугирование при 600g в течение 10 мин с целью получения более очищенного супернатанта с ферментативной активностью. Измерение в супернатанте активности комплекса 3 и цитратсингтазы не выявило изменений оптической плотности реакционных смесей данных ферментов во времени (данные не представлены).

Еще одним из немаловажных факторов, обеспечивающих надежность определения их активности, – это оптимальное количество

белка для измерения активности ферментов. Нами была измерена скорость ферментативной реакции для следующего количества белка в пробе: 10, 20, 40, 80, 160 мкг (рисунок 3). Показано возрастание скорости ферментативной реакции как комплекса 3, так и цитратсингтазы с ростом количества белка, что подтверждает достаточность используемых концентраций субстратов в реакционной смеси. При этом при расчете на активность цитратсингтазы мы получили сопоставимые значения активности комплекса 3 (рисунок 3 В).

В литературе для измерения активности данных ферментов используют температуры проведения реакции 25°C, 30°C, 37°C [8, 9, 13]. При проведении ферментативных реакций при данных температурах мы также наблюдали возрастание активности комплекса 3 и цитратсингтазы, за исключением температуры проведения реакции 37°C (рисунок 4).

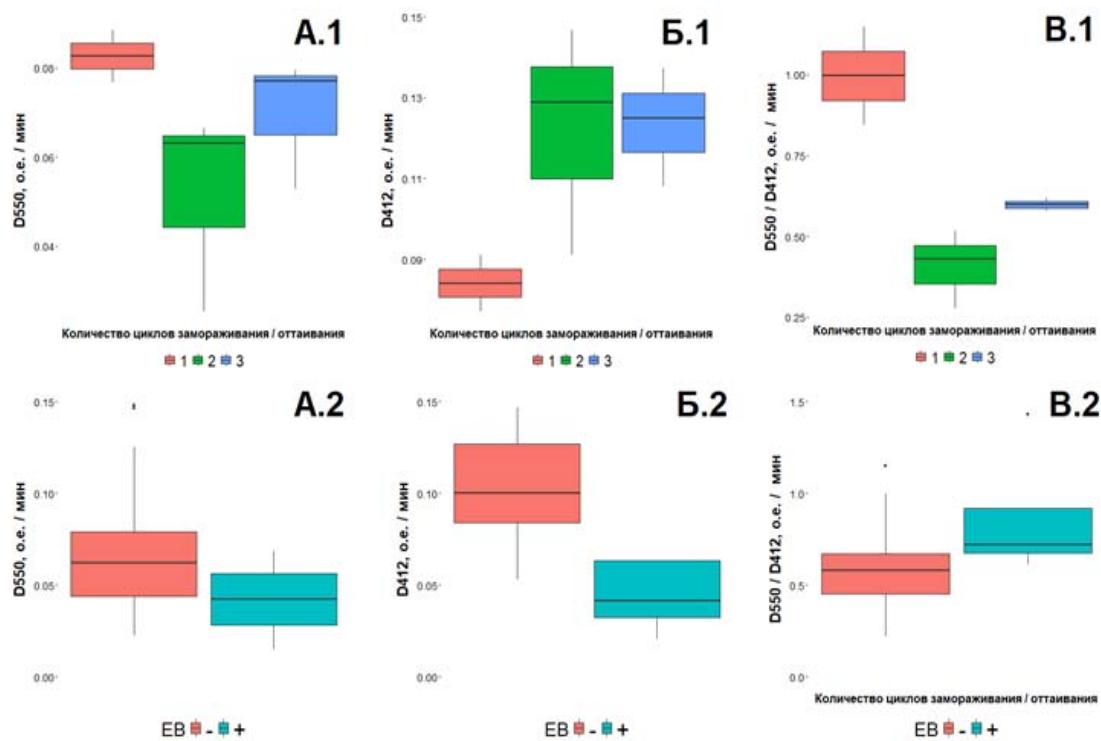


Рисунок 2. – Скорость ферментативной реакции комплекса III (А), цитратсингтазы (Б) и соотношение скоростей ферментов (В) митохондрий тромбоцитов человека при замораживании/оттаивании (1) и 1,5% додецилмальтозиде (EB) (2)

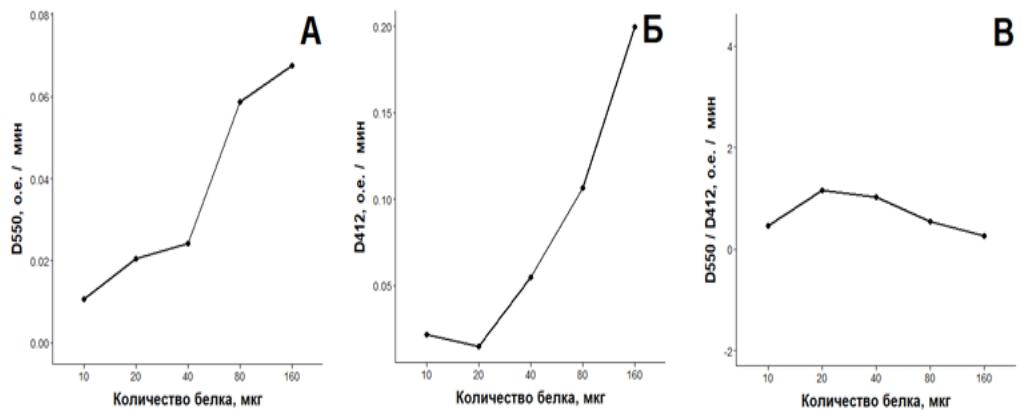


Рисунок 3. – Скорость ферментативной реакции комплекса III (А), цитратсингазы (Б) и соотношение скоростей ферментов (В) митохондрий тромбоцитов человека при различных количествах белка в пробе

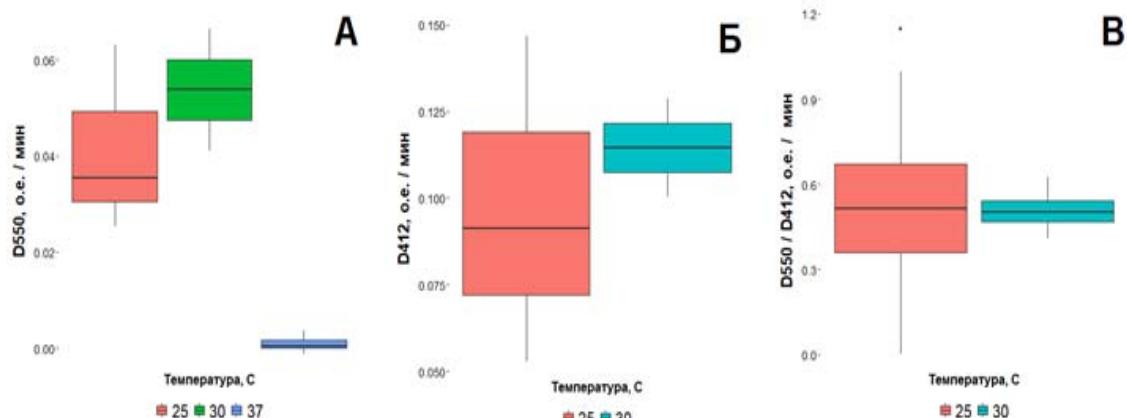


Рисунок 4. – Скорость ферментативной реакции в течение 20 мин комплекса III (А), цитратсингазы (Б) и соотношение скоростей ферментов (В) митохондрий тромбоцитов человека при различных температурных режимах

При температуре 37°C скорости ферментативных реакций комплекса 3 и цитратсингазы были очень высокими в начальный период времени, но в дальнейшем в течение 20 мин вследствие истощения субстратов реакции наблюдали снижение угла наклона кинетических кривых ферментативных реакций комплекса 3 и цитратсингазы, что приводит к общему снижению скорости ферментативной реакции в течение 20 мин.

С целью определения достаточного уровня концентраций субстратов (додецилубихинола, цитохрома С) и ингибитора антимицина А для измерения активности комплекса 3, которые предлагаются в литературе для со-

матических клеток, мы провели соответствующие эксперименты (рисунок 5).

Увеличение концентраций додецилубихинола и цитохрома С в 2 раза в реакционной смеси приводило лишь к статистически достоверному росту активности комплекса 3 в случае увеличения концентрации цитохрома С до 150 мкМ при двухкратном цикле замораживания/оттаивания тромбоцитов (рисунок 5 Б). В то же время увеличение концентрации ингибитора комплекса 3 антимицина А в реакционной смеси до 90 мкМ по сравнению с литературными данными приводило к существенному росту активности комплекса 3, измеряемой в тромбоцитах (рисунок 5 В).

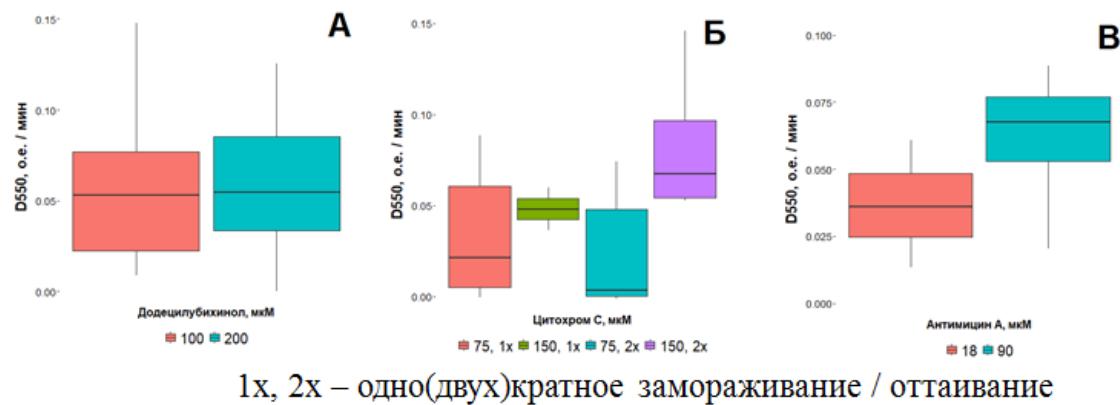


Рисунок 5. – Скорость ферментативной реакции комплекса 3 в течение 20 мин при различных концентрациях додецилубихинола (А), цитохрома С (Б) и антимицина А (В) митохондрий тромбоцитов человека

**Заключение.** Определение активности убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы (комплекс 3) является необходимым этапом исследования функционального состояния электрон-транспортной цепи митохондрий при выявлении механизмов изменений биоэнергетики клеток при различных условиях и воздействиях [7].

Полярографический метод не позволяет оценить активность данного комплекса и поэтому наиболее часто применяемым методом изучения активности комплекса 3 дыхательной цепи является спектрофотометрическое определение уровня восстановления цитохрома С в присутствии донора электронов – додецилубихинола [13]. Представленные в литературе подходы для исследования активности комплекса 3 данным методом во многих соматических клетках не учитывают ряд структурно-функциональных особенностей тромбоцитов, которые обладают потенциалом применения в качестве легко доступных клеточных маркеров состояния биоэнергетики органов и тканей [6]. Проведенные нами исследования демонстрируют, что измерения активности убихинол-цитохром с-оксидоредуктазы в тромбоцитах наиболее целесообразно проводить в микрообъемах (100 мкл) с использованием микропланшетных спектрофотометров вследствие доступности в результате забора крови небольшого количества тромбоцитов. Кроме того, одно-

кратный цикл замораживания/оттаивания является наиболее подходящим способом извлечения ферментативной активности комплекса 3 дыхательной цепи митохондрий, что также позволяет осуществлять замораживание полученных образцов тромбоцитов с целью последующего их изучения. Оптимальной температурой при длительных (20 мин) измерениях активности комплекса 3 в микрообъемах является 25<sup>0</sup>С, т. к. позволяет обеспечить достаточный уровень количества субстратов для сохранения линейности кинетической кривой изменения оптической плотности на протяжении всего интервала времени измерения. Приемлемым количеством белка в пробе является 80 мкг, т.к. с одной стороны это обеспечивает хороший уровень сигнала по сравнению с химическим (неэнзиматическим) восстановлением цитохрома С и стабильную линейность кинетической кривой скорости комплекса 3 при длительных интервалах измерений при используемых концентрациях субстратов, а с другой стороны позволяет обеспечить возможность релевантного измерения активности комплекса 3 в случае вероятного патологического изменения активности при заболеваниях. Кроме того, результаты исследований показывают, что количество субстратов в реакционной смеси, которые приведены в литературе, для измерения активности комплекса 3 в различных типах соматических клеток, явля-

ется достаточным и в случае тромбоцитов. Лишь удвоение концентрации цитохрома С проявляет статистически значимый эффект при двухкратном цикле замораживания/оттаивания тромбоцитов, что, вероятно, обусловлено большей степенью повреждений митохондрий и возможной утратой компонентов электрон-транспортной цепи, в частности, цитохрома С. Кроме того, нами была выявлена необходимость существенного повышения в контрольной пробе концентрации ингибитора 3 комплекса антимицина А в случае тромбоцитов по сравнению с другими типами соматических клеток с целью более точного определения степени неэнзиматического восстановления цитохрома С. Помимо классического способа выражения скорости ферментативной реакции убихинол-цитохром c-оксидоредуктазы в виде удельной активности относительно концентрации белка в пробе в качестве способа нормализации ферментативной активности предлагается определение отношения активности комплекса 3 к активности цитратсингтазы, уровень которой позволяет контролировать степень извлечения ферментативной активности из биологических образцов с использованием тех или иных способов нарушения целостности клеток [9]. В то же время наши исследования демонстрируют, что в случае измерения активности цитратсингтазы в микрообъемах также необходимо учитывать ряд факторов, оказывающих влияние на ее активность. Кроме того, также необходимо принимать во внимание возможное изменение активности самой цитратсингтазы при патологических состояниях.

*Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь (договор № 65 от 05.05.2021) в рамках ГПНИ «Биотехнологии-2» (Рег. № НИР 20241017).*

#### **Список использованных источников**

1. Crofts, A. R. The Cytochrome bc1 Complex: Function in the Context of Structure / A. R. Crofts // Annual Review of Physiology. – 2004. – Vol. 66 – P. 689–733.
2. Turrens, J. F. Formation of Reactive Oxygen Species in Mitochondria / J. F. Turrens // Mitochondria: The Dynamic Organelle // J. F. Turrens ; ed. by S. W. Schaffer, M.-S. Suleiman. – New York, NY : Springer, 2007. – P. 185–196.
3. Suleiman, M.-S. The Apoptotic Mitochondrial Pathway – Modulators, Interventions and Clinical Implications / M.-S. Suleiman, S. W. Schaffer // Mitochondria: The Dynamic Organelle // M.-S. Suleiman, S. W. Schaffer ; ed. by S. W. Schaffer, M.-S. Suleiman. – New York, NY : Springer, 2007. – P. 271–290.
4. DiMauro, S. A critical approach to the therapy of mitochondrial respiratory chain and oxidative phosphorylation diseases : Mitochondrial Disease / S. DiMauro, P. Rustin // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. – 2009. – Vol. 1792, № 12. – P. 1159–1167.
5. Impairment of platelet mitochondrial respiration in patients with chronic kidney disease with and without diabetes / G. Mihaela-Roxana, S.-L. Theia, A. Oana-Maria [et al.] // Mol Cell Biochem. – 2025. – Vol. 480, № 8. – P. 4745–4755.
6. Platelet bioenergetics correlate with muscle energetics and are altered in older adults / A. Braganza, C. G. Corey, A. J. Santanasto [et al.] // JCI Insight. – Vol. 4, № 13. – P. e128248.
7. Steady-state kinetic analysis of mitochondrial respiratory enzymes from bovine heart mitochondria / D. Kim, E. Ko, M. Choi, S. Shin // Applied Biological Chemistry. – 2021. – Vol. 64, № 1. – P. 54–60.
8. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells / M. Spinazzi, A. Casarin, V. Persegato [et al.] // Nat Protoc. – 2012. – Vol. 7, № 6. – P. 1235–1246.
9. Mitochondrial complex III activity: from invasive muscle biopsies to patient-friendly buccal swab analysis / T. Somers, N. A. E. Allard, S. Siddiqi [et al.] // Sci Rep. – 2023. – Vol. 13, № 1. – P. 9638.
10. Why platelet mechanotransduction matters for hemostasis and thrombosis / O. Oshinowo, S. S. Azer, J. Lin, W. A. Lam // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2023. – Vol. 21, № 9. – P. 2339–2353.
11. Role of Platelet Mitochondria: Life in a Nucleus-Free Zone / H. Melchinger, K. Jain, T. Tyagi, J. Hwa // Front. Cardiovasc. Med. – 2019. – Vol. 6 – P. 1–11.

12. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // Analytical Biochemistry. – 1976. – Vol. 72, № 1. – P. 248–254.
13. Barrientos, A. Evaluation of the mitochondrial respiratory chain and oxidative phosphorylation system using polarography and spectrophotometric enzyme assays / A. Barrientos, F. Fontanesi, F. Díaz // Curr Protoc Hum Genet. – 2009. – Vol. 19 – P. 1–13.
14. RKWard: A Comprehensive Graphical User Interface and Integrated Development Environment for Statistical Analysis with R / S. Rödiger, T. Friedrichsmeier, P. Kapat, M. Michalke // Journal of Statistical Software. – 2012. – Vol. 49 – P. 1–34.

*Received 15.10.2025*

УДК 612.115; 576.311.347

## Д.Э. ПОДОЛЬСКІЙ

старший преподаватель кафедры биохимии и биоинформатики<sup>1</sup>

В.Т. ЧЕЩЕВІК, канд. біол. наук, доцент,  
доцент кафедры биохимии и биоинформатики<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Полесский государственный университет,  
г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 15.10.2025 г.

## РОЛЬ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛА МИТОХОНДРІЙ И АКТИВНЫХ ФОРМ КІСЛОРОДА В АГРЕГАЦІІ ТРОМБОЦІТОВ

*В статье представлены данные о роли электрон-транспортной цепи митохондрий тромбоцитов в процессах агрегации. Было выяснено, что блокирование элементов дыхательной цепи приводит к уменьшению мембранныго потенциала митохондрий, что свидетельствует о том, что митохондрии играют важнейшую роль в агрегации тромбоцитов. Было показано возрастание концентраций активных форм кислорода при активации тромбоцитов, что может иметь регуляторное значение.*

**Ключевые слова:** тромбоциты, агрегация, митохондриальный потенциал, активные формы кислорода, апоптоз.

PODOLSKY D.E., Lecturer<sup>1</sup>

CHESHCHEVIK V.T., PhD in Biolog. Sc., Associate Professor,  
Associate Professor of the Department of Biotechnology<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

## ROLE OF MITOCHONDRION MEMBRANE POTENTIAL AND REACTIVE OXYGEN SPECIES IN PLATELET AGGREGATION

*This article presents data on the role of membrane potential and reactive oxygen species in agonist-induced platelet aggregation. We found a decrease in membrane potential upon inhibition of the mitochondrial respiratory chain, demonstrating the complex role of mitochondria in platelet aggregation. It was also found that respiratory chain inhibition during the initial stages of platelet activation results in a sudden increase in reactive oxygen species, which levels off over time, suggesting a regulatory role for reactive oxygen species in platelet aggregation.*

**Keywords:** platelets, aggregation, mitochondrial potential, reactive oxygen species, apoptosis.

**Введение.** Функциональной особенностью тромбоцитов является их способность к быстрой активации и агрегации [1], что приводит к коагуляции и остановке кровотечений [2]. Основным механизмом активации тромбоцитов является действие на тромбоцитарные рецепторы агонистов, которые запускают процесс активации одним из двух сигнальных путей: «снаружи-внутрь» (дополни-

тельная активация тромбоцитов, вызванная передачей сигналов внутрь клеток благодаря интегрину  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) и «изнутри-наружу» (внутриклеточные события, ведущие к активации интегрина  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) [3]. Среди таких рецепторов можно выделить рецепторы тромбина, коллагена, аденоzinидифосфата, тромбоксана [4-7]. Стимуляция тромбоцитарных рецепторов генерирует каскад внутриклеточных процес-

сов: дегрануляцию основных депо кальция (гранулы и плотная трубчатая система тромбоцитов), митохондриальный перенос кальция, генерация активных форм кислорода, что, по сути, является сигнальными путями апоптоза [8]. Итогом данных процессов является активация интегрина и дальнейшее слипание тромбоцитов в агрегаты с помощью интегринов через молекулу фибриногена [9]. Вышеописанные реакции приводят к сцеплению тромбоцитов друг с другом и последующей закупорке поврежденного сосуда.

Альтернативным путем является дальнейшее аккумулирование митохондриями высвобождаемого кальция, что приводит к открытию пор высокой проницаемости (mPTP), экстернализации фосфатидилсерина (ФС) и появлению популяции мертвых, не способных к агрегации клеток, но содержащих на своей поверхности множество сайтов связывания коагулирующих агентов. Функцией такой фосфатидилсерин-положительной популяции тромбоцитов является вовлечение все большего количества тромбоцитов в каскад агрегации тромбоцитов [10].

В последнее время большое внимание уделяется роли митохондрий в тромбоцитарной активации, так как именно митохондриальный путь активации тромбоцитов приводит к формированию прокоагулянтной популяции клеток [11]. Несмотря на то, что тромбоциты содержат довольно мало митохондрий (4-6 на клетку), активность данных органелл в процессе активации тромбоцитов значительно возрастает [12].

Одним из важнейших параметров функциональной активности митохондрий является уровень мембранныго потенциала, за счет которого обеспечивается сопряжение процессов окисления и фосфорилирования в электрон-транспортной цепи митохондрий [13]. Тромбоциты обладают высокой скоростью обмена АТФ: примерно 60% АТФ вырабатывается в процессе гликолиза, оставшаяся часть АТФ вырабатывается в результате окислительного фосфорилирования. Показано, что во время активации тромбоцитов скорости окислительного фосфорилирования и гликолиза возрастают для удовлетворения возросшей потребности в энергии [14].

Митохондрии выступают в качестве основных поставщиков энергии в тромбоцитах во время образования тромба, что подтвер-

ждается эффектами ингибиования дыхания митохондрий с использованием ингибиторов цепи переноса электронов, таких как антимицин А и цианид [15]. Помимо энергетического обеспечения митохондрий выполняют регуляторные функции, связанные с активацией тромбоцитов, выработкой активных форм кислорода (АФК) и индукцией апоптоза [16]. Соответственно, изменения функционального состояния митохондрий приводят не только к нарушению клеточного дыхания, но и, вероятно, процессов активации и агрегации тромбоцитов [17]. В то же время практически нет данных о влиянии ингибиования компонентов дыхательной цепи митохондрий на функциональное состояние тромбоцитов при активации и агрегации, хотя данное исследование позволило бы выявить механизмы участия митохондрий в данных процессах.

С функционированием митохондрий тромбоцитов тесно связана генерация АФК. Основной формой АФК, генерируемых митохондриями, является супероксиданион-радикал [18]. АФК образуются в нормальных условиях эндогенно в результате работы электрон-транспортной цепи в комплексах I и III [19]. Продукция АФК усиливается при целом ряде заболеваний, в особенности, в случае митохондриальных нарушений [20]. Исследования показали, что гиперполяризация митохондриальной мембранны и генерация АФК может оказывать влияние на активацию тромбоцитов [21]. Известно, что генерация АФК после обработки опсонизированным зимозином А, активатором системы комплемента, приводит к перестройке цитоскелета тромбоцитов, что указывает на активацию тромбоцитов [22]. Однако механизмы, лежащие в основе таких эффектов, не выяснены и нуждаются в дальнейшем исследовании. Повышенная генерация митохондриальных АФК способна вызывать патологическую активацию тромбоцитов [23]. АФК также могут нарушать функционирование дыхательной цепи: при значительном увеличении генерации АФК содержание АТФ и мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов снижается [24]. Понижение мембранныго потенциала митохондрий в результате роста уровня АФК и повреждения дыхательной цепи может привести к образованию mPTP [25]. Более того, повышенная генера-

ция АФК может приводить к повреждению митохондриальной ДНК, что было показано в ряде исследований [26]. Таким образом, АФК оказывают многостороннее влияние на активацию тромбоцитов, однако механизмы этих процессов до конца еще не изучены.

Целью данной работы явилось исследование влияния изменений мембранныго потенциала и генерации АФК дыхательной цепи митохондрий на агрегацию тромбоцитов с использованием ингибиторного анализа.

**Материалы и методы.** Забор крови проводили у добровольцев мужского пола возрастом от 20 до 28 лет без вредных привычек и приема лекарств в течение 3 дней до забора крови. Доноров выбирали с отсутствием хронических заболеваний и воспалительных процессов в течение 7 дней до забора крови. Обогащенную тромбоцитами плазму получали из цельной крови с использованием 3,2% цитрата натрия в качестве антикоагулянта в результате центрифугирования при 300g в течение 15 минут. Из полученного супернатанта тромбоциты осаждали центрифугированием при 800g в течение 15 мин.

Для выполнения агрегометрических исследований осадок тромбоцитов ресуспензировали в модифицированном буфере Тироде с глюкозой (134 mM NaCl, 12 mM NaHCO<sub>3</sub>, 2,9 mM KCl, 0,34 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 5 mM глюкозы). Концентрация клеток в пробе составляла  $3 \times 10^7$  кл/мл. Агрегометрию проводили с использованием агрегометра Solar AP 2110 (Беларусь). Активацию вызывали агонистом АДФ в конечной концентрации 10 мкМ. В кювету добавляли 2 мл суспензии тромбоцитов с ингибиторами электрон-транспортной цепи митохондрий и инкубировали в течение 15 минут при температуре 37 °C при постоянном перемешивании. Агрегационные кривые прописывали 300 сек. Данные агрегометрии представлены тремя показателями: время достижения плато, уровень плато (процент агрегированных тромбоцитов) и скорость агрегации, которую рассчитывали по параметрам агрегационных кривых по формуле:

$$\nu = \frac{AP}{\Delta t},$$

где  $\nu$  – скорость агрегации,  $AP$  – процент агрегированных тромбоцитов,  $\Delta t$  – время достижения плато.

В качестве ингибиторов электрон-транспортной цепи митохондрий использовали: ротенон (2 мкМ, ингибитор I комплекса), малонат (25 мкМ, конкурентный ингибитор II комплекса), феноилтрифлуорацетон (ТТФА, 10 мкМ, неконкурентный ингибитор II комплекса), антимицин A (1 мкг/мл, ингибитор III комплекса), азид натрия (10 mM, неспецифический ингибитор IV комплекса), олигомицин (1 мкг/мл, ингибитор АТФ-синтазы), карбонилцианид *m*-хлорофенилгидразон (СССР, 50 мкМ, протонофор). В контрольные пробы добавляли аналогичные объемы растворителей (ДМСО, этанол, вода), на которых были растворены соответствующие ингибиторы.

Для исследования мембранныго потенциала и генерации клеточных форм АФК, а также размеров и гранулярности тромбоцитов на проточном цитофлуориметре обогащенную тромбоцитами плазму разбавляли модифицированным буфером Тироде до концентрации клеток  $3 \times 10^7$  кл/мл. Исследование динамики размеров и гранулярности тромбоцитов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II (США) по показателям прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния. Генерацию цитоплазматических АФК оценивали с помощью зонда 2,7-дихлородигидрофлуоресцеина ацетата (H<sub>2</sub>DCFDA, 10 мкМ), который имеет длину волны возбуждения в синей части спектра (495 нм) и длину волны эмиссии в зеленой части спектра (527 нм). В качестве положительного контроля использовали пероксид водорода (10 мкМ), а в качестве антиоксиданта-стандарта – тролокс (1 mM). Регистрацию генерации АФК в тромбоцитах осуществляли в течение 20 минут с момента добавления агониста АДФ (10 мкМ) (с интервалом в 2 мин).

Мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов оценивали с помощью липофильного положительно-заряженного флуоресцентного зонда JC-1 (длина волны возбуждения 514 нм), который в отсутствие мембранныго потенциала в виде мономеров обладает эмиссией при  $\lambda = 529$  нм, а при наличии мембранныго потенциала образует димеры с эмиссией в красной части спектра ( $\lambda = 590$  нм). Динамику мембранныго потенциала тромбоцитов измеряли на проточном цитофлуориметре сразу после добавления ис-

следуемых ингибиторов и АДФ (10 мкМ) в течение 20 минут (с интервалом времени 2 мин).

Для представления результатов экспериментов использовали среднее арифметическое и стандартную ошибку среднего. Количество повторных измерений по исследуемым показателям в экспериментальных группах составляло не менее пяти. Статистическую обработку результатов осуществляли с применением критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия между средними арифметическими сравниваемых групп принимали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение GraphPad Prism 7.0. Для построения рисунков применяли программный пакет Microsoft Office Excel для Windows 10 и программное обеспечение GraphPad Prism 7.0.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что среди ингибиторов наибольшее влияние на агрегацию тромбоцитов оказывает ингибитор АТФ-сингтазы олигомицин, значительно снижая (на 90%) скорость агрегации, общий процент агрегированных тромбоцитов и время наступления плато, что обусловлено необходимостью в митохондриальной генерации АТФ при активации тромбоцитов (таблица 1). Ингибиторы II, III и IV комплексов дыхательной цепи митохондрий также оказывали влияние на процесс агрегации тромбоцитов. В частности, неконкурентный ингибитор феноилтрифлуорацетат статистически достоверно снижал все 3 пара-

метра агрегации тромбоцитов. Антимицин А и азид натрия приводили только к ингибированию скорости агрегации тромбоцитов, не оказывая при этом влияния на уровень агрегации и время достижения плато.

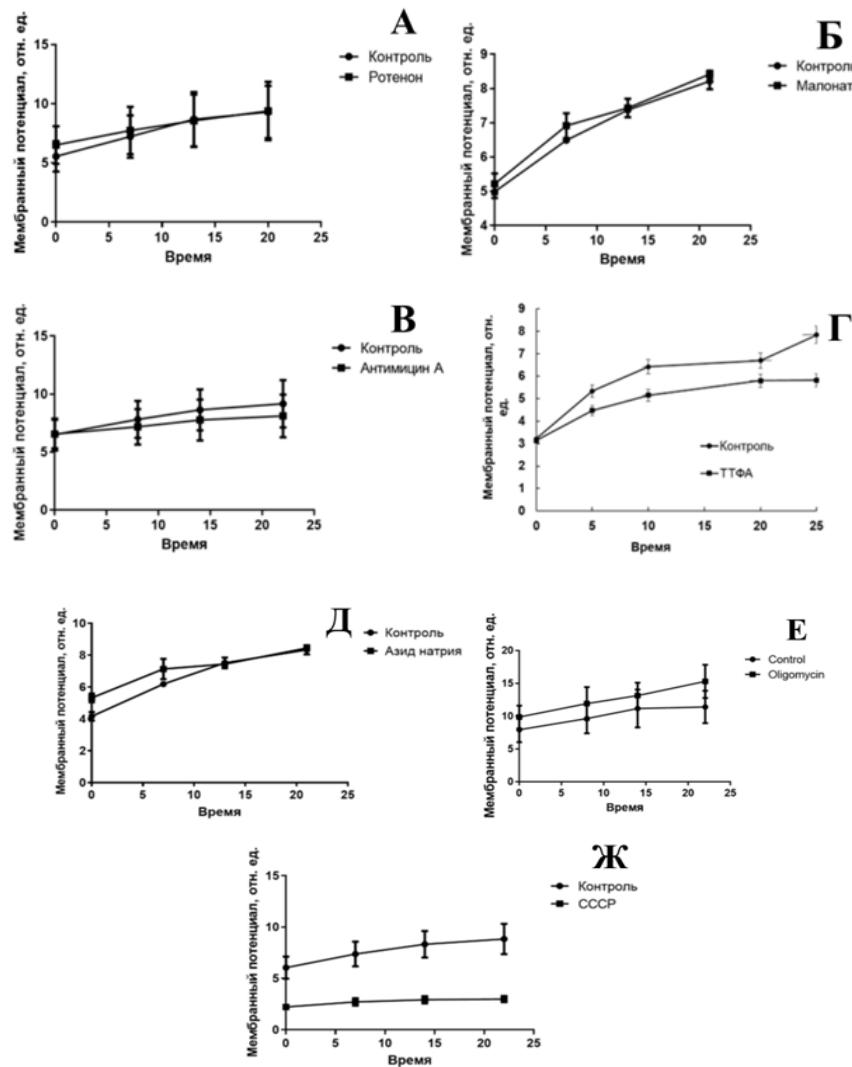
Поскольку мембранный потенциал митохондрий обеспечивает сопряжение процессов окисления и фосфорилирования, на следующем этапе мы исследовали уровень митохондриального мембранных потенциала тромбоцитов в динамике.

Нами показано, что мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов возрастает в течение 20 минут на протяжении всего периода активации и агрегации тромбоцитов (рисунок 1). Из всех исследованных ингибиторов электрон-транспортной цепи митохондрий лишь только феноилтрифлуорацетон приводил к статистически достоверному снижению мембранных потенциала (рис. 1, Г). Интересно, что ингибиторы электрон-транспортной цепи митохондрий ротенон, малонат, азид натрия, приводили к возрастанию мембранных потенциала в первые 10 минут активации тромбоцитов. При этом, в последующие 10 минут мембранный потенциал не отличался от уровня контроля (рис. 1, А, Б, Д). Антимицин А и олигомицин приводили к незначительному уменьшению или повышению мембранных потенциала, соответственно (рис. 1, В, Е). В то же время протонофор СССР приводил к значительному снижению мембранных потенциала митохондрий тромбоцитов в течение всего процесса агрегации (рис. 1, Ж).

Таблица 1. – Параметры агрегации тромбоцитов при воздействии ингибиторов электрон-транспортной цепи митохондрий

Показатель	Время достижения плато (сек)	Уровень агрегации (%)	Скорость агрегации (сек <sup>-1</sup> )
<b>Контроль (ДМСО)</b>	<b><math>177,0 \pm 16,0</math></b>	<b><math>74,0 \pm 8,0</math></b>	<b><math>37,5 \pm 3,2</math></b>
Ротенон	$177,0 \pm 15,0$	$88,0 \pm 9,0$	$23,0 \pm 2,1$
Антимицин А	$208,1 \pm 19,0$	$60,0 \pm 5,0$	<b><math>16,0 \pm 2,0^*</math></b>
<b>Контроль (вода)</b>	<b><math>70,0 \pm 6,9</math></b>	<b><math>95,0 \pm 8,9</math></b>	<b><math>285,0 \pm 31,0</math></b>
Малонат	$70,2 \pm 6,2$	$80,0 \pm 7,7$	$288,0 \pm 27,9$
Азид натрия	$81,0 \pm 8,0$	$80,0 \pm 7,5$	<b><math>37,0 \pm 3,5^*</math></b>
<b>Контроль (этанол)</b>	<b><math>218,0 \pm 22,0</math></b>	<b><math>47,0 \pm 5,2</math></b>	<b><math>23,0 \pm 2,2</math></b>
Феноилтрифлуорацетон	<b><math>160,0 \pm 15,0^*</math></b>	<b><math>30,0 \pm 3,3^*</math></b>	<b><math>14,0 \pm 1,3^*</math></b>
Олигомицин	<b><math>129,0 \pm 13,0^*</math></b>	<b><math>1,4 \pm 0,10^*</math></b>	<b><math>2,0 \pm 0,11^*</math></b>

Примечание –\* – Статистически достоверные изменения по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ )

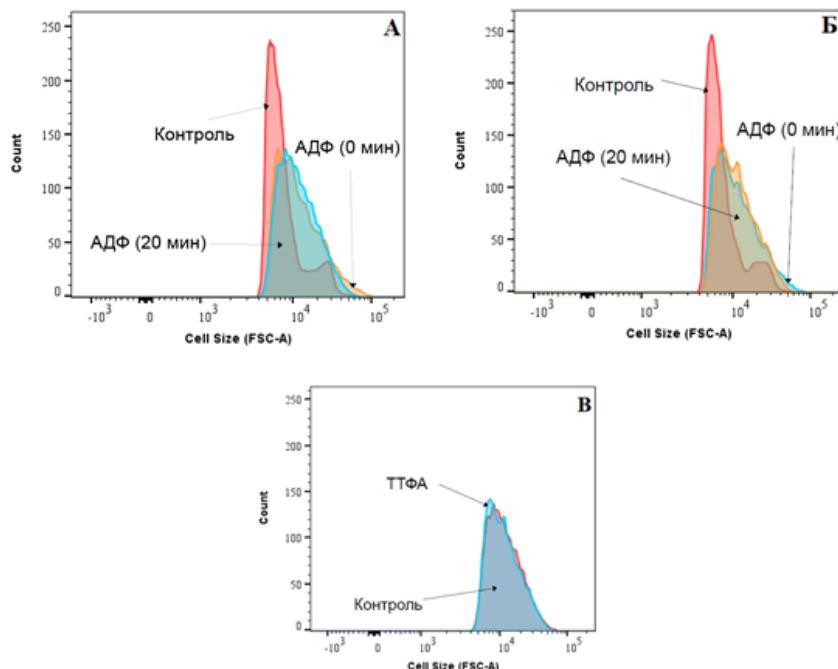


Обозначения: А – ротенон (2 мкМ), Б – малонат (25 мкМ), В – антимицин А (1 мкг/мл), Г – ТТФА (10 мкМ), Д – азид натрия (10 мМ), Е – олигомицин (1 мкг/мл), Ж – СССР (50 мкМ).

Рисунок 1. – Динамика мембраничного потенциала митохондрий при действии ингибиторов электронно-транспортной цепи при активации-агрегации тромбоцитов

При активации и агрегации тромбоцитов происходит изменение морфологии и размеров тромбоцитов, что сопровождается перестройкой цитоскелета и изменением гранулярности в результате высвобождения гранул из цитоплазмы тромбоцитов [27]. Поскольку феноилтрифлуорацетон оказывал влияние на процесс агрегации и динамику мембраничного потенциала митохондрий (таблица 1, рисунок 1), нами было проведено исследование влияния данного ингибитора на размеры и гранулярность клеток при активации и агрегации тромбоцитов.

Нами было показано, что в контрольной группе и группе с добавлением ТТФА (10 мкМ) при использовании в качестве агониста АДФ (10 мкМ) увеличивается количество клеток, характеризующихся большими размерами, на протяжении 20 минут, что обусловлено активацией тромбоцитов (рис. 2, А, Б). При этом не отмечено статистически достоверных различий в количестве тромбоцитов с увеличенными размерами в присутствии ТТФА по сравнению с группой контроля при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на 20 минуте инкубации (рис. 2, В).



Обозначения: красный пик – без АДФ, оранжевый пик – 10 мкМ АДФ (0 мин), синий пик – 10 мкМ АДФ (20 мин);

А – контроль, Б – ТТФА, В – контроль и ТТФА (20 минут с АДФ)

Рисунок 2. – Динамика размеров тромбоцитов при их активации в присутствии и отсутствие ТТФА

При АДФ-индуцированной агрегации в контрольной группе наблюдали рост гранулярности тромбоцитов во времени (рисунок 3, А).

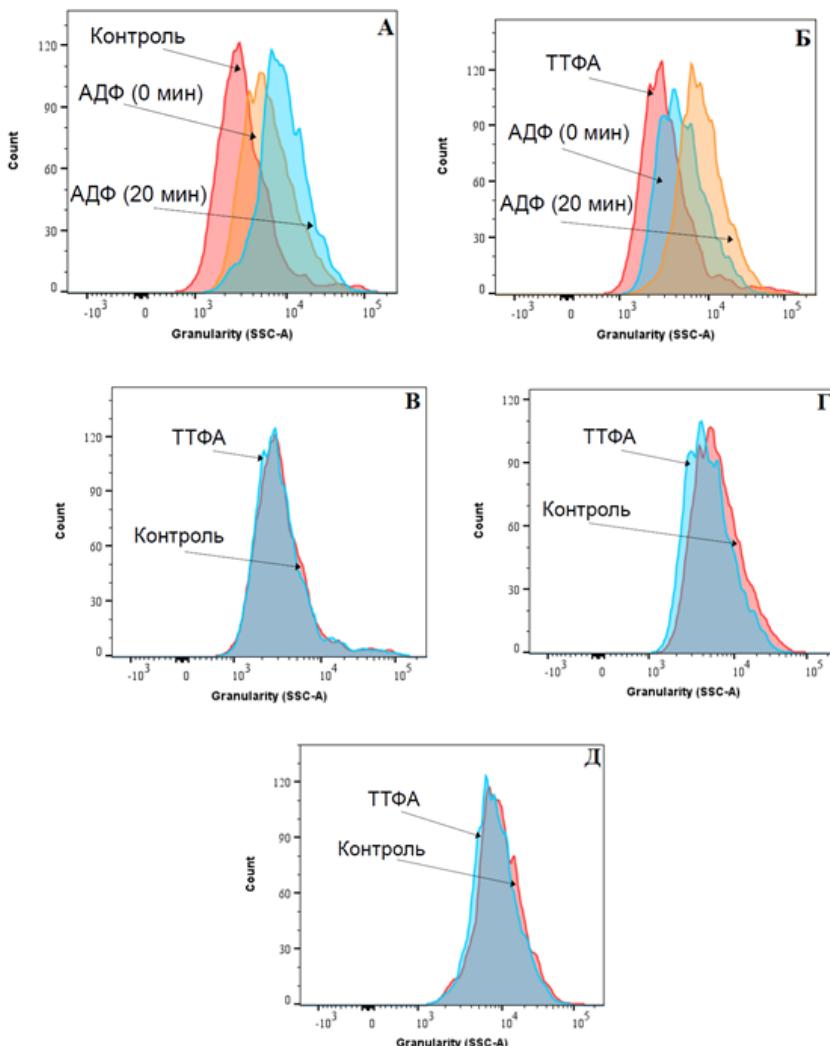
В присутствии ингибитора 2-го комплекса электрон-транспортной цепи митохондрий тромбоцитов ТТФА (10 мкМ) при АДФ-индуцированной агрегации также наблюдали возрастание гранулярности тромбоцитов на протяжении 20 минут, но в меньшей степени по сравнению с контрольной группой, в особенности на начальном этапе процесса агрегации (рисунок 3, Б-Д). Вероятно, данный факт обусловлен тем, что ТТФА ингибирует агрегационные процессы в тромбоцитах, что подтверждается вышеприведенными исследованиями агрегометрии (таблица 1) и динамики мембранныго потенциала митохондрий тромбоцитов (рисунок 1, Г) в присутствии данного ингибитора.

Известно, что при высокой митохондриальной активности в клетках активно идет генерация АФК [19]. На рисунке 4 показаны данные генерации АФК при АДФ-

индуцированной агрегации тромбоцитов, в том числе при ингибировании электрон-транспортной цепи митохондрий.

После добавления агониста АДФ (10 мкМ) наблюдали резкий рост уровня генерации АФК в первые 2 минуты, который затем снижался в течение последующих 20 минут. При этом данный процесс подавлялся добавлением антиоксиданта тролокса (рисунок 4, А). В то же время все исследуемые ингибиторы электрон-транспортной цепи митохондрий и протонофор СССР приводили к стимуляции генерации АФК в различной степени в первые несколько минут после добавления агониста активации агрегации АДФ (рисунок 4, Б-Г).

При этом уже к 20-й минуте уровень АФК значительно снижался практически до уровня контроля в случае практически всех ингибиторов, за исключением азида натрия, в случае которого снижение уровня АФК происходило, но оставалось повышенным по сравнению с группой контроля (рисунок 4, Б-Г).



Обозначения: А – контроль; Б - в присутствии ТТФА; В – контроль и ТТФА без АДФ; Г – контроль и ТТФА с АДФ (0 мин); Д – контроль и ТТФА с АДФ (20 мин); А – контроль, В – в присутствии ТТФА

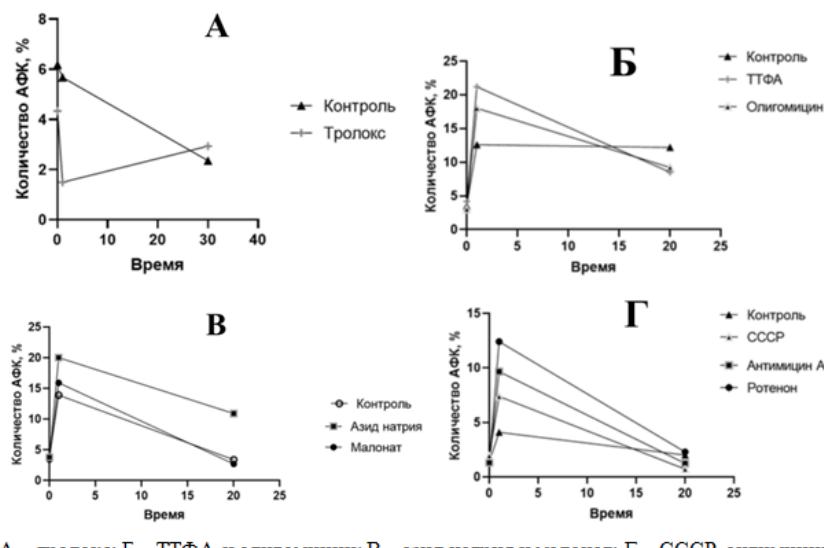
Рисунок 3. – Динамика гранулярности клеток при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов

**Заключение.** Нами было установлено, что при активации тромбоцитов митохондриальный мембранный потенциал постепенно нарастает на протяжении всего периода (20 мин) АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. При этом такие ингибиторы как ротенон, малонат, азид натрия и олигомицин приводили к повышению мембранныго потенциала на начальных этапах агрегации и не оказывали влияние на его значение на более поздних этапах.

В свою очередь, ингибиторы ТТФА, антимицин А и протонофор СССР приводили к снижению мембранныго потенциала на протяжении всего периода агрегации тромбоци-

тов. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов приводит к резкому возрастанию генерации АФК на начальных этапах и ее снижению на завершающих этапах агрегации (20 мин). Такое резкое возрастание уровня АФК на начальных этапах агрегации тромбоцитов, вероятно, имеет регуляторное значение в физиологии тромбоцитов, однако после активации не играет существенной роли, кроме влияния на апоптотические события в тромбоцитах.

Генерация АФК подавлялась стандартным антиоксидантом тролокс.



А – тролокс; Б – ТТФА и олигомицин; В – азид натрия и малонат; Г – СССР, антимицин А и ротенон

Рисунок 4. – Генерация АФК при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов при ингибировании электрон-транспортной цепи митохондрий

В то же время все ингибиторы дыхательной цепи и даже протонофор СССР существенно усиливали генерацию АФК на начальных этапах и практически не оказывали влияния на уровень АФК на поздних (20 мин) этапах агрегации тромбоцитов.

Таким образом, уровень АФК и уровень митохондриального мембранныго потенциала при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов находятся в обратно пропорциональной зависимости, либо не взаимосвязаны, т.к. несмотря на то, что практически все ингибиторы приводили к росту АФК на начальных этапах, не все из них приводили к росту митохондриального мембранныго потенциала, что является отклонением от общего принятого представления о том, что высокий мембранный потенциал митохондрий способствует повышению уровня генерации АФК в митохондриях [28].

Подтверждением участия митохондрий в агрегации тромбоцитов являются показанные в работе нарушения параметров агрегации тромбоцитов при действии ряда ингибиторов дыхательной цепи митохондрий. Более того, в случае ТТФА (ингибитора 2-го комплекса дыхательной цепи, который приводил к существенным нарушениям всех параметров АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов) наблюдали снижение уровня грануляр-

ности тромбоцитов в процессе агрегации по сравнению с группой контроля.

Таким образом, результаты проведенного исследования демонстрируют непосредственное участие митохондрий в агрегации тромбоцитов при использовании АДФ в качестве агониста. В то же время применение ингибиторного анализа демонстрирует, что роль функциональной активности различных комплексов дыхательной цепи митохондрий в агрегации тромбоцитов не равнозначна и требует своего дальнейшего исследования с целью выявления молекулярных механизмов участия отдельных комплексов дыхательной цепи митохондрий в процессах агрегации тромбоцитов.

Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь (договор № 65 от 05.05.2021) в рамках ГПНИ «Биотехнологии-2» (Рег. № НИР 20241017).

#### Список использованных источников

1. Platelets in hemostasis and thrombosis: Novel mechanisms of fibrinogen-independent platelet aggregation and fibronectin-mediated protein wave of hemostasis / Y. Hou, N. Carrim, Y. Wang et al. // Journal of Biomedical Research. – 2015. – V. 29 – № 6. – P. 437–444.

2. Ni H. Platelets in hemostasis and thrombosis: role of integrins and their ligands / H. Ni, J. Freedman // Transfusion and Apheresis Science. – 2003. – Vol. 28 – № 3. – P. 257–264.
3. Ma, Y-Q. Platelet integrin alpha(IIb)beta(3): activation mechanisms / Y-Q Ma, J Qin, E. F. Plow // J Thromb Haemost. – № 5(7), 2007. – pp. 1345-1352.
4. Roberts, D.E. Mechanism of collagen activation in human platelets / Diane E Roberts 1, Archibald McNicol, Ratna Bose // J Biol Chem. – 2004. – Vol. 19. – № 279. – P. 19421-19430.
5. Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders: Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update / P. Gresele, N.S. Kleiman, J.A. Lopez, C.P. Page. – NY: Springer, 2017. – 1458 p.
6. Gachet C. Regulation of platelet functions by P2 receptors // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. – 2006. – Vol. 46. – P. 277–300.
7. Brass L.F. Harnessing the platelet signaling network to produce an optimal hemostatic response / L.F. Brass, M. Tomaiuolo, T.J. Stalker // Hematology/Oncology Clinics of North America. – 2013. – Vol. 27 – № 3. – P. 381–409.
8. Ünsal Özgen, Elif Özerol, Mehmet Aminci. Relationship between activation and apoptosis in platelets // Turk J Haematol. – 2007 Vol. 4. – № 24. – P. 171-176.
9. Watanabe N, Bodin L, Pandey M, et al. Mechanisms and consequences of agonist-induced talin recruitment to platelet integrin alphaIIbbeta3 // J Cell Biol. – 2008. № 181. – P. 1211-1222.
10. Stephen R. Clark. Characterization of platelet aminophospholipid externalization reveals fatty acids as molecular determinants that regulate coagulation / Stephen R. Clark, Christopher P. Thomas, Victoria J. Hammond, Maceler Aldrovandi [and etc.] // PNAS. – 2013. – Vol. 110. – № 15. – P. 5875-5880.
11. Zakharova, N. Two Types of Procoagulant Platelets Are Formed Upon Physiological Activation and Are Controlled by Integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 / Natalia Zakharova // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2012. – № 32. – P. 2475–2483.
12. Jiang, J. Peroxidation and externalization of phosphatidylserine associated with release of cytochrome c from mitochondria / J. Jiang [and etc.] // Free Radical Biology and Medicine, 2003. – T. 35. – №. 7. – C. 814-825.
13. Zorova, L.D. Mitochondrial membrane potential / Ljubava D Zorova, Vasily A Popkov, Egor Y Plotnikov, Denis N Silachev [and etc.] // Anal Biochem. – 2018. – № 552. – P. 50-59.
14. He, F. Multiomic profiling reveals metabolic alterations mediating aberrant platelet activity and inflammation in myeloproliferative neoplasms / Fan He, Angelo BA Laranjeira, Tim Kong, Shuyang Lin // J Clin Invest. – 2024. – Vol. 134. – № 3. – P. 172256.
15. Plaisance, I. The metabolic inhibitor antimycin A can disrupt cell-to-cell communication by an ATP- and  $\text{Ca}^{2+}$ -independent mechanism / Isabelle Plaisance, Fabien Duthe, Denis Sarrouilhe, Jean-Claude Hervé // Eur J Physiol. – 2003. – № 447. – P. 181–194.
16. Kile, B.T. The role of the intrinsic apoptosis pathway in platelet life and death / B.T. Kile // Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2009. – № 7. – P. 214–217.
17. Hwa, J. Role of platelet mitochondria: life in a nucleus-free zone / John Hwa, Hannah Melchinger, Kanika Jain, Tarun Tyagi // Front. Cardiovasc. Med. –2019. – № 6. – P. 153.
18. Chiste, C. Superoxide Anion Radical: Generation and Detection in Cellular and Non-Cellular Systems / Renan Campos Chiste, Marisa Freitas, Adriana Zerlotti Mercadante, Eduarda Fernandes // Curr Med Chem. – 2015. – Vol. 22.– № 37. – P. 4234-4256.
19. Snezhkina, A.V. ROS Generation and Antioxidant Defense Systems in Normal and Malignant Cells / Anastasiya V Snezhkina, Anna V Kudryavtseva, Olga L Kardymon, Maria V Savvateeva // Oxid Med Cell Longev. – 2019. – № 5. – 17 pp.
20. Kirkinezosa, I.G. Reactive oxygen species and mitochondrial diseases / Ilias G. Kirkinezosa, Carlos T. Moraes // Cell & developmental biology. – 2001. – Vol. 12. – P. 449–457.
21. Begonja, A.J. Platelet NAD(P)H-oxidase-generated ROS production regulates  $\alpha$ IIb $\beta$ 3-integrin activation independent of the NO/cGMP pathway / Antonija Jurak Begonja, Stepan Gambaryan, Jorg Geiger, Barsom Aktas // Blood. – 2005. – Vol. 8. – № 106. – P. 2757-2760.

22. Nakao, L.S. Reactive oxygen species (ROS) signaling during cytoskeleton dynamics / Lia S. Nakao, Michael F. Olson, José Pablo Vázquez-Medina, Alejandra Valdivia // *Front. Cell Dev. Biol.* – 2023. – № 11. – 1 pp.
23. Masselli, E. ROS in Platelet Biology: Functional Aspects and Methodological Insights / Elena Masselli, Giulia Pozzi, Mauro Vaccarezza, Prisco Mirandola // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21. – № 14. – P. 4866.
24. Jomova, K. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging / Klaudia Jomova, Renata Raptova, Suliman Y. Alomar, Saleh H. Alwassel [and etc.] // *Archives of Toxicology.* – 2023. – Vol. 97. – P. 2499–2574.
25. Zorov, D.B. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release / Dmitry B Zorov, Magdalena Juhaszova, Steven J Sollott // *Physiol Rev.* – 2014. – Vol. 94. – № 3. – P. 909–950.
26. Yakes, F.M. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress / F Michael Yakes, Bennett Van Houten // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1997. – Vol. 94. – № 2. – P. 514–519.
27. Signaling during platelet adhesion and activation / Z. Li, M.K. Delaney, K. A. O'Brien, X. Du // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2010. – Vol. 30 – № 12. – P. 2341–2349.
28. Gorlach, A. Reactive oxygen species, nutrition, hypoxia and diseases: Problems solved? / Gorlach, A., Dimova, E.Y., Petry, A., Martinez-Ruiz, A [and etc.] // *Redox Biol.* – 2015. – № 6. – P. 372–385.

*Received 15.10.2025*

## СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ

УДК 636.2.087.6

### Е.И. ПРИЛОВСКАЯ

заместитель декана по идеологической и воспитательной работе биотехнологического факультета  
Полесский государственный университет,  
г. Пинск, Республика Беларусь  
E-mail: prilovskaia.e@polessu.by



Статья поступила 15.10.2025 г.

### ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛОКА КОЗ-ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА В РАЦИОНАХ ТЕЛЯТ МОЛОЧНОГО ПЕРИОДА

Представленные материалы базируются на результатах экспериментального исследования, направленного на изучение взаимосвязи между продолжительностью введения молока коз-продуцентов рекомбинантного лактоферрина (рекЛФ) в рацион телят и динамикой их гематологического статуса, а также приростом живой массы.

Анализ полученных в ходе исследования данных продемонстрировал, что введение молока коз-продуцентов рекЛФ в рацион телят оказывает положительное влияние на их гематологические показатели и общую продуктивность. Установлено, что наиболее устойчивый и выраженный положительный эффект на гематологический статус и продуктивные характеристики животных наблюдается при продолжительности выпойки 20 и более дней, особенно при начале применения у телят старше 30-дневного возраста, когда формируется их собственная иммунная система. Эти результаты не только подтверждают биологическую активность рекЛФ, но и представляют практический интерес для оптимизации существующих схем кормления молодняка, способствуя повышению его жизнеспособности и экономической рентабельности выращивания.

**Ключевые слова:** корма, лактоферрин, белок, продуктивность, гематологические показатели, затраты кормов, козы-продуценты.

**PRYLOVSKAYA E.I.**, Deputy Dean for Ideological and Educational Work  
Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

### ASSESSMENT OF THE EFFICIENCY OF SUPPLEMENTING MILK FROM GOATS PRODUCING RECOMBINANT LACTOFERRIN IN THE DIETS OF LACTIFYING CALVES

*The presented materials are based on the results of an experimental study aimed at investigating the relationship between the duration of supplementation of milk from goats producing recombinant lactoferrin (recLF) in calf diets and the dynamics of their hematological factors, as well as live weight gain.*

*Analysis of the study results showed that supplementation of milk from goats producing recLF in the diet has a positive effect on their hematological parameters and overall productivity. It was established that*

*the most stable and pronounced positive effect on the hematological status and productive performance of animals is observed with prolonged feeding, lasting 20 or more immune days, especially at the beginning of administration in calves over 30 days of age, when their functioning is maintained. These results not only confirm the biological activity of recLF but also provide practical recommendations for optimizing the existing feeding regimen for young animals, contributing to increased sustainability and economic profitability.*

**Keywords:** feed, lactoferrin, protein, productivity, hematological parameters, feed costs, producing goats.

**Введение.** Современное животноводство регулярно сталкивается с вызовом удовлетворения возрастающего спроса на продукты животного происхождения, что обуславливает необходимость применения интенсивных производственных технологий [1]. В связи с этим, приоритетной задачей является обеспечение устойчивого развития животноводческой отрасли и достижение полной реализации генетического потенциала крупного рогатого скота [2].

Успешность реализации генетического потенциала молочной продуктивности крупного рогатого скота напрямую зависит от системы кормления в первые дни жизни животного [2]. Именно в этот критический период происходит формирование иммунной системы, и закладываются основы будущей продуктивности [3]. В связи с этим, система кормления телят, особенно в течение неонатального и раннего постнатального периода, должна быть разработана с учетом специфических биологических особенностей молодняка и направлена на поддержание и стимуляцию его естественных защитных механизмов [4]. Ввиду вышеизложенного в условиях современного интенсивного животноводства сложилась устойчивая практика регулярного применения антимикробных препаратов. Данная стратегия традиционно используется как для профилактики, так и для терапии инфекционных заболеваний, обусловленная необходимостью поддержания высокой продуктивности животных и минимизации экономических потерь от падежа и снижения конверсии корма [5]. Однако, повсеместное и зачастую недостаточно регламентированное применение антимикробных препаратов обуславливает возрастающий риск селекции и глобального распространения резистентных штаммов микроорганизмов. Эта тенденция представляет собой значительную угрозу для здоровья, как сельскохозяйственных живот-

ных, так и человека, требуя разработки эффективных стратегий противодействия [6].

Исходя из вышеизложенного, первостепенное значение приобретает поиск и разработка инновационных альтернатив антимикробным средствам. Данная задача крайне важна для животноводческой отрасли, поскольку позволяет не только сократить экономические убытки, связанные с болезнями инфекционного происхождения, но и способствует формированию более устойчивых и безопасных систем производства [7]. В этом контексте особое внимание уделяется природным соединениям с антибактериальной активностью, среди которых лактоферрин [8].

Целью данной работы является определение оптимальной продолжительности выпойки заморожено-оттаянного молока коз-продуцентов рекомбинантного человеческого лактоферрина телятам, начиная с 30-дневного возраста и до завершения молочного периода, для достижения максимального положительного эффекта на их физиологическое состояние.

**Материалы и методика исследований.** Установление оптимальной продолжительности выпойки заморожено-оттаянного молока коз-продуцентов рекЛФ телятам старше 30-дневного возраста проводилось в ГП "ЖодиноАгроПлемЭлита". Для изучения влияния молока коз-продуцентов рекЛФ на гематологические показатели и продуктивность телят методом пар-аналогов были сформированы четыре группы клинически здоровых телят, численностью 10 голов в каждой. Животные всех групп находились в одинаковых условиях содержания. Различия в кормлении подопытных животных заключались в том, что в опытных группах на 11% было заменено цельное молоко на молоко коз-продуцентов рекЛФ.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Общая продолжительность периода выпойки телят составляла 60 дней. Размороженное молоко коз-продуцентов вводилось в рацион в течение 10, 20 и 30 дней (II, III и IV группы). При установленной норме скармливания 0,44 кг/сутки итоговое потребление молока разными опытными группами за период исследования составило 4,4; 8,8 и 13,2 кг, соответственно. Рацион телят состоял из цельного коровьего молока (42,2–43,5%) комбикорма КР-2 (49,5–51,0%) и сенажа (7,0–7,2%).

Рацион подопытных телят представлен в таблице 1.

Анализ динамики потребления кормов продемонстрировал полную поедаемость молочных рационов телятами, без остатка. Сенаж и комбикорм животные получали вволю.

В опытных группах зафиксировано статистически значимое повышение поедаемости комбикорма на 2,4–6,4%, а сенажа – на 3–6%. Данные показатели могут свидетельствовать о стимуляции потребления, обусловленной введением в рацион исследуемого компонента.

Потребление сухих веществ подопытным молодняком находилось на уровне 2 кг/голову. В сухом веществе рациона содержалось 1,5 корм. ед. и 13 МДж обменной энергии, 19% протеина 9% клетчатки.

В процессе проведения исследований у трех животных из каждой группы были взяты образцы крови. Как показали исследования, животные были клинически здоровы, все гематологические показатели находились в пределах физиологических норм. Данные показатели представлены в таблице 2.

Таблица 1. – Среднесуточный рацион подопытных телят (по фактически съеденным кормам)

Корма и питательные вещества	Группа животных			
	I	II	III	IV
Сенаж злаковых многолетних, кг	0,67	0,65	0,69	0,71
Комбикорм КР-2, кг	1,25	1,28	1,32	1,33
Молоко, цельное, кг	4,30	4,22	4,15	4,08
Размороженное молоко коз-продуцентов лактоферрина, кг	–	0,44	0,44	0,44
Продолжительность выпойки, сут.	–	10	20	30
В рационе содержится:				
Корм. ед.	2,97	2,99	3,04	3,06
Обменная энергия, МДж	25,9	26,1	26,7	26,9
Сухое вещество, кг	1,95	1,97	2,02	2,04
Сырой протеин, г	368,6	371,8	379,3	381,3
Сырой жир, г	204,1	204,4	206,1	206,7
Сырая клетчатка, г	178,9	177,7	186,3	190,0
БЭВ, г	1084,9	1097,4	1129,1	1139,0
Кальций, г	16,86	17,01	17,43	17,57
Фосфор, г	11,46	11,57	11,79	11,86
Магний, г	3,49	3,52	3,64	3,69
Калий, г	20,52	20,57	21,19	21,43
Сера, г	5,07	5,12	5,25	5,29
Железо, мг	183	184	190	193
Медь, мг	17,76	18,08	18,65	18,81
Цинк, мг	98,9	100,5	103,5	104,4
Марганец, мг	143	145	150	152
Кобальт, мг	1,68	1,71	1,76	1,77
Йод, мг	1,08	1,09	1,13	1,14

Таблица 2. – Гематологические показатели подопытных телят

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Эритроциты, 10/12/л	7,76±0,13	7,98±0,10	8±0,08	7,94±0,15
Лейкоциты 10 9/л	10,01±0,14	9,62±0,11	9,41±0,11	9,53±0,18
Тромбоциты, 109/л	385±1,45	365±5,21*	372±7,840	358±12,17
Гемоглобин, г/л	117±2,53	122±1,120	119±2,860	122±4,20
Общий белок г/л	64,1±0,42	64,5±0,53	65,5±0,74	64,7±0,70
Альбумины г/л	30,8±0,36	31,2±0,93	31,0±0,66	30,0±0,54
Глобулины, г/л	33,3±0,78	33,3±0,49	34,5±0,37	34,7±1,16
Мочевина, мМоль/л	4,02±0,07	3,84±0,06	3,89±0,07	3,83±0,07
АЛТ, ед/л	32,25±1,24	33,18±0,84	32,66±0,09	30,81±0,12
АСТ ед/л	43,21±1,06	42,55±1,26	41,97±1,21	41,96±0,81
Глюкоза, мМоль/л	3,66±0,03	3,59±0,08	3,56±0,08	3,51±0,05
Кальций, ммоль/л	2,86±0,03	2,83±0,06	2,83±0,05	2,79±0,05
Фосфор, мМоль/л	1,88±0,05	1,85±0,030	1,87±0,02	1,89±0,01
Железо, мкмоль/л	23,29±0,61	23,46±0,50	23,02±0,55	24,06±0,46
Гематокрит, %	37,45±0,37	37,997±0,81	38,69±0,55	39,48±0,70

Примечание – \* $P < 0,05$ , при сравнении с контролем

Анализ гематологических показателей подопытных телят, получавших молоко коз-продуцентов рекомбинантного лактоферрина, не выявил существенных отклонений от физиологической нормы.

В опытных группах отмечена тенденция увеличения содержания эритроцитов на 2,3–3,1%, гемоглобина на 1,7–4,8 и гематокрита – на 1,5–5,4%, что свидетельствует об улучшении кислородно-транспортной функции крови и активизации эритропоэза.

Повышение глобулина – на 3,4–4,1% рассматривается как усиление гуморального иммунного ответа. В то же время снизилось содержание лейкоцитов на 3,9–6,6%, тром-

боцитов – на 5,0–7,0 %. – это показатель оптимизации воспалительных процессов в организме подопытных телят. Снижение мочевины – на 3,2–4,7% свидетельствует об улучшении белкового обмена, а снижение глюкозы – на 1,9–4,1% может быть связано с более оптимальным энергетическим обменом.

Контроль за изменением живой массы проводился путем взвешивания животных в начале и конце опыта. Показатели продуктивности телят представлены в таблице 3.

Отмечено достоверное увеличение среднесуточного прироста живой массы в третьей и четвертой группах на 7,8% и 8,7%.

Таблица 3. – Динамика живой массы и эффективность использования кормов подопытными телятами

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса, кг:				
в начале опыта	52,5±0,7	53,6±0,30	52,4±0,70	53±0,40
в конце опыта	96,2±0,8	98,5±0,90	99,5±0,9*	100,4±1,2*
Валовой прирост	43,6±0,9	44,9±0,90	47,1±0,9*	47,4±0,9*
Среднесуточный прирост	727,1±15,7	749±14,50	784,1±15,5*	790,3±14,8*
% к контролю	100	103,0	107,8	108,7
Затраты корма на 1 кг прироста, корм. ед.	4,08	3,99	3,88	3,87
% к контролю	100	97,9	95,1	94,9

Примечание – \* $P < 0,05$ , при сравнении с контролем

Во второй группе продуктивность увеличилась на 3,0%. В опытных группах затраты кормов снизились на 4,9–5,1%. Полученные данные свидетельствуют о том, что введение в состав рациона молока коз-продуцентов рекЛФ положительно влияет на продуктивность и эффективность использования питательных веществ рациона.

**Заключение.** По результатам научно-хозяйственного опыта на молодняке крупного рогатого скота в возрасте от 30 до 90 дней определено, что оптимальная продолжительность выпойки размороженным молоком коз-продуцентов рекЛФ составляет не менее 20 дней. Наибольший положительный эффект отмечается в группах, получавших молоко коз-продуцентов рекЛФ на протяжении 30 дней. Данный режим скармливания не вызывает негативных физиологических изменений. Следует отметить, что использование данного компонента в рационе телят экономически выгодно, поскольку это способствует повышению энергии роста животных на 7,8–8,7% и снижению затрат корма в среднем на 5%. Это свидетельствует о потенциале молока коз-продуцентов рекЛФ как эффективного стимулятора роста и фактора оптимизации конверсии корма, что положительно влияет на рентабельность производства.

#### Список использованных источников

1. Кердяшов, Н. Н. Современные технологии в животноводстве. Часть 3. Современные аспекты систем нормированного кормления животных : учебное пособие / Н. Н. Кердяшов [и др.] // Пенза : РИО ПГАУ – 2020. – № 3. – С. 36–47.
2. Волгин, В. И. Полноценное кормление молочного скота – основа реализации генетического потенциала продуктивности / В. И. Волгин [и др.]. – М.: РАН, – 2018. – С. 6–8.
3. Передня, В. И. Сбалансированное кормление – основа высокой продуктивности животных / В. И. Передня [и др.] // Научно-технический прогресс в сельскохозяйственном производстве: посвящённая 65-летию основания Научно-практического центра НАН Беларуси по механизации сельского хозяйства (г. Минск, 10–11 октября 2012 г.). Мин. – 2012.– С. 104–111.
4. Приловская, Е. И. Эффективность использования разных доз лактоферрина в кормлении телят / Е. И. Приловская [и др.] // Теория и практика современной аграрной науки : сборник VIII национальной (всероссийской) научной конференции с международным участием, г. Новосибирск, 24 февраля 2025 г. – Новосибирск : ИЦ НГАУ "Золотой колос". – 2025. – С. 551–554.
5. Гурин, В. К. Выращивание телят с использованием местных источников белкового и энергетического сырья / В. К. Гурин [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси. – 2013. – Т. 48. № 1. – С. 256–267.
6. Будевич, А. И. Физико-химические показатели молока коз-продуцентов рекомбинантного лактоферрина третьего и четвёртого года лактации / А. И. Будевич [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2019. – Т. 54, ч. 2. – С. 141–147.
7. Богданович, И. В. Переваримость и использование телятами питательных веществ рационов с включением ЗЦМ / И. В. Богданович // В сборнике: Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение. Сборник научных трудов международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Брянский государственный аграрный университет", Институт ветеринарной медицины и биотехнологии. – 2022. – С. 252–256.
8. Богданович, Д. М. Рекомендации по использованию молока коз-продуцентов рекомбинантного лактоферрина в рационах телят молочного периода / Д. М. Богданович [и др.] // Жодино. – 2021. – С. 20.

#### References

1. Kerdyashov N.K., Darin A.I. *Sovremennye tekhnologii v zhivotnovodstve. Chast 3. Sovremennye aspekty sistem normirovannogo kormleniya zhivotnyh* [Modern technologies in animal husbandry. Part 3. Modern aspects of standardized animal feeding systems]. Penza, Penzenskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet, 2020. 268 p. (In Russian)

2. Volgin V.I., Romanenko L.V., Prohorenko P.N., Fedorova Z.L., Korochkina E.A. *Polnocennoe kormlenie molochnogo skota - osnova realizacii geneticheskogo potenciala produktivnosti* [Complete feeding of dairy cattle is the basis for realizing the genetic potential of productivity]. Moscow, Rossijskaya akademiya nauk, 2018. 260 p. (In Russian)
3. Perednya V.I., Tarasevich A.M., Radchikov V.F., Gurin V.K., Caj V.P. *Sbalansirovannoe kormlenie osnova vysokoj produktivnosti zhivotnyh* [Balanced feeding as the basis for high animal productivity]. *Nauchno tehnicheskij progress v selskohozyajstvennom proizvodstve* [Scientific and technological progress in agricultural production]. Minsk, 2012, pp. 104–111. (In Russian)
4. Prilovskaya E.I., Radchikov V.F., Kot A.N., Petrushko E.V., Besarab G.V. *Ehffektivnost ispolzovaniya razlichnyh doz laktoferrina v kormlenii telyat* [Efficiency of using different doses of lactoferrin in feeding calves]. *Teoriya i praktika sovremennoj agrarnoj nauki* [Theory and practice of modern agricultural science]. Novosibirsk, 2025, pp. 551–554. (In Russian)
5. Gurin V.K., Radchikova G.N., Karelina V.V., Vozmitel L.A., Lukashevich V.V., Yanochkin I.V. *Vyrashchivanie telyat s ispolzovaniem mestnyh istochnikov belkovogo i ehnergeticheskogo syrya* [Growing of calves using local sources of protein and energy raw materials]. *Zootehnicheskaya nauka Belarusi* [Zootechnical Science of Belarus]. Zhodino, 2021, vol. 48, part 1, pp. 256–267. (In Russian)
6. Budevich A.I., Bogdanovich D.M., Petrushko E.V., Zaremba N.L. *Fiziko-himicheskie pokazateli moloka koz-producentov rekombinantnogo laktoferrina na tretem i chetvertom godah laktacii* [Physical and chemical parameters of milk of goats producing recombinant lactoferrin of the third and fourth year of lactation]. *Zootehnicheskaya nauka Belarusi* [Zootechnical Science of Belarus]. Zhodino, 2019, vol. 54, part 2, pp. 141–147. (In Russian)
7. Bogdanovich, I. V. *Perevarimost i ispolzovanie telyatami pitatelnyh veshchestv racionov soderzhashchih zamenitel celnogo moloka* [Digestibility and utilization of nutrients in diets containing milk replacer by calves]. *Problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva i ikh reshenie* [Problems of intensive development of animal husbandry and their solution]. Bryansk, 2022, pp. 252–256. (In Russian)
8. Bogdanovich D.M., Radchikov V.F., Budevich A.I., Petrushko E.V., Kot A.N., Prilovskaya E.I. *Rekomendacii po ispolzovaniyu moloka koz producentov rekombinantnogo laktoferrina v racionah telyat molochnogo perioda* [Recommendations for the use of milk of goats-producers of recombinant lactoferrin in diets of calves of the milk period]. Zhodino, Respublikanskie unitarnoe predpriyatiye «Nauchno prakticheskij centr Nacionalnoj akademii nauk Belarusi po zhivotnovodstvu», 2021. 20 p. (In Russian)

Received 15.10.2025

Научный редактор *С.В. Сухобокова*

Подписано в печать 12.12. 2025 г. Бумага типографская.

Формат 60×84/8. Гарнитура Times.

Усл. печ. л. 10,8. Уч.-изд. л. 7,1. Тираж 50. Заказ №. 505

Отпечатано в учреждении образования  
«Полесский государственный университет»  
225710, г. Пинск, ул. Днепровской флотилии, 23  
Лицензия № 02330/473 от 16 июля 2015.

## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. В журнале «Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта Серыя прыродазнаўчых навук» публикуются оригинальные результаты исследований по биологическим и сельскохозяйственным наукам (зоотехния; рыбное хозяйство).

2. Текст научной статьи должен быть подготовлен согласно «Инструкции по оформлению диссертации, авторефера и публикаций по теме диссертации» (в редакции Постановления ВАК Республики Беларусь № 4 от 15.08.2007 г. с последующими изменениями и дополнениями). На первой странице помещаются: УДК, фотография автора (авторов), инициалы и фамилия автора (авторов), ученаая степень, ученое звание, должность, наименование организации, которую он представляет, название рукописи. Далее следуют (на русском языке): структурированное авторское резюме оригинальной научной статьи (200-250 слов); ключевые слова (не более десяти), позволяющие индексировать данную статью в международных базах; текст рукописи, включающий графики и другой иллюстративный материал, список обозначений, список литературы. Далее (на английском языке): фамилия автора (авторов) и инициалы (транслитерация), ученаая степень, ученое звание, должность, наименование организации, название рукописи (перевод), «англоязычное», структурированное, оригинальное (не калька русскоязычного резюме) авторское резюме оригинальной научной статьи, ключевые слова (перевод), список литературы (References) на латинице (транслитерация и перевод).

Резюме обзорных статей могут не структурироваться, объем их должен составлять 150-200 слов.

Оригинальная научная статья должна содержать аннотацию (объем 250-500 знаков с пробелами) на русском и английском языках, в которой будет отражена научная новизна работы, ее отличительные особенности и достоинства. Для обзорных статей аннотация не требуется.

*Статья должна сопровождаться справкой о проверке на оригинальность (не более 30% самоцитирования и правомерного заимствования).*

В введении должен быть дан краткий обзор литературы по данной проблеме, указаны не решенные ранее вопросы, сформулирована и обоснована цель работы и, если необходимо, указана ее связь с важными научными и практическими направлениями.

Основная часть статьи должна содержать описание методики, аппаратуры, объектов исследования и подробно освещать содержание исследований, проведенных автором (авторами). Полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными. Основная часть статьи может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками). Иллюстрации, формулы, уравнения и сноски, встречающиеся в статье, должны быть пронумерованы в соответствии с порядком цитирования в тексте.

Список цитированных источников (литература) оформляется в соответствии с ГОСТ 7.1-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления». Ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте и даются порядковыми номерами в квадратных скобках (напр. [4]). При цитировании наряду со ссылкой на

порядковый номер указывается страница (напр. [7, с. 15]). Ссылка на неопубликованные работы не допускается.

3. Общий объем статьи должен составлять, как правило, не менее 0,35 авторского листа (14000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другие) и не должен превышать 15 страниц формата А4. Все материалы представляются распечатанными на белой бумаге в 2 экземплярах через 1,5 интервала, кегль 14 и в электронном виде (на CD-R, RW диске или диске 3,5 дюйма). Электронный вариант должен быть набран в текстовом редакторе Microsoft Word (исключая MS Word 2007) шрифтом Times New Roman без нумерации страниц. Рисунки, графики, формулы и схемы делаются в совместимых форматах. Текст на рисунках должен быть соизмерим с размером рисунка. Греческие символы должны быть прямыми, латинские буквы набираются курсивом, специальные символы берутся из гарнитуры «Symbol». Размерность всех величин должна соответствовать Международной системе единиц измерения (СИ).

4. Статьи принимаются и издаются на белорусском и русском языках. По согласованию с редакционной коллегией могут приниматься и издаваться статьи на других языках. На отдельном листе указываются сведения об авторах (фамилия, имя, отчество, ученаая степень, ученое звание, организация, должность, адрес, телефон, электронная почта) на английском и русском языках. Аспиранты также должны указывать фамилию, инициалы, ученаую степень и ученое звание научного руководителя. Статья сопровождается направлением учреждения, в котором выполнены исследования (выписка из протокола заседания кафедры), и экспертным заключением о возможности опубликования результатов исследования в открытой печати (для магистрантов, аспирантов, кандидатов наук).

5. По решению редколлегии статья направляется на рецензию, затем визируется членом редколлегии и рассматривается на заседании редколлегии. Возвращение статьи автору на доработку не означает, что она принята к печати. Переработанный вариант статьи снова рассматривается редколлегией. Датой поступления считается день получения редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право вносить в текст статьи редакционные правки. Материалы, не соответствующие требованиям редакции, к рассмотрению не принимаются.

6. Авторы статей несут ответственность за направление в редакцию уже ранее опубликованных статей или статей, принятых к печати другими изданиями. Плата за опубликование научных статей в журнале не взимается. Редакция журнала не вступает в дискуссию с авторами по поводу рассмотрения отдельных работ (статей).

7. Авторы, чьи статьи будут опубликованы в журнале, автоматически дают согласие УО ПолесГУ на право использования электронных копий статей, в том числе право на размещение электронных копий статей в базах данных, представленных в виде научных информационных ресурсов сети Интернет, право на извлечение метаданных (название, автора (правообладателя), аннотации, библиографические материалы и пр.) статьи и использование их для наполнения баз данных.

## RULES FOR AUTHORS

1. The journal "Vesnik of Palesky State University. Series in Natural Sciences" includes original results of research on the biological and agricultural sciences (zootechnics; fishing industry).

2. The text of the scientific article should be prepared in accordance with the "Instructions for registration of dissertation, abstracts and publications on the topic of the thesis" (in the wording of the HAC of the Republic of Belarus № 4 of 15.08.2007, as amended and supplemented). On the first page put: UDC, Photo author (s), initials and surname of the author (s), academic degree, academic rank, position, name of the represented organization, the title of the publication. Followed by (in Russian): the author structured summary of the original scientific article (230–250 words); keywords (no more than ten), allowing to index this article in international databases; the text of the publication, including graphs and other illustrations, list of symbols, references. Then (in English): the name of the author(s) and initials (transliteration), academic degree, academic rank, position, name, title of the publication (translation), "English-speaking" structured, original (not tracking the Russian-language summary) copyright of the summary of the original scientific article, keywords (translation), references (References) in Latin (transliteration and translation).

The summary of the review articles may not be structured, but should be 150 to 200 words in length.

The original scientific article should contain an abstract (250–500 characters with spaces) in Russian and English, which will reflect the scientific novelty of the work, its distinctive features and advantages. The abstract is not required for the review articles.

*The article must be accompanied by a certificate of originality check (no more than 30% self-citation and legitimate borrowing is allowed).*

The introduction should be brief review of the literature on this issue, given in the previously unresolved issues, formulate and justify the purpose of work and, if necessary, indicate its connection with various scientific and practical areas.

The main part of the article should contain a description of the methodology, tools, research facilities and to cover fully the content of the research conducted by the author (authors). The obtained results shall be discussed in terms of their scientific novelty and compared with corresponding known data. The main part of the article can be divided into sub-sections (with explanatory titles). Illustrations, formulas, equations and footnotes found in the article should be numbered in accordance with the order of citation in the text.

The list of cited sources (literature) is to be made in accordance with GOST 7.1–2003 "Bibliographic record. The bibliographic description. General requirements and rules. «Links are numbered in the order of citation in the text and are given serial numbers in square brackets (eg. [4]). When quoting, along with the reference to the serial number indicate the page (eg. [7, p. 15]). References to unpublished works are not allowed.

3. The total volume of the article should be, as a rule, not less than 0.35 copyright page (typed 14,00 characters, including spaces between words, punctua-

tion, numbers, etc.) and should not be more than 15 A4 pages. All materials submitted to be printed on white paper 2 samples 1.5 spacing, font size 14 and in electronic form (on CD-R, RW drive or 3.5-inch floppy disk). The electronic version must be typed in text editor Microsoft Word (except for MS Word 2007), Times New Roman font without pagination. Figures, graphs, formulas and diagrams are to be made in compatible formats. The text in the figures must be commensurated with the size of the drawing. Greek characters should be straight; letters are typed in italics, special characters are of headsets «Symbol». The dimension of all sizes must comply with the International System of Units (SI).

4. Articles are accepted and published in Belarusian and Russian languages. In agreement with the editorial board articles in other languages may be received and published. A separate sheet shall contain information about authors (surname, first name, academic degree, title, organization, position, address, phone, e-mail) in English and Russian languages. Graduate students must also indicate the name, initials, academic degree and academic rank, scientific significance. The article is accompanied by the direction of the institution in which the research was carried out (extract from the minutes of the meeting of the department), and expert opinion on the possibility of publishing the results of studies in the press (for undergraduates, graduate students, PhDs).

5. By decision of the editorial board the article is sent for review, and then vised by member of the editorial board and is considered at a meeting of the editorial board. Returning to the article to the author for revision does not mean that it is accepted for publication. The revised article is again considered by the Editorial Board. The date shall be the date of receipt edition issued the final version of the article. The editors reserve the right to make editorial changes in the article. Materials that do not meet the requirements of the editorial board, will not be accepted.

6. Authors of articles are responsible for the editorial direction in previously published papers or papers accepted for publication elsewhere. The fee for the publication of scientific articles in the journal will be charged. The editorial board does not enter into a discussion with the authors about the examination of individual works (articles).

7. The authors whose articles are published in the journal automatically give consent to Polessky State University for the right to use electronic copies of the articles, including the right to make electronic copies of articles in databases, presented in the form of scientific information resources of the Internet, the right to extract metadata (title, author (owner), annotation, bibliographical material and so on.) articles and use them to populate the database.