

ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

МИНСК. БЕЛОРУССКАЯ НАУКА. 2022. ТОМ 66. № 2

Выходит шесть номеров в год

Журнал основан в июле 1957 года

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 387 от 18.05.2009.

*Входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь
для опубликования результатов диссертационных исследований, включен в базу данных
Российского индекса научного цитирования (РИНЦ)*

Главный редактор

Владимир Григорьевич Гусаков

Председатель Президиума Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

Редакционная коллегия

А. В. Кильчевский

заместитель Председателя Президиума Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
(заместитель главного редактора)

Т. П. Петрович

(ведущий редактор журнала)

С. В. Абламейко – Белорусский государственный университет, Республика Беларусь

П. А. Витязь – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

И. Д. Вологовский – Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси,
Республика Беларусь

С. В. Гапоненко – Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований, Республика Беларусь

А. Я. Григорьев – Институт механики металлополимерных систем имени В. А. Белого Национальной академии
наук Беларуси, Республика Беларусь

С. В. Губкин – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

А. Е. Дайнеко – Белорусский национальный технический университет, Республика Беларусь

Н. Желев – Абертейский университет, Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии

В. Г. Залесский – Физико-технический институт Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

А. И. Иванец – Министерство образования Республики Беларусь, Республика Беларусь

Н. С. Казак – Научно-производственное объединение «Оптика, оптоэлектроника и лазерная техника»,
Республика Беларусь

Н. Н. Казанский – Институт лингвистических исследований Российской академии наук, Российская Федерация

С. П. Карпов – Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Российская Федерация

С. Я. Килин – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

(заместитель главного редактора)

А. А. Коваленя – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

В. И. Корзюк – Белорусский государственный университет, Республика Беларусь

В. В. Лапа – Институт почвоведения и агрохимии Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

М. Ларссон – Университетский научный центр Алба Нова Стокгольмского университета, Королевство Швеция

- А. П. Ласковнев** – Физико-технический институт Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
В. Ф. Логинов – Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
Г. Маркрам – Институт мозга, Центр неврологии и технологии Швейцарского федерального института технологий, Швейцария
А. А. Махнач – Институт геологии, Республика Беларусь
А. Г. Наумовец – Институт физики Национальной академии наук Украины, Украина
В. А. Орлович – Институт физики им. Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
В. Н. Пармон – Российская академия наук, Российская Федерация
О. Г. Пенязьков – Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
И. Д. Рашаль – Институт биологии Латвийского университета, Латвийская Республика
Б. А. Ривжа – Латвийская академия сельскохозяйственных и лесных наук, Латвийская Республика
В. А. Садовничий – Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Российская Федерация
А. М. Сергеев – Российская академия наук, Российская Федерация
Н. С. Сердюченко – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
В. И. Торчик – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
А. В. Тузиков – Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
Тяю Ван Минь – Вьетнамская академия наук и технологий, Социалистическая Республика Вьетнам
С. А. Усанов – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
Ю. С. Харин – Научно-исследовательский институт прикладных проблем математики и информатики, Республика Беларусь
Л. В. Хотылева – Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
А. Цайлингер – Австрийская академия наук, Австрийская Республика
С. А. Чижик – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
(*заместитель главного редактора*)
И. П. Шейко – Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству, Республика Беларусь
В. И. Янчевский – Институт математики Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

Адрес редакции:

*ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, Минск, Республика Беларусь.
Тел.: +375 17 272-19-19; e-mail: doklady_nanb@mail.ru
doklady.belnauka.by*

ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ. 2022. Т. 66. № 2

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор Т. П. Петрович
Компьютерная верстка Н. И. Кашуба

Сдано в набор 20.04.2022. Выпуск в свет 27.04.2022. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 142 экз. Заказ 76.

Цена: индивидуальная подписка – 12,67 руб.; ведомственная подписка – 29,77 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск.

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука».
Доклады НАН Беларуси, 2022

DOKLADY OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MINSK. BELARUSKAYA NAVUKA. 2022. Vol. 66. No. 2

Published bimonthly

The journal has been published since July, 1957

Founder – National Academy of Sciences of Belarus

The journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus
in the State Registry of Mass Media, reg. no. 387.

*The journal included in the List of Journal for Publication of the Results of Dissertation Research
in the Republic of Belarus and in the Database of Russian Science Citation Index (RSCI)*

E d i t o r - i n - C h i e f

Vladimir G. Gusakov

Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

E d i t o r i a l B o a r d

Alexander V. Kilchevsky

Vice Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences
of Belarus, Republic of Belarus (*Associate Editor-in-Chief*)

Tatiana P. Petrovich

(*Lead editor*)

Sergey V. Ablameyko – Belarusian State University, Republic of Belarus

Chau Van Minh – Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Sergey A. Chizhik – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

(*Associate Editor-in-Chief*)

Alexey Ye. Dayneko – Belarusian National Technical University, Republic of Belarus

Sergey V. Gaponenko – Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, Republic of Belarus

Andrey Ya. Grigoriev – Institute of Mechanics of Metal-Polymeric Systems named after V. A. Bely of the National
Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

Sergey V. Gubkin – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

Andrei I. Ivanets – Ministry of education of the Republic of Belarus, Republic of Belarus

Sergey P. Karpov – Lomonosov Moscow State University, Russian Federation

Nikolay S. Kazak – State Research and Production Association “Optics, Optoelectronics and Laser Technics”,
Republic of Belarus

Nikolay N. Kazansky – Institute for Linguistic Studies of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation

Yuri S. Kharin – Research Institute of Applied Problems of Mathematics and Informatics, Republic of Belarus

Lyubov V. Khotylova – Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Republic of Belarus

Sergey Ya. Kilin – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

(*Associate Editor-in-Chief*)

Viktor I. Korzuyk – Belarusian State University, Republic of Belarus

Alexander A. Kovalenya – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Vitaly V. Lapa – Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Mats Larsson – Alba Nova University Center of the University of Stockholm, Sweden
Alexander P. Laskovnev – Physical-Technical Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Vladimir F. Loginov – Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Anatoly A. Makhnach – Institute of Geology, Republic of Belarus
Henry Markram – Brain Institute, Center for Neurology and Technology of the Swiss Federal Institute of Technology, Switzerland
Anton G. Naumovets – Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine
Valentin A. Orlovich – B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Valentin N. Parmon – Russian Academy of Sciences, Russian Federation
Oleg G. Penyazkov – A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Isaak D. Rashal – Institute of Biology of the University of Latvia, Latvia
Baiba A. Rivza – Latvian Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Latvia
Viktor A. Sadovnichiy – Lomonosov Moscow State University, Russian Federation
Nikolay S. Serdyuchenko – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Alexander M. Sergeev – Russian Academy of Sciences, Russian Federation
Ivan P. Sheyko – Scientific and Practical Center for Animal Breeding, Republic of Belarus
Vladimir I. Torchik – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Alexander V. Tuzikov – United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Sergey A. Usanov – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Petr A. Vityaz – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Igor D. Volotovskiy – Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Vitali G. Zaleski – Physical-Technical Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
Anton Zeilinger – Austrian Academy of Sciences, Austria
Nikolas Zhelev – Abertay University, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland

Address of the Editorial Office:

1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.

Phone: +375 17 272-19-19; e-mail: doklady_nanb@mail.ru

doklady.belnauka.by

DOKLADY OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS. 2022. Vol. 66. No. 2

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor T. P. Petrovich
Computer Imposition N. I. Kashuba

Sent for press 20.04.2022. Output 27.04.2022. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 142 copies. Order 76.
Price: individual subscription – 12.67 BYN, departmental subscription – 29.77 BYN.

Publisher and printing execution:

Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka".
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer, distributor of printing editions
no. 1/18 dated of August 2, 2013. License for press no. 02330/455 dated of December 30, 2013.
40, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka".
Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

МАТЕМАТИКА

- Лебедев А. В., Ромащенко Г. С., Забрейко П. П.** Основная теорема финансовой математики: усиленная версия и область поиска мартингалльных мер 135

ФИЗИКА

- Пархоменко И. Н., Власукова Л. А., Комаров Ф. Ф., Константинов С. В., Зайков В. А., Пилько В. В.** Влияние облучения протонами на механические, структурные и оптические свойства покрытия TiAlN..... 141
- Кулакович О. С., Гуринович Л. И., Троцюк Л. Л., Романенко А. А., Хонгбо Ли, Матвеевская Н. А., Гапоненко С. В.** Управление фотостабильностью полупроводниковых квантовых точек с помощью наночастиц золота 148

ХИМИЯ

- Андрианов А. М., Фурс К. В., Юшкевич А. М., Гончар А. В., Тузиков А. В.** *In silico* скрининг потенциальных ингибиторов SARS-CoV-2, блокирующих тример HR1 белка S коронавируса 156
- Иванец А. И., Шашкова И. Л., Китикова Н. В., Дроздова Н. В., Дикая А. С.** Сорбционные свойства фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg по отношению к ионам Sr(II) 167
- Бритиков В. В., Бритикова Е. В., Бочаров Э. В., Бершакский Я. В., Кузьмина Н. В., Бойко К. М., Усанов С. А.** Физико-химические свойства Δ3-12 цистеин-обедненного цитохрома P450 3A4 с аминокислотной заменой S291C 176

БИОЛОГИЯ

- Мальшева О. М., Михаленко Е. П., Сухарева А. П., Артюшевская М. В., Гомолко К. А., Кильчевский А. В.** Генетический полиморфизм белков сурфактанта SP-B и SP-C у недоношенных новорожденных с дыхательными осложнениями 187
- Семенченко В. П.** Скорость воспроизводства *Cladocera* и ее связь с размерной структурой фитопланктона 195
- Ламан Н. А., Кем К. Р., Анникеев В. И., В. Н. Жабинский, Хрипач Н. Б.** Особенности действия брассиностероидов на растения в условиях солевого стресса 199

МЕДИЦИНА

- Висмонт Ф. И., Чепелев С. Н., Губкин С. В.** Об участии монооксида азота в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта посткондиционирования с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс 206
- Корнеева М. А., Семёник И. А., Рябцева С. Н.** Особенности экспрессии маркеров эластогенеза в ткани инвазивного протокового рака молочной железы до и после курсов химиотерапии 217

НАУКИ О ЗЕМЛЕ

- Матвеев А. В., Автушко М. И., Исаченко С. А.** О влиянии атмосферных осадков и лунно-солнечного гравитационного воздействия на концентрацию радона в поровом воздухе дисперсных грунтов 223

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Базров Б. М., Хейфец М. Л.** Компоновочный синтез на основе модульного принципа элементной базы мехатронных технологических комплексов 229
- Малеронок В. В., Ционенко Д. А., Алифанов А. В.** Численное моделирование процесса магнитно-импульсной обработки осевого режущего инструмента в ANSYS 237

АГРАРНЫЕ НАУКИ

- Василюк О. Я., Гридюшко И. Ф., Шейко И. П., Орловская Е. В., Квашевич С. М.** Роль и значение племенных свиней белорусской крупной белой породы в свиноводстве Беларуси 247

CONTENTS*MATHEMATICS*

- Lebedev A. V., Romashchenko G. S., Zabreiko P. P.** Fundamental theorem of asset pricing: a strengthened version and a martingale measure search area 135

PHYSICS

- Parkhomenko I. N., Vlasukova L. A., Komarov F. F., Konstantinov S. V., Zaikov V. A., Pilko V. V.** Effect of proton irradiation on the mechanical, structural, and optical properties of the TiAlN coating 141
- Kulakovich O. S., Gurinovich L. I., Trotsiuk L. L., Ramanenka A. A., Hongbo Li, Matveevskaya N. A., Gaponenko S. V.** Manipulation of the quantum dot photostability using gold nanoparticles 148

CHEMISTRY

- Andrianov A. M., Furs K. V., Yushkevich A. M., Gonchar A. V., Tuzikov A. V.** *In silico* screening of the potential SARS-CoV-2 inhibitors blocking the HR1 trimer of the coronavirus protein S 156
- Ivanets A. I., Shashkova I. L., Kitikova N. V., Drazdova N. V., Dzikaya A. S.** Sorption properties of Zr-Ca-Mg and Ti-Ca-Mg phosphates in relation to Sr(II) ions 167
- Britikov V. V., Britikova E. V., Bocharov E. V., Bershatsky Ya. V., Kuzmina N. V., Boyko K. M., Usanov S. A.** Physical and chemical properties of $\Delta 3-12$ cysteine-depleted cytochrome P450 3A4 with amino acid substitution of S291C 176

BIOLOGY

- Malyshava V. M., Mikhalenka A. P., Suharava A. P., Artsiusheuskaya M. V., Gomolko K. A., Kilchevsky A. V.** Genetic polymorphism of SP-B and SP-C surfactant proteins in preterm infants with respiratory complications 187
- Semenchenko V. P.** Birthrate of *Cladocera* and its relationship with the size structure of phytoplankton 195
- Laman N. A., Kem K. R., Anikeev V. I., Zhabinskii V. N., Khrupach N. B.** Features of the brassinosteroid effect on plants under salt stress 199

MEDICINE

- Vismont F. I., Chepelev S. N., Goubkin S. V.** Nitrogen monoxide participation in the mechanisms of realization of the infarction-limiting effect of post-conditioning using lactate during myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats 206
- Korneeva M. A., Siamionik I. A., Rjabceva S. N.** Expression features of the elastogenesis markers in the invasive ductal breast cancer tissue before and after chemotherapy 217

EARTH SCIENCES

- Matveyev A. V., Autushka M. I., Isachenko S. A.** Influence of atmospheric precipitation and lunisolar gravitational forces on radon concentrations in the air in the dispersive soil pores 223

TECHNICAL SCIENCES

- Bazrov B. M., Kheifetz M. L.** Layout synthesis based on the modular principle of the element base of mechatronic technological complexes 229
- Maleronok V. V., Tsionenko D. A., Alifanov A. V.** Numerical simulation of the magnetic-pulsed processing of axis cutting tools using ANSYS 237

AGRARIAN SCIENCES

- Vasilyuk O. Ya., Gridyushko I. F., Sheiko I. P., Orlovskaya E. V., Kvashevich S. M.** Role and significance of Belarusian Large White breed pigs in pig breeding in Belarus 247

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

МАТЕМАТИКА

MATHEMATICS

УДК 513.88
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-135-140>

Поступило в редакцию 17.02.2022
Received 17.02.2022

А. В. Лебедев, Г. С. Ромашенко, П. П. Забрейко

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

ОСНОВНАЯ ТЕОРЕМА ФИНАНСОВОЙ МАТЕМАТИКИ: УСИЛЕННАЯ ВЕРСИЯ И ОБЛАСТЬ ПОИСКА МАРТИНГАЛЬНЫХ МЕР

(Представлено членом-корреспондентом В. В. Гороховиком)

Аннотация. Представлена усиленная геометрическая версия «основной теоремы финансовой математики» для одношаговой модели финансовых рынков. Вскрыта принципиальная роль тотальных и неаннулирующих конусов, в терминах которых описываются условия существования мартингальных мер. На этой базе доказана «основная теорема финансовой математики» для p -суммируемых рынков.

Ключевые слова: арбитраж, мартингальная мера, оштукатуриваемый конус, тотальный конус, неаннулирующий конус

Для цитирования. Лебедев, А. В. Основная теорема финансовой математики: усиленная версия и область поиска мартингальных мер / А. В. Лебедев, Г. С. Ромашенко, П. П. Забрейко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 135–140. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-135-140>

Andrei V. Lebedev, Galina S. Romashchenko, Petr P. Zabreiko

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

FUNDAMENTAL THEOREM OF ASSET PRICING: A STRENGTHENED VERSION AND A MARTINGALE MEASURE SEARCH AREA

(Communicated by Corresponding Member Valentin V. Gorokhovich)

Abstract. In the article a strengthened version of the 'Fundamental Theorem of Asset Pricing' for a one-period market model is proven. The principal role in this result is played by total and nonannihilating cones.

Keywords: arbitrage, martingale measure, plastered cone, total cone, non-annulment cone

For citation. Lebedev A. V., Romashchenko G. S., Zabreiko P. P. Fundamental theorem of asset pricing: a strengthened version and a martingale measures search area. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 135–140 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-135-140>

Важную роль в теории финансовой математики играет так называемая основная теорема финансовой математики (в действительности серия результатов под таким названием), связывающая безарбитражные рынки (т. е. рынки, на которых невозможно безрисково получить доход с положительной вероятностью; точное определение дано ниже) с существованием мартингалов, порожденных мерами, эквивалентными исходной мере. Подробное описание состояния данной темы см., например, в [1; 2].

В [3; 4] описана геометрия банаховых объектов, составляющих базу «основной теоремы финансовой математики» для одношаговой модели финансовых рынков. Один из главных результатов [4] выписан в теореме 4 настоящего сообщения.

Двумя принципиальными условиями в данной теореме являются следующие: первое – непустота внутренней конуса $\dot{K}^* \neq \emptyset$, где K – конус «арбитражных возможностей» (конус доходов), и второе – рефлексивность подпространства $L = L^{**}$, где L – пространство «финансовых страте-

гий». Оба эти условия тривиально выполняются в стандартной ситуации, обычно рассматриваемой в «основной теореме финансовой математики», а именно, $K = L_{1+}$ – конус неотрицательных функций в $L_1(\Omega, P)$ и L – конечномерное подпространство (ср. теоремы 2 и 3 настоящего сообщения). В [4] показано, что при ослаблении условий на конус K (например, если $\overset{\circ}{K}^* = \emptyset$) мартингалность в общей ситуации исчезает из критерия безарбитражности рынка [4, теорема 5.5]. Одной из целей данной работы является анализ способов ослабления условий на конус K без потери мартингалной природы безарбитражных рынков. Мы показываем, что принципиальным условием, при котором мартингалность по прежнему присутствует в описании безарбитражных рынков, является существование тотальных и неаннулирующих конусов в K^* . Такие конусы дают возможность радикально уменьшить область поиска мартингалных мер. На конкретных примерах показано, что эта область может быть существенно меньше, чем $\overset{\circ}{K}^*$ и часто существует даже если $\overset{\circ}{K}^* = \emptyset$. Кроме того, в ряде ситуаций это позволяет усилить теоремы 2, 3 и 4. В частности, мы доказываем соответствующую «основную теорему финансовой математики» для p -суммируемых рынков, где $\overset{\circ}{K}^* = \emptyset$.

Стимулирующий пример – одношаговая модель. Геометрическая формулировка «основной теоремы финансовой математики». Одношаговая модель финансового рынка описывается следующим образом. Пусть (Ω, F, P) – вероятностное пространство (пространство (возможных) сценариев). Через $S := (S^1, \dots, S^d)$ обозначается семейство случайных величин на (Ω, F, P) , рассматриваемых в качестве возможных дисконтированных цен в заданный момент будущего t_1 . Предполагаем, что все рассматриваемые случайные величины суммируемы, т. е. $S_i \in L_1(\Omega, P)$. Начальный инвестиционный портфель – это вектор $\xi := (\xi^1, \dots, \xi^d) \in \mathbb{R}^d$. Цена портфеля в момент t_1 – случайная величина $\xi S = \sum_{i=1}^d \xi^i S^i(\omega)$. Говорят, что на рынке отсутствует арбитраж, если неравенство $\xi S \geq_{\text{a.e.}} 0$ (относительно меры P) влечет равенство $\xi S \geq_{\text{a.e.}} 0$. Геометрически это означает, что

$$\text{на рынке отсутствует арбитраж} \Leftrightarrow L \cap L_{1+} = \{0\},$$

где $L := \{\xi S, \xi \in \mathbb{R}^d\}$ – подпространство, порожденное системой цен S^i , $i=1, 2, \dots, d$, и $L_{1+} := \{f \in L_1(\Omega, P), f \geq 0\}$ – конус неотрицательных функций.

Меры P и Q на (Ω, F) называются эквивалентными (обозначение $Q \approx P$), если $P(A) = 0 \Leftrightarrow Q(A) = 0$. Для рассматриваемой одношаговой модели известно следующее описание отсутствия арбитража.

Т е о р е м а 1 (Основная теорема финансовой математики [5, теорема 1.6]). *Для вышеописанных объектов следующие два условия эквивалентны:*

- 1) на рынке отсутствует арбитраж,
- 2) существует мера $P^* \approx P$ с ограниченной производной Радона–Никодима $\frac{dP^*}{dP}$, такая что

$$E_{P^*}(S^i) = \int_{\Omega} S_i dP^* = \int_{\Omega} S_i \left(\frac{dP^*}{dP} \right) dP = 0, \quad i=1, \dots, d; \quad (1)$$

здесь $E_{P^*}(S^i)$ – математическое ожидание для S^i .

Если выполняется условие (1), то P^* называется мартингалной (или риск-нейтральной) мерой. Таким образом, теорема 1 может быть переписана следующим образом: *на рынке отсутствует арбитраж* \Leftrightarrow *существует мартингалная мера $P^* \approx P$ с ограниченной $\frac{dP^*}{dP}$.*

В настоящем сообщении мы получим усиление этого результата (теорема 5). Для этого нам потребуются геометрическая переформулировка теоремы 1.

Рассмотрим банахово пространство $L_1(\Omega, P)$. Как известно, для сопряженного пространства $L_1(\Omega, P)^*$ мы имеем $L_1(\Omega, P)^* = L_{\infty}(\Omega, P)$. Здесь элемент $x^* \in L_{\infty}(\Omega, P)$ идентифицируется с функционалом (элементом из $L_1(\Omega, P)^*$) с помощью спаривания $\langle x^*, u \rangle = \int_{\Omega} u x^* dP$, $u \in L_1(\Omega, P)$.

Рассмотрим конус L_{1+} неотрицательных функций в $L_1(\Omega, P)$. Через $L_{1+}^* \subset L_1(\Omega, P)^* = L_{\infty}(\Omega, P)$ мы обозначаем конус неотрицательных функционалов на L_{1+} , т. е.

$$L_{1+}^* := \{x^* \in L_\infty(\Omega, P) : \langle x^*, u \rangle \geq 0 \text{ для каждого } u \in L_{1+}\}.$$

Очевидно, L_{1+}^* совпадает с конусом $L_{\infty+}$ неотрицательных функций из $L_\infty(\Omega, P)$, т. е.

$$L_{1+}^* = L_{\infty+} := \{x^* \in L_\infty(\Omega, P), x^* \geq 0\}. \quad (2)$$

Обозначим через $\tilde{L}_{\infty+}$ конус

$$\tilde{L}_{\infty+} := \{x^* \in L^\infty(\Omega, P), x^* >_{\text{a.e.}} 0\}. \quad (3)$$

Через $L^\perp \subset L_1(\Omega, P)^*$ мы обозначим подпространство функционалов равных нулю на L (L – подпространство, порожденное векторами $S^i, i = 1, \dots, d$).

Как показано в [3] теорема 1 может быть переписана в следующем виде.

Т е о р е м а 2 (геометрическая формулировка теоремы 1 [3, теорема 2]). *Для вышеописанных объектов следующие два условия эквивалентны:*

- 1) $L \cap L_{1+} = \{0\}$ (= арбитраж отсутствует);
- 2) $L^\perp \cap \tilde{L}_{\infty+} \neq \emptyset$ (= существует мартингальная мера).

Кроме того, в [3] была, в частности, получена уточненная версия этого результата. А именно, рассмотрим конус

$$\overset{\circ}{L}_{\infty+} = \{x^* \in L_{\infty+} : x^* \text{ существенно отделен от нуля}\}.$$

Ясно, что $\overset{\circ}{L}_{\infty+} \subset \tilde{L}_{\infty+}$ и $\overset{\circ}{L}_{\infty+}$ – не что иное, как внутренность конуса $L_{\infty+}$ (2).

Т е о р е м а 3 (уточнение теоремы 2 [3, теорема 9]). *Для описанных выше объектов следующие условия эквивалентны:*

- 1) $L \cap \overset{\circ}{L}_{\infty+} = \{0\}$ (= арбитраж отсутствует);
- 2) $L^\perp \cap \overset{\circ}{L}_{\infty+} \neq \emptyset$ (= существует мартингальная мера (уточненное условие)).

Основной целью [4] был анализ геометрической природы феноменов типа отсутствия арбитража в банаховых пространствах. Напомним, что конус K со свойством $K^* \neq \emptyset$ называется *оштукатуриваемым*. Ряд критериев оштукатуриваемости конусов приведен в [4, теорема 3.5]. Главным результатом [4] является

Т е о р е м а 4 (геометрия моделей безарбитражных рынков: оштукатуриваемые конусы и рефлексивные подпространства [4, теорема 4.4]). *Пусть E – банахово пространство, $K \subset E$ – оштукатуриваемый конус, G – любая его база и $L \subset E$ – замкнутое подпространство, такое что его замкнутый единичный шар компактен в слабой топологии (т. е. L – рефлексивное подпространство). Для вышеупомянутых объектов следующие четыре условия эквивалентны:*

- 1) $L \cap K = \{0\}$ (арбитраж отсутствует);
- 2) $\rho(G, L) > 0$ (любая база арбитражных возможностей удалена от пространства финансовых стратегий);
- 3) $L^\perp \cap \overset{\circ}{K}^* \neq \emptyset$ (существует мартингальная мера (уточнённое условие));
- 4) $L^\perp + \overset{\circ}{K}^* = E^*$, где E^* – сопряженное пространство к E .

Как отмечено во введении, в общей ситуации при ослаблении условий на K (например, если мы не предполагаем выполнения условия $\overset{\circ}{K}^* \neq \emptyset$) мартингальность исчезает из критерия безарбитражности рынка: в общей ситуации нет условия типа условия 3) в теореме 4, а имеет место только некоторый аналог условия 2) (см. [4, теорема 5.5]).

Основные результаты сообщения представлены в следующем разделе, где мы проводим анализ ослабления условий на K без потери мартингальной природы безарбитражных рынков. Кроме того, мы обнаружим, что в ряде ситуаций теоремы 2, 3 и 4 могут быть усилены.

Основная теорема финансовой математики: усиленная версия. Для формулировки результатов нам требуется ввести ряд объектов.

Пусть E – банахово пространство и $K \subset E$ – некоторый конус. Напомним, что *конусом* в векторном пространстве называется множество K , обладающее следующими двумя свойствами:

1) K – выпуклое множество;

2) для любого $x \in K$ и любого $0 < \lambda \in \mathbb{R}$ выполняется $\lambda x \in K$.

Как обычно, через K^* мы обозначаем конус неотрицательных функционалов на K , т. е.

$$K^* := \{x^* \in E^* : \langle x^*, u \rangle \geq 0 \text{ для любого } u \in K\},$$

где E^* – сопряженное пространство к E .

Пусть $K = \tilde{K}$ – замкнутый конус. Конус $\tilde{K} \subset K^*$ называется *тотальным*, если он обладает следующим свойством: если вектор $u \in E$ такой, что для любого $x^* \in \tilde{K}$ выполняется $\langle x^*, u \rangle \geq 0$, то $u \in K$. Множество всех тотальных конусов в K^* будем обозначать через $\mathbf{K}_{\text{tot}}^*$.

П р и м е р ы.

1. Ясно, что сам конус K^* является тотальным.

2. Если K^* имеет непустую внутренность $\overset{\circ}{K}^* \neq \emptyset$, то $\overset{\circ}{K}^*$ – тотальный конус. Действительно, в этом случае мы имеем $\overset{\circ}{K}^* = K^*$. Если $u \notin K$, то существует функционал $x^* \in K^*$, такой что $\langle x^*, u \rangle < 0$. Поэтому для функционалов $x^{*'} \in \overset{\circ}{K}^*$, которые достаточно близки к x^* , также выполняется $\langle x^{*'}, u \rangle < 0$.

3. В частности, если $L_{\infty+}$ – конус (2) неотрицательных функций в $L_{\infty}(\Omega, P)$, интерпретируемый как конус L_{1+}^* неотрицательных функционалов на конусе L_{1+} неотрицательных функций в $L_1(\Omega, P)$, то конус

$$\overset{\circ}{L}_{\infty+} = \{Q \in L_{1+}^* (= L_{\infty+}), Q \text{ существенно отделена от нуля}\} \quad (4)$$

является тотальным конусом.

4. Для конуса $L_{1+}^* = L_{\infty+}$ (2) рассмотрим еще один конус $\tilde{L}_{\infty+}$ (3). Ясно, что

$$\langle Q, f \rangle \geq 0 \text{ для каждой } Q \in \tilde{L}_{\infty+} \Leftrightarrow f \in L_{1+},$$

т. е. $\tilde{L}_{\infty+}$ – тотальный конус.

5. Пусть опять $L_{1+}^* = L_{\infty+}$ – конус (2) и \tilde{K} – конус простых положительных функций с конечным множеством значений, т. е. конечных сумм вида

$$f = \sum_i c_i \chi(A_i),$$

где $\Omega \supset A_i$ – измеримые множества, $\bigsqcup_i A_i = \Omega$ и $c_i > 0$.

Ясно, что \tilde{K} – тотальный конус.

Конус $\tilde{K} \subset K^*$ называется *неаннулирующим*, если он обладает следующим свойством: для любого $x^* \in \tilde{K}$ и каждого $0 \neq u \in K$ выполняется $\langle x^*, u \rangle > 0$. Множество всех неаннулирующих конусов в K^* обозначается через $\mathbf{K}_{\text{nan}}^*$.

6. Если K^* обладает непустой внутренностью $\overset{\circ}{K}^* \neq \emptyset$, то $\overset{\circ}{K}^*$ – неаннулирующий конус. Действительно, рассуждаем от противного: предположим, что $x^* \in \overset{\circ}{K}^*$ и $\langle x^*, u \rangle = 0$. Выберем любой функционал $y^* \in E^*$, такой что $\langle y^*, u \rangle = \alpha < 0$. Так как $x^* \in \overset{\circ}{K}^*$, то для достаточно малых положительных ε выполняется $x^* + \varepsilon y^* \in \overset{\circ}{K}^*$ и поэтому $\langle x^* + \varepsilon y^*, u \rangle = \varepsilon \alpha < 0$. Мы пришли к противоречию.

7. В частности, если $L_{1+}^* = L_{\infty+}$ – конус (2), то конус $\overset{\circ}{L}_{\infty+}$ (4) является неаннулирующим.

8. Для этого же конуса $L_{1+}^* = L_{\infty+}$ (2) конус $\tilde{L}_{\infty+}$ (3) также является неаннулирующим.

9. Пусть опять $L_{1+}^* = L_{\infty+}$ – конус (2) и \tilde{K} – конус простых положительных функций, имеющих конечные множества значений. Ясно, что \tilde{K} – неаннулирующий конус.

10. К сожалению, не для каждого конуса K выполняется $\mathbf{K}_{\text{nan}}^* \neq \emptyset$. Пусть, например, $K = L$ – линейное подпространство. В этом случае $L^* = L^{\perp}$. Поэтому для любого $x^* \in L^*$ и каждого $u \in L$ выполняется $\langle x^*, u \rangle = 0$.

Т е о р е м а 5 (основная теорема финансовой математики: усиленная версия). Пусть E – банахово пространство и $K, L \subset E$, где $K = \tilde{K}$ – замкнутый конус, а L – конечномерное линейное подпространство. Предположим, что $\mathbf{K}_{\text{tot}}^* \cap \mathbf{K}_{\text{nan}}^* \neq \emptyset$. Тогда для каждого конуса $\tilde{K} \in \mathbf{K}_{\text{tot}}^* \cap \mathbf{K}_{\text{nan}}^*$ следующие условия эквивалентны:

1) $L \cap K = \{0\}$ (= арбитраж отсутствует);

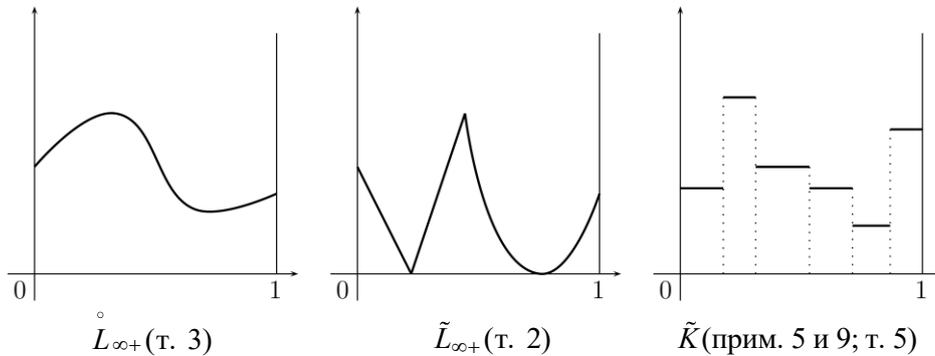
2) $L^\perp \cap \tilde{K} \neq \emptyset$ (= существует мартингальная мера (усиленное условие)).

Отметим, что вышеприведенные примеры 2 и 6 показывают, что в случае, когда конус K^* обладает непустой внутренностью $\overset{\circ}{K}^* \neq \emptyset$, выполняется $\overset{\circ}{K}^* \in \mathbf{K}_{\text{tot}}^* \cap \mathbf{K}_{\text{nan}}^*$. Поэтому из теоремы 5 для конечномерного пространства L , в частности, следует эквивалентность 1) и 2) в теореме 3.

Следующий рисунок иллюстрирует различия между теоремами 2, 3 и 5 с помощью конусов \tilde{K} из примеров 5 и 9. Отметим, что в общей ситуации имеют место следующие связи между конусами $\tilde{L}_{\infty+}$ (теорема 2), $L_{\infty+}$ (теорема 3) и \tilde{K} (примеры 5 и 9):

$$\tilde{L}_{\infty+} \underset{\neq}{\supset} \overset{\circ}{L}_{\infty+} \underset{\neq}{\supset} \tilde{K}.$$

Поэтому теорема 5 является наиболее сильным утверждением среди вышеупомянутых результатов.



Подчеркнем, что свойство $\overset{\circ}{K}^* \neq \emptyset$ является довольно специальным (см. в связи с этим обсуждение этого свойства в [4, раздел 3]). Это свойство имеет место для конуса $L_{1+}^* = L_{\infty+}$ (2) (именно этот конус и используется в теореме 2). С другой стороны, если, например, мы рассматриваем аналогичные конусы L_{p+} неотрицательных функций в пространствах $L_p(\Omega, P)$, $1 \leq p < \infty$, то имеет место $\overset{\circ}{L}_{p+} = \emptyset$. Кроме того, для $1 \leq p < \infty$ мы имеем $L_{p+}^* = L_{q+}$, где $\frac{1}{q} + \frac{1}{p} = 1$ и мы полагаем $\frac{1}{\infty} = 0$. Заметим, однако, что для каждого конуса $K := L_{p+}$, $1 \leq p < \infty$ выполняется $\mathbf{K}_{\text{tot}}^* \cap \mathbf{K}_{\text{nan}}^* \neq \emptyset$. Действительно, например, следующие три конуса являются элементами этого множества:

- а) $\tilde{K}_1 = \{Q \in L_{q+}, Q \geq_{\text{a.e.}} 0\}$;
- б) $\tilde{K}_2 = \{Q \in \tilde{K}_1, Q \text{ существенно отделена от нуля}\}$;
- в) \tilde{K}_3 – конус простых положительных функций с конечными множествами значений.

Таким образом, из теоремы 5, в частности, вытекает следующий результат, который естественно рассматривать в качестве усиленной версии основной теоремы финансовой математики для p -суммируемых рынков.

Т е о р е м а 6 (основная теорема финансовой математики для p -суммируемых рынков). Пусть $K := L_{p+}$ – конус неотрицательных функций в $L_p(\Omega, P)$, $1 \leq p < \infty$, и $L \subset L_p(\Omega, P)$ – конечномерное линейное подпространство. Тогда для каждого из вышеупомянутых конусов \tilde{K}_i , $i=1, 2, 3$, следующие два условия эквивалентны:

- 1) $L \cap K = \{0\}$ (= арбитраж отсутствует);
- 2) $L^\perp \cap \tilde{K}_i \neq \emptyset$ (= существует мартингальная мера).

В завершении отметим, что представленный материал естественным образом порождает вопрос: существует ли общее описание конусов K , обладающих свойством $\mathbf{K}_{\text{tot}}^* \cap \mathbf{K}_{\text{nan}}^* \neq \emptyset$?

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Delbaen, F. *The Mathematics of Arbitrage* / F. Delbaen, W. Schachermayer. – Springer Finance, 2006. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-31299-4>
2. Schachermayer, W. The fundamental theorem of asset pricing / W. Schachermayer // *Encyclopedia of Quantitative Finance*. – 2010. – N 2. – P. 792–801. <https://doi.org/10.1002/9780470061602.eqf04002>
3. Забрэйко, П. П. Банахова геаметрыя моделаў фінансавых рынковаў / П. П. Забрэйко, А. В. Лебедев // Докл. Акад. наук. – 2017. – Т. 473, № 5. – С. 517–520.
4. Lebedev, A. V. Banach geometry of arbitrage free markets / A. V. Lebedev, P. P. Zabreiko // *Positivity*. – 2021. – Vol. 25, N 2. – P. 679–699. <https://doi.org/10.1007/s11117-020-00782-6>
5. Follmer, H. *Stochastic Finance: An Introduction in Discrete Time* / H. Follmer, A. Schied. – 2nd rev. and extended ed. – Berlin; New York; Walter de Gruyter, 2004. <https://doi.org/10.1515/9783110212075>

References

1. Delbaen F., Schachermayer W. *The Mathematics of Arbitrage*. Springer Finance, 2006. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-31299-4>
2. Schachermayer W. Fundamental theorem of asset pricing. *Encyclopedia of Quantitative Finance*, 2010, no. 2, pp. 792–801. <https://doi.org/10.1002/9780470061602.eqf04002>
3. Zabreiko P. P., Lebedev A. V. Banach geometry of financial market models. *Doklady Mathematics*, 2017, vol. 95, no. 2, pp. 164–167. <https://doi.org/10.1134/s106456241702020x>
4. Lebedev A. V., Zabreiko P. P. Banach geometry of arbitrage free markets. *Positivity*, 2021, vol. 25, no. 2, pp. 679–699. <https://doi.org/10.1007/s11117-020-00782-6>
5. Follmer H., Schied A. *Stochastic Finance: An Introduction in Discrete Time*. 2nd rev. and extended ed. Berlin, New York, Walter de Gruyter, 2004. <https://doi.org/10.1515/9783110212075>

Информация об авторах

Лебедев Андрей Владимирович – д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220050, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lebedev@bsu.by.

Ромашенко Галина Станиславовна – канд. физ.-мат. наук, доцент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220050, Минск, Республика Беларусь). E-mail: gal.romash@gmail.com.

Information about the authors

Lebedev Andrei V. – D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Head of the Department. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220050, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lebedev@bsu.by.

Romashchenko Galina S. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Associate Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220050, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gal.romash@gmail.com.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

ФИЗИКА
PHYSICS

УДК 53.043; 535.92
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-141-147>

Поступило в редакцию 15.02.2022
Received 15.02.2022

**И. Н. Пархоменко¹, Л. А. Власукова¹, академик Ф. Ф. Комаров²,
С. В. Константинов², В. А. Зайков¹, В. В. Пилько²**

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
²Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко
Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

**ВЛИЯНИЕ ОБЛУЧЕНИЯ ПРОТОНАМИ НА МЕХАНИЧЕСКИЕ,
СТРУКТУРНЫЕ И ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОКРЫТИЯ TiAlN**

Аннотация. Нитрид титана-алюминия (TiAlN) – многообещающий материал для применения в качестве защитных радиационно-стойких покрытий в космических аппаратах. В процессе эксплуатации такие покрытия подвергаются воздействию потока энергетических частиц. В представленной работе изучено влияние облучения протонами на механические, структурные и оптические свойства покрытия TiAlN, полученного методом магнетронного распыления. Показано, что облучение протонами дозой $5 \cdot 10^{16}$ ион/см² приводит к увеличению нанотвердости и модуля Юнга выше уровня сверхтвердости, тогда как дальнейшее увеличение дозы облучения (до $2 \cdot 10^{17}$ ион/см²) приводит к уменьшению данных величин. Методом профилометрии продемонстрировано сглаживание поверхности после облучения. Показано, что облучение протонами приводит к увеличению зеркального отражения. Диффузное отражение увеличивается в меньшей степени и только после облучения относительно низкими дозами протонов ($(2-5) \cdot 10^{16}$ ион/см²).

Ключевые слова: нитрид титана-алюминия, нанотвердость, модуль Юнга, профилометрия, зеркальное и диффузное отражение

Для цитирования. Влияние облучения протонами на механические, структурные и оптические свойства покрытия TiAlN / И. Н. Пархоменко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 141–147. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-141-147>

**Irina N. Parkhomenko¹, Liudmila A. Vlasukova¹, Academician Fadei F. Komarov², Stanislav V. Konstantinov²,
Valery A. Zaikov¹, Vladimir V. Pilko²**

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus
²A. N. Sevchenko Institute of Applied Physics Problems of the Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

**EFFECT OF PROTON IRRADIATION ON THE MECHANICAL, STRUCTURAL,
AND OPTICAL PROPERTIES OF THE TiAlN COATING**

Abstract. Titanium aluminium nitride (TiAlN) is a promising material for space application as protective, radiation-resistance coatings. During the operation in space such coatings are exposed to the flux of energetic particles. We present the results of the proton irradiation effect on the mechanical, structural, and optical properties of the TiAlN coating deposited by reactive magnetron sputtering. The irradiation with fluence of $5 \cdot 10^{16}$ ion/cm² results in an increase of Young's modulus and nanohardness above the superhard level, while a further fluence increase (up to $2 \cdot 10^{17}$ ion/cm²) results in a decrease of these parameters. Surface smoothing after proton irradiation has been demonstrated by profilometry. It is shown that irradiation with protons results in an increase of specular reflectance. Diffuse reflectance increases to a lesser extent and only after irradiation with relatively low proton fluences ($(2-5) \cdot 10^{16}$ ion/cm²).

Keywords: titanium aluminium nitride, nanohardness, Young's modulus, profilometry, specular and diffuse reflectance

For citation. Parkhomenko I. N., Vlasukova L. A., Komarov F. F., Konstantinov S. V., Zaikov V. A., Pilko V. V. Effect of proton irradiation on the mechanical, structural, and optical properties of TiAlN coating. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 141–147 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-141-147>

Введение. Известно, что покрытия на основе TiN обладают целым комплексом практически важных свойств – термической стабильностью, высокой твердостью и теплопроводностью, коррозионной и радиационной стойкостью и др. Покрытия TiN, модифицированные дополнительными компонентами, находят свое применение при механической обработке твердых и вязких металлов, в производстве медицинских имплантатов, защитно-декоративных покрытий, диффузионных барьеров для приборов микроэлектроники, при производстве селективных покрытий солнечных коллекторов, в ядерной энергетике и в космической промышленности. Благодаря легированию матрицы TiN алюминием покрытие TiAlN обладает более высокой твердостью и стойкостью к окислению при повышенных температурах [1]. В частности, TiAlN является перспективным материалом для создания защитных, радиационно-стойких покрытий, обеспечивающих надежную работу космических аппаратов, в частности терморегулирующих покрытий малых космических аппаратов. Однако для использования в космосе защитные покрытия должны отвечать жестким требованиям. Высоты орбит современных космических аппаратов составляют от нескольких сотен километров до ~35 тыс. км над поверхностью Земли. Эта область пространства перекрывается радиационными поясами Земли, так называемыми поясами Ван Аллена, удерживающими заряженные элементарные частицы. Во внутреннем поясе Ван Аллена (1000–12000 км) преобладают протоны с энергией в диапазоне от 500 кэВ до 10 МэВ. С учетом требования долговечности космической системы (10–15 лет) рассчитанная поглощенная доза протонного облучения при эксплуатации составляет $3 \cdot 10^{15}$ – $1 \cdot 10^{16}$ ион/см² [2]. Для проверки радиационной стойкости покрытий и других материалов ионные пучки могут быть сгенерированы с помощью современных ускорителей. В данной работе представлены результаты изучения эффекта протонного облучения на механические, структурные и оптические свойства покрытий TiAlN. Изучение оптических свойств представляет интерес как с точки зрения решения указанных выше прикладных задач [3; 4], так и оценки причин деградации механических характеристик [3].

Материалы и методы исследования. Покрытия TiAlN толщиной ~2 мкм наносились на подложки из нержавеющей стали марки 12X18H10T методом реактивного магнетронного распыления на модернизированной установке УВН 2М. Управление потоками аргона и азота в процессе нанесения покрытия осуществлялось системой автоматического управления на базе портативного спектрометра S100 (SOLAR LaserSystems, Беларусь). Для облучения наноструктурированных покрытий TiAlN использовался ускоритель легких ионов AN 2500 фирмы High Voltage Engineering Europe B. V. Имплантация проводилась при комнатной температуре ионами водорода H⁺ (протонами) с энергией 500 кэВ в диапазоне доз $1 \cdot 10^{16}$ – $2 \cdot 10^{17}$ ион/см². По данным моделирования в программном пакете TRIM-2013, при такой энергии пучка протоны останавливаются в стальной подложке с покрытием на глубинах до ~3 мкм. Температура образцов при облучении не превышала 373 К, чтобы исключить диффузионное перераспределение и аннигиляцию радиационно-индуцированных дефектов. Это обеспечивалось контролем уровня ионного тока на образцах, который не превышал 1–3 мкА/см².

Измерения механических свойств покрытий (твердость и модуль Юнга) производились методом наноиндентирования по методике Оливера и Фарра [5]. Был использован прибор Nano Hardness Tester (NHT2) фирмы CSM Instruments (Швейцария) с алмазным индентором Берковича. Измерения и построения кривых нагрузки–разгрузки осуществлялись при максимальной нагрузке на индентор 0,05 Н. При измерениях коэффициент Пуассона (ν) материала покрытий TiAlN был равен 0,3 [2].

Морфология поверхности исследовалась на оптическом профилометре. Параметры шероховатости оценивались по участкам профилограмм на базовой длине 1 мм.

Спектры отражения регистрировались на установке LAMBDA-1050 UV-VIS (Perkin Elmer) в диапазоне 190–2500 нм. Для измерения зеркального отражения при угле падения 8° использовалась универсальная приставка для анализа отражения с переменным углом (модуль URA). Спектры диффузного отражения регистрировались с помощью приставки «150 мм Интегрирующая сфера», обеспечивающей погрешность измерения по стандартному отклонению менее 0,1 % в видимом и ближнем ИК-диапазонах и 0,2 % в УФ-диапазоне.

Результаты и их обсуждение. Сформированные покрытия TiAlN имеют высокие механические характеристики: нанотвердость (H) 27,8 ГПа и модуль Юнга (E) 261,7 ГПа. На рис. 1, *a* представлено изменение нанотвердости и модуля Юнга покрытий в результате протонного облучения. Графики показывают, что сначала с ростом дозы облучения значения H и E возрастают, достигая максимальных значений при $5 \cdot 10^{16}$ ион/см², а при дальнейшем увеличении дозы постепенно снижаются. Так, облучение минимальной дозой $1 \cdot 10^{16}$ ион/см² повышает твердость TiAlN на 14 % (до 31,5 ГПа), а модуль Юнга на 40 % (до 366,1 ГПа). Максимальное увеличение механических характеристик происходит при облучении дозой $5 \cdot 10^{16}$ ион/см²: $H = 45$ ГПа и $E = 433$ ГПа. Важно отметить, что последние значения соответствуют критериям сверхтвердости (>40 ГПа) [6]. Последующее увеличение дозы облучения до $1 \cdot 10^{17}$ ион/см² и $2 \cdot 10^{17}$ ион/см² сопровождается снижением твердости до 32,8 и 20,5 ГПа, а также модуля Юнга до 357,4 и 246,1 ГПа соответственно. Таким образом, облучение дозой $5 \cdot 10^{16}$ ион/см² увеличивает H на 63 % и E на 65 %, а облучение максимальной дозой $2 \cdot 10^{17}$ ион/см² снижает H на 26 % и E на 6 % по сравнению с исходным образцом. Используя значения H , E и E^* , где $E^* = E / (1 - \nu^2)$, можно оценить отношение (H / E^*), представляющее собой индекс пластичности или ударную вязкость, а также сопротивление пластической деформации (H^3 / E^2) – характеристику трещиностойкости покрытия [2]. Изменения данных характеристик при облучении протонами также имеют нелинейный характер (рис. 1, *b*). При минимальной дозе облучения происходит снижение данных параметров. При облучении дозой $5 \cdot 10^{16}$ ион/см² данные значения возрастают до 0,114 и 0,487 ГПа соответственно. Дальнейшее увеличение дозы облучения приводит к деградации данных показателей: после облучения дозой $2 \cdot 10^{17}$ ион/см² $H / E^* = 0,092$ и $H^3 / E^2 = 0,142$ ГПа.

Улучшение значений механических характеристик обычно объясняют радиационным упрочнением и модифицированием структуры границ зерен вследствие стока дефектов к ним. При меньших дозах накопление дефектов приводит к повышению прочности по аналогии с наклепом сталей при пластической деформации. Дальнейшее ухудшение механических свойств обычно связывают с насыщением образца первичными дефектами, объединением их в комплексы, вплоть до зарождения наноразмерных блистеров (пузырьков) внедренного газа, и, как следствие, охрупчиванием материала. Для анализа структурных изменений при облучении исследовалась морфология поверхности методом профилометрии и спектры зеркального и диффузного отражения.

На рис. 2, *a* представлены профилограммы поверхности покрытия TiAlN до и после облучения. Шероховатость оценивалась по рассчитанным в программном комплексе величинам R_a

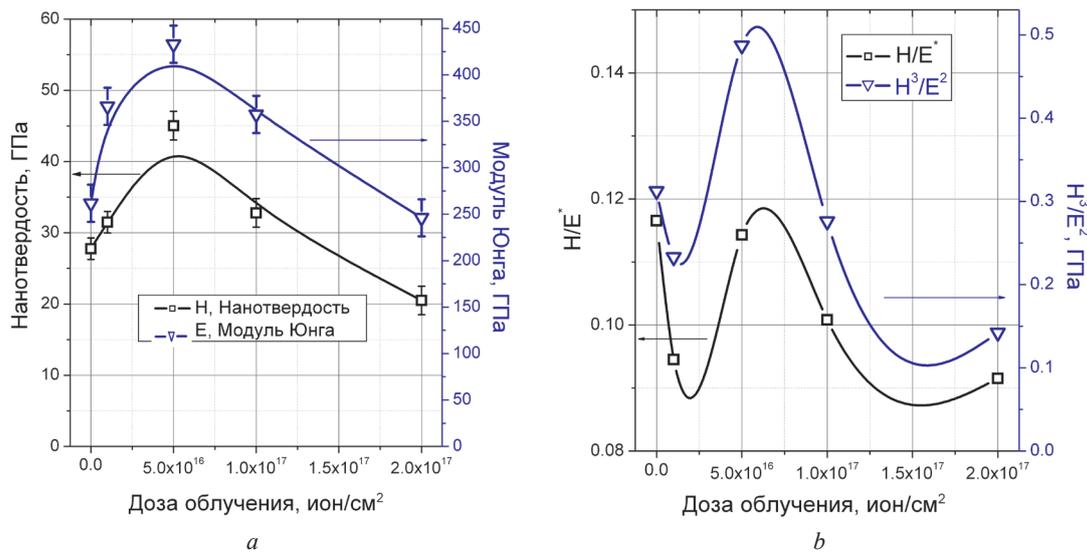


Рис. 1. Зависимости нанотвердости (H) и модуля Юнга (E) (*a*), индекса пластичности (H / E^*) и сопротивления пластической деформации (H^3 / E^2) (*b*) покрытий TiAlN от дозы облучения ионами H^+

Fig. 1. Dependences of nanohardness (H) and Young's modulus (E) (*a*), plasticity index (H / E^*) and resistance to plastic deformation (H^3 / E^2) (*b*) of the TiAlN coatings on the fluence of H^+ ions

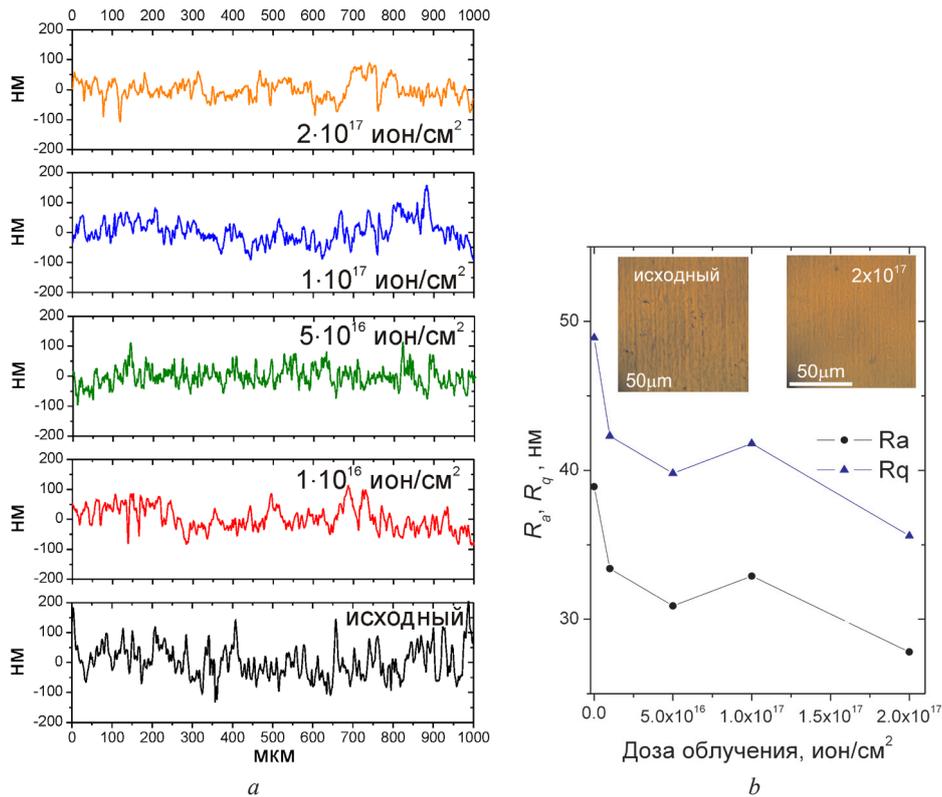


Рис. 2. Профилотграммы поверхности покрытий TiAlN до и после облучения протонами (а) и изменения среднего арифметического (R_a) и среднеквадратичного (R_q) отклонений высот профиля в зависимости от дозы облучения ионами H^+ (b)

Fig. 2. Profilograms of the TiAlN coating surface before and after proton irradiation (a) and dependences of arithmetical mean height (R_a) and root mean squared (R_q) deviations of roughness on proton fluence (b)

и R_q – среднее арифметическое и среднеквадратичное отклонение высот профиля от средней линии на длине оценивания соответственно (рис. 2, b). Значения величин неровностей приведены на основе данных анализа трех линий в разных местах поверхности образца, тогда как на рис. 2, a представлено по одной профилотграмме. Необлученное покрытие характеризуется самыми большими показателями шероховатости поверхности: R_a – 38,9 нм; R_q – 48,9 нм. После облучения минимальной дозой ($1 \cdot 10^{16}$ ион/см²) поверхность становится более гладкой. При облучении дозой $5 \cdot 10^{16}$ ион/см² значения параметров шероховатости еще больше снижаются до R_a – 30,9 нм; R_q – 39,8 нм. При дальнейшем увеличении дозы имплантации до $1 \cdot 10^{17}$ ион/см² значения показателей шероховатости незначительно возрастают, однако после облучения максимальной дозой ($2 \cdot 10^{17}$ ион/см²) поверхность становится существенно более гладкой (R_a – 27,8 нм; R_q – 35,6 нм), что также можно заметить на снимках оптической микроскопии (вставка на рис. 2, b). Таким образом, облучение приводит к уменьшению шероховатости поверхности, особенно при облучении максимальной дозой. Уменьшение параметров шероховатости вероятнее всего связано с процессами модификации кристаллических границ зерен, тогда как наиболее заметное сглаживание поверхности после облучения с максимальной дозой можно объяснить частичной аморфизацией поверхности [7; 8].

На рис. 3, a представлены спектры зеркального (R_s) и диффузного (R_d) отражения исходного покрытия TiAlN. Оба спектра имеют характерный минимум при 420 нм в области собственного поглощения TiAlN. Как и ожидалось, интенсивность диффузного отражения в УФ- и видимой области на 10–20 % выше зеркального. Диффузную составляющую отражения (рассеянный свет) можно определить как разность диффузного и зеркального отражений. Следует отметить, что форма спектров отражения при протонном облучении существенно не меняется, но изменяется интегральная интенсивность спектра.

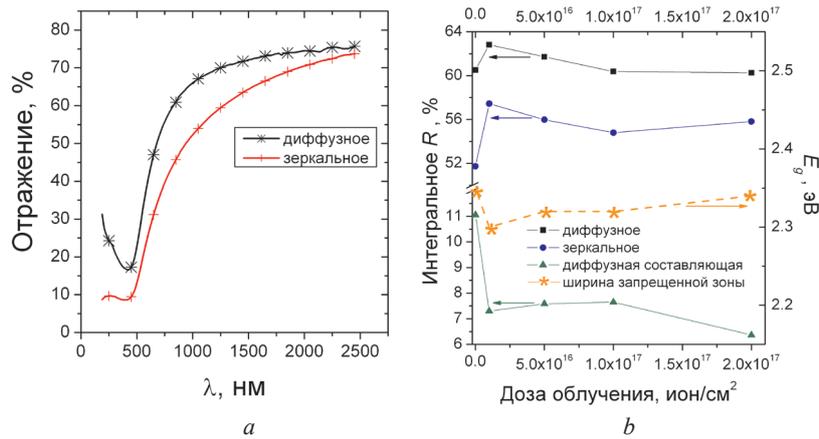


Рис. 3. Спектры диффузного и зеркального отражения исходного покрытия TiAlN (a) и зависимости интегрального в спектральной области 0,2–2,5 мкм диффузного, зеркального отражения и диффузной составляющей (рассеянный свет), а также ширины запрещенной зоны от дозы облучения ионами H⁺ (b)

Fig. 3. Diffuse and specular reflectance of the TiAlN coatings (a) and corresponding integral at spectral range of 0.2–2.5 μm diffused, specular reflectance, diffuse component (scattered light) and the energy band gap versus the fluence of H⁺ ions

Известно, что из спектров диффузного отражения можно оценить ширину запрещенной зоны. Предполагая наличие параболических зон, край поглощения можно определить с помощью известного уравнения Тауца [9]:

$$(\alpha E)^2 = B(E - E_g), \tag{1}$$

где E , E_g и B – энергия фотона, ширина запрещенной зоны и постоянная Тауца (наклон) соответственно. Вместо α в уравнении (1) можно использовать так называемую функцию Кубелки–Мунка $F(R_d)$ [10]:

$$F(R_d) = \frac{k}{s} = \frac{(1 - R_d)^2}{(2R_d)}, \tag{2}$$

где k и s – коэффициенты поглощения и рассеяния соответственно.

Далее ширина запрещенной зоны рассчитывается путем экстраполяции в линейной области соответствующих графиков Тауца до пересечения с осью энергии. Для необлученного покрытия ширина запрещенной зоны составляет 2,30 эВ, что близко к значению 2,45 эВ для Ti_{0,25}Al_{0,25}N_{0,5} [9].

На рис. 3, b представлены зависимости интегрального (в полном регистрируемом диапазоне 0,2–2,5 мкм) зеркального и диффузного коэффициентов отражения покрытий TiAlN от дозы облучения. Также отдельно показана диффузная составляющая, представляющая собой разность между диффузным и зеркальным отражением, и ширина запрещенной зоны. Как видно, отражение и ширина запрещенной зоны зависят от дозы облучения также нелинейно. Облучение наименьшей дозой протонов (1 · 10¹⁶ ион/см²) приводит к увеличению зеркального отражения в среднем на 6 % и диффузного отражения в среднем лишь на 2,5 %. Другими словами, зеркальное отражение увеличивается, а рассеянный свет уменьшается, что объясняется уменьшением шероховатостей. Кроме того, энергия запрещенной зоны незначительно снижается с 2,35 до 2,30 эВ. По-видимому, при данном уровне облучения происходит формирование дефектов. Дальнейшее увеличение дозы до 5 · 10¹⁶ ион/см² приводит к уменьшению коэффициентов зеркального и диффузного отражения на 1,4 и 1,1 % соответственно. Иными словами, доля рассеянного света незначительно увеличивается, как и ширина запрещенной зоны (2,32 эВ), что можно объяснить снижением первоначального уровня радиационных дефектов за счет релаксации напряжений при перестройке зерен. При возрастании дозы до 1 · 10¹⁷ ион/см² тенденция к снижению коэффициента отражения сохраняется, тогда как E_g практически не изменяется. Облучение протонами с максимальной дозой 2 · 10¹⁷ ион/см² приводит к незначительному уменьшению R_d (на 0,12 %) и в большей степени к увеличению R_s (на 1,01 %) и ширины запрещенной зоны (2,34 эВ). Это можно объяснить как уменьшением шероховатости поверхности, так и перестройкой в дефектной подсистеме покрытия. Подытоживая, стоит отметить, что отражательная способность покрытия

слабо изменяется при действии протонного облучения. После облучения в большей степени изменяется зеркальное отражение: увеличивается на 6–11 % относительно исходного образца. Диффузное отражение увеличивается только после облучения с меньшими дозами: на 4 % ($1 \cdot 10^{16}$ ион/см²) и на 2 % ($5 \cdot 10^{16}$ ион/см²).

Следует отметить так же, что, как и ожидалось, величина диффузной составляющей отражения (рассеянное излучение) коррелирует с показателями шероховатости. Коэффициенты корреляции с параметрами R_a и R_q составляют $r = 0,93$ – $0,94$. Механические свойства (H и E) слабо коррелируют с показателями шероховатости ($r = 0,04$ – $0,1$). Наблюдается корреляция величин нанотвердости и модуля Юнга с величиной полного диффузного отражения ($r = 0,5$ – $0,6$) и обратная корреляция с величиной ширины запрещенной зоны E_g ($r = -0,5$ – $0,7$). Также обнаружена прямая корреляция индекса пластичности (H/E^*) с параметром шероховатости R_a ($r = 0,6$) и величиной диффузной составляющей ($r = 0,8$), а также обратная корреляция H/E^* с величиной зеркального отражения ($r = -0,65$).

Заключение. Для изучения радиационной стабильности в условиях открытого космоса, покрытие TiAlN, нанесенное методом реактивного магнетронного распыления на стальную подложку, облучалось протонами в интервале доз $1 \cdot 10^{16}$ – $2 \cdot 10^{17}$ ион/см². После облучения протонами наблюдается увеличение твердости и модуля Юнга покрытий: на 13 и 40 % ($1 \cdot 10^{16}$ ион/см²), на 62 и 65 % ($5 \cdot 10^{16}$ ион/см²) и на 18 и 37 % ($1 \cdot 10^{17}$ ион/см²) соответственно. Однако облучение с максимальной дозой $2 \cdot 10^{17}$ ион/см² приводит к уменьшению твердости на 26 % и модуля Юнга покрытия на 6 % по сравнению с необлученным образцом.

Методом профилометрии показано, что облучение приводит к уменьшению шероховатости поверхности, особенно при облучении максимальной дозой: параметры шероховатости R_a и R_q уменьшаются на 14–28 % относительно необлученного образца. Отражательная способность покрытия менее подвержена облучению протонами. После облучения в большей степени изменяется зеркальное отражение: увеличивается на 6–11 % относительно исходного образца. Диффузное отражение увеличивается только после облучения меньшими дозами: на 4 % ($1 \cdot 10^{16}$ ион/см²) и на 2 % ($5 \cdot 10^{16}$ ион/см²). Таким образом, покрытие TiAlN характеризуется высокой стабильностью спектра отражения в условиях протонного облучения, характерных для космического пространства. Это является важной особенностью для применения таких покрытий в качестве терморегулирующих для малых космических аппаратов.

Изменения параметров шероховатости и отражательной способности в результате протонного облучения свидетельствуют о радиационно-индуцированных изменениях микроструктуры покрытия. Увеличение показателей твердости и модуля Юнга может быть связано с двумя механизмами упрочнения: радиационное упрочнение и модифицирование границы раздела вследствие стока дефектов к ней, тогда как их деградацию можно объяснить накоплением и перестройкой дефектов структуры, а так же частичной аморфизацией поверхности.

Список использованных источников

1. Yamamoto, K. The relationship between coating property and solid particle erosion resistance of AIP-deposited TiAlN coatings with different Al contents / K. Yamamoto, Y. Tatsuhiro, Y. Iwai // *Coatings*. – 2021. – Vol. 11, N 8. – Art. 992. <https://doi.org/10.3390/coatings11080992>
2. Radiation tolerance of nanostructured TiAlN coatings under Ar⁺ ion irradiation / S. V. Konstantinov [et al.] // *Surface and Coatings Technology*. – 2020. – Vol. 386. – Art. 125493. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.125493>
3. Dependence of the damage in optical metal/dielectric coatings on the energy of ions in irradiation experiments for space qualification / M. G. Pelizzo [et al.] // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol. 11, N 1. – Art. 3429. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82860-7>
4. Solar sail propulsion limitations due to hydrogen blistering / M. Sznajder [et al.] // *Adv. Space Res.* – 2021. – Vol. 67, N 9. – P. 2655–2668. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2020.06.034>
5. Oliver, W. C. Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: Advances in understanding and refinements to methodology / W. C. Oliver, G. M. Pharr // *J. Mater. Res.* – 2004. – Vol. 19, N 1. – P. 3–20. <https://doi.org/10.1557/jmr.2004.19.1.3>
6. Solozhenko, V. L. Synthesis of superhard materials / V. L. Solozhenko, E. Gregoryanz // *Mater. Today*. – 2005. – Vol. 8, N 11. – P. 44–51. [https://doi.org/10.1016/s1369-7021\(05\)71159-7](https://doi.org/10.1016/s1369-7021(05)71159-7)
7. Effects of microstructure evolution on the oxidation behavior and high-temperature tribological properties of AlCrN/TiAlSiN multilayer coatings / B. Xiao [et al.] // *Ceram. Int.* – 2018. – Vol. 44, N 18. – P. 23150–23161. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.09.125>

8. A study of TiAlN coatings prepared by rf co-sputtering / L. García-González [et al.] // *Braz. J. Chem. Eng.* – 2007. – Vol. 24, N 2. – P. 249–257. <https://doi.org/10.1590/s0104-66322007000200009>
9. Chemical bonding states and solar selective characteristics of unbalanced magnetron sputtered $Ti_xM_{1-x}N_y$ films / M. M. Rahman [et al.] // *RSC Adv.* – 2016. – Vol. 6, N 43. – P. 36373–36383. <https://doi.org/10.1039/c6ra02550a>
10. Makuła, P. How to correctly determine the band gap energy of modified semiconductor photocatalysts based on UV-Vis spectra / P. Makuła, M. Pacia, W. Macyk // *J. Phys. Chem. Lett.* – 2018. – Vol. 9, N 23. – P. 6814–6817. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.8b02892>

References

1. Yamamoto K., Tatsuhiro Y., Iwai Y. The relationship between coating property and solid particle erosion resistance of AIP-deposited TiAlN coatings with different Al contents. *Coatings*, 2021, vol. 11, no. 8, art. 992 (1–12). <https://doi.org/10.3390/coatings11080992>
2. Konstantinov S. V., Wendler E., Komarov F. F., Zaikov V. A. Radiation tolerance of nanostructured TiAlN coatings under Ar^+ ion irradiation. *Surface and Coatings Technology*, 2020, vol. 386, art. 125493. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.125493>
3. Pelizzo M. G., Corso A. J., Santi G., Hübner R., Garoli D., Doyle D., Lubin P., Cohen A. N., Erlichman J., Favaro G., Bazzan M., Drobny J., Curreli D., Umansky M. Dependence of the damage in optical metal/dielectric coatings on the energy of ions in irradiation experiments for space qualification. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, no. 1, art. 3429. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82860-7>
4. Sznajder M., Seefeldt P., Sprowitz T., Renger J., Kang J. H., Bryant R., Wilkie W. Solar sail propulsion limitations due to hydrogen blistering. *Advances in Space Research*, 2021, vol. 67, no. 9, pp. 2655–2668. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2020.06.034>
5. Oliver W. C., Pharr G. M. Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: Advances in understanding and refinements to methodology. *Journal of Materials Research*, 2004, vol. 19, no. 1, pp. 3–20. <https://doi.org/10.1557/jmr.2004.19.1.3>
6. Solozhenko V. L., Gregoryanz E. Synthesis of superhard materials. *Materials Today*, 2005, vol. 8, no. 11, pp. 44–51. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(05\)71159-7](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(05)71159-7)
7. Xiao B., Liu J., Liu F., Zhong X., Xiao X., Zhang T. F., Wang Q. Effects of microstructure evolution on the oxidation behavior and high-temperature tribological properties of AlCrN/TiAlSiN multilayer coatings. *Ceramics International*, 2018, vol. 44, no. 18, pp. 23150–23161. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.09.125>
8. García-González L., Garnica-Romo M. G., Hernández-Torres J., Espinoza-Beltrán F. J. A study of TiAlN coatings prepared by rf co-sputtering. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 2007, vol. 24, no. 2, pp. 249–257. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322007000200009>
9. Rahman M. M., Jiang Z.-T., Munroe P., Chuah L. S., Zhou Z., Xie Z., Yin C. Y., Ibrahim K., Amri A., Kabir H., Haque Md. M., Mondinos N., Altarawneh M., Dlugogorski B. Z. Chemical bonding states and solar selective characteristics of unbalanced magnetron sputtered $Ti_xM_{1-x}N_y$ films. *RSC Advances*, 2016, vol. 6, no. 43, pp. 36373–36383. <https://doi.org/10.1039/c6ra02550a>
10. Makuła P., Pacia M., Macyk W. How to correctly determine the band gap energy of modified semiconductor photocatalysts based on UV-Vis spectra. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2018, vol. 9, no. 23, pp. 6814–6817. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.8b02892>

Информация об авторах

Пархоменко Ирина Николаевна – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 5, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: parkhomenko@bsu.by.

Власукова Людмила Александровна – канд. физ.-мат. наук, заведующий лабораторией. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 5, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vlasukova@bsu.by.

Комаров Фадей Фадеевич – академик, д-р физ.-мат. наук, заведующий лабораторией. Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко БГУ (ул. Курчатова, 7, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: komarovf@bsu.by.

Константинов Станислав Валерьевич – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник. Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко БГУ (ул. Курчатова, 7, 220045, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mymail3000@tut.by.

Зайков Валерий Александрович – ст. преподаватель. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 1, 220045, Минск, Республика Беларусь). E-mail: zaikov@bsu.by.

Пилько Владимир Владимирович – науч. сотрудник. Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко БГУ (ул. Курчатова, 7, 220045, Минск, Республика Беларусь). E-mail: pilkow@mail.ru.

Information about the authors

Parkhomenko Irina N. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Leading Researcher. Belarusian State University (5, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: parkhomenko@bsu.by.

Vlasukova Liudmila A. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory. Belarusian State University (5, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vlasukova@bsu.by.

Komarov Fadei F. – Academician, D. Sc. (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory. A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems (7, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: komarovf@bsu.by.

Konstantinov Stanislav V. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior Researcher. A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of Belarusian State University (7, Kurchatov Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mymail3000@tut.by.

Zaikov Valery A. – Senior Lecturer. Belarusian State University (1, Kurchatov Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zaikov@bsu.by.

Pilkow Vladimir V. – Researcher. A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of Belarusian State University (7, Kurchatov Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pilkow@mail.ru.

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 535.37:544.77

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-148-155>

Поступило в редакцию 10.03.2022

Received 10.03.2022

О. С. Кулакович¹, Л. И. Гуринович¹, Л. Л. Троцюк¹, А. А. Романенко¹, Хонгбо Ли²,
Н. А. Матвеевская³, академик С. В. Гапоненко¹

¹Институт физики имени Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

²Пекинский технологический институт, Пекин, Китай

³Институт монокристаллов Национальной академии наук Украины, Харьков, Украина

УПРАВЛЕНИЕ ФОТОСТАБИЛЬНОСТЬЮ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК С ПОМОЩЬЮ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА

Аннотация. Установлено влияние наночастиц золота различной формы (наносферы и наностержни) на фотостабильность квантовых точек InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS и CdSe/ZnCdS/ZnS со структурой типа «ядро/оболочка». Наносферы золота повышают фотостабильность квантовых точек InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS при возбуждении излучением синего диапазона за счет уменьшения среднего времени жизни возбужденного состояния квантовых точек и, соответственно, снижения вероятности Оже-процессов. Увеличение среднего времени жизни возбужденного состояния квантовых точек CdSe/ZnCdS/ZnS в комплексах с наностержнями золота приводит к снижению фотостабильности при возбуждении на 449 и 532 нм.

Ключевые слова: фотостабильность, квантовые точки, наночастицы золота, фотолюминесценция

Для цитирования. Управление фотостабильностью полупроводниковых квантовых точек с помощью наночастиц золота / О. С. Кулакович [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 148–155. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-148-155>

Olga S. Kulakovich¹, Leonid I. Gurinovich¹, Liudmila L. Trotsiuk¹, Andrey A. Ramanenka¹, Hongbo Li²,
Neonilla A. Matveevskaya³, Academician Sergey V. Gaponenko¹

¹B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Beijing Institute of Technology, Beijing, China

³Institute for Single Crystals of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

MANIPULATION OF THE QUANTUM DOT PHOTOSTABILITY USING GOLD NANOPARTICLES

Abstract. The effect of plasmonic films containing gold nanoparticles of different shape (nanospheres and nanorods) on the photostability of InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS and CdSe/ZnCdS/ZnS quantum dots with core/shell structure has been determined. Gold nanospheres increase the photostability of InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS quantum dots when excited by blue LED radiation when reducing the average lifetime of the excited state of quantum dots and, accordingly, when reducing the probability of Auger processes. An increase in the average lifetime of the excited state of CdSe/ZnCdS/ZnS quantum dots in complexes with gold nanorods leads to a decrease in the photostability upon excitation at 449 and 532 nm.

Keywords: photostability, quantum dots, gold nanoparticles, photoluminescence

For citation. Kulakovich O. S., Gurinovich L. I., Trotsiuk L. L., Ramanenka A. A., Hongbo Li, Matveevskaya N. A., Gaponenko S. V. Manipulation of the quantum dots photostability using gold nanoparticles. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 148–155 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-148-155>

Введение. Люминесцирующие полупроводниковые нанокристаллы, или так называемые квантовые точки (КТ), широко используются сегодня в опто-электронных приборах в качестве высокоэффективных люминофоров [1]. Мировые лидеры IT-рынка, освоившие производство жидко-кристаллических дисплеев по технологии QLED (Quantum-dot Light-Emitting Diodes), используют для подсветки квантовые точки селенида кадмия [2], фосфида индия [3; 4]. Однако эффективность люминесценции всех КТ, как правило, падает вследствие их агрегации на этапе изготовления люминесцентных пленок. Этим вопросам приходится уделять существенное внимание, чтобы найти пути преодоления всех перечисленных негативных факторов при использовании КТ в оптоэлектронных устройствах.

В одной из наших предыдущих работ [5] изучалась фотостабильность водорастворимых КТ CdSe в зависимости от длины цепочек пассивирующих молекул во внешней солубилизирующей оболочке. Экспериментально было установлено, что фотостабильность КТ выше для длинноцепочечных лигандов вследствие снижения проницаемости внешнего потенциального барьера при переносе свободных электронов. Как известно, фотолюминесцентные свойства КТ существенно зависят от свойств окружающей их среды, поскольку большая доля атомов находится на поверхности КТ [6]. Кроме того, фотостабильность КТ может либо увеличиваться, либо уменьшаться в зависимости от взаимодействия КТ с полимерами за счет изменения соотношения скоростей излучательной и безызлучательной рекомбинации (затухания фотолюминесценции).

Одним из возможных способов улучшения свойств флуоресцирующих центров является расположение их вблизи плазмонных наночастиц. Как было показано, плазмонные наночастицы влияют не только на интенсивность фотолюминесценции (ФЛ) [7; 8], но также и на фотостабильность КТ [9; 10]. Например, покрытые оболочкой золота КТ демонстрируют существенно лучшую фотостабильность, чем водо- и органорастворимые КТ [9; 10]. Возрастающая фотостабильность этих структур объясняется наличием тонкой наноболочки из химически инертного золота, которая действует как барьер на пути фотоокисления [10]. Относительно недавно было получено усиление металлом флуоресценции КТ InP в полимерных комбинированных пленках со стержнями Au@Ag@SiO₂ [11]. Также была повышена фотостабильность нанокристаллов InZnP, используя их пассивацию тремя типами неорганических оболочек: градиентной оболочкой из ZnSe_xS_{1-x}, дополнительной оболочкой ZnS и оксидом алюминия с последующим внедрением наночастиц в матрицу из полиметилметакрилата [12]. В результате квантовый выход структуры был увеличен более чем на 50 %, а среднее время затухания фотолюминесценции оказалось в диапазоне 64–67 нс. В данной работе представлены результаты изучения вклада наночастиц золота в фотостабильность КТ InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS и CdSe/ZnCdS/ZnS со структурой типа ядро/оболочка. Это важно для улучшения характеристик светоизлучающих приборов, создаваемых на основе КТ, в том числе для минимизации содержания тяжелых металлов.

Материалы и методы исследования. *Получение плазмонных пленок с квантовыми точками.* В работе исследованы КТ InP/ZnSe/ZnSe_{0,5}S_{0,5}/ZnS и CdSe/ZnCdS/ZnS, предварительно солубилизированные с использованием тиогликолевой кислоты, которая обеспечивает отрицательный поверхностный заряд квантовых точек. По данным электронной микроскопии средний диаметр КТ InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS составил 7,8 нм, а максимум полосы ФЛ – 627 нм. Квантовый выход люминесценции КТ был в пределах 20–40 %. Для CdSe/ZnCdS/ZnS со средним размером 6,7 нм квантовый выход составил 57 %, максимум полосы ФЛ – 656 нм. Наночастицы Au сферической формы были синтезированы методом цитратного восстановления HAuCl₄ в водном растворе [13]. Для получения пленок металлических наночастиц (Au «тип 1») стеклянные подложки покрывались поликатионным слоем полидиаллилдиметиламмоний хлорида в течение 20 мин, что позволило сформировать первичный положительный заряд на поверхности стекла [14]. Повтором процедуры были осаждены два последующих противоположно заряженных слоя полиэлектролита (ПЭ) – полистиролсульфоната натрия и полидиаллилдиметиламмоний хлорида. Наночастицы Au в воде имеют отрицательный заряд вследствие стабилизации цитратионами и могут осаждаться на положительно заряженные подложки простым погружением последних в золь золота (коллоидный раствор Au).

Второй тип плазмонных пленок золота был приготовлен непосредственно на стеклянной поверхности (Au «тип 2»). Стеклянные подложки предварительно модифицировались (3-аминопропил)триэтоксисиланом при обработке в 5 %-ном этанольном растворе при кипении. Подложки после ультразвуковой очистки в спирте погружались в 0,01 %-ный водный раствор HAuCl₄, доведенный до кипения, а затем при постоянном помешивании добавлялось 0,4 мл 0,1 %-ного водного раствора цитрата натрия при температуре 80,0 °С. Реагирующая смесь выдерживалась 30 мин. После полного отмытия в воде и высушивания металлических пленок 1 и 2 типа, 3 мкл 5 · 10⁻⁶ М раствора КТ InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS наносили поверх подложек и высушивали. В нескольких случаях осаждали дополнительные слои полиэлектролита между

металлическими пленками и слоем КТ (от 1 до 21 отдельного слоя), чтобы иметь возможность контролировать дистанцию «золото–InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS».

Третий тип плазмонных пленок представлял собой электростатические комплексы наностержней (НС) золота и КТ CdSe/ZnCdS/ZnS, помещенные в пленку поливинилового спирта (ПВС) [15]. Синтез НС осуществляли по методике, описанной ранее [16]. Комплексы формировали сначала в водных растворах с помощью электростатического взаимодействия положительно заряженных НС золота, покрытых бислоем цетилтриметиламмоний бромида, с отрицательно заряженными КТ, покрытыми тиогликолевой кислотой. Расчетное соотношение концентраций, исходя из оптической плотности растворов КТ и НС золота $n(\text{КТ}) : n(\text{AuНС})$ составило 3 : 1. Затем коллоидные растворы, содержащие комплексы, помещали в 5 %-ный раствор ПВС и формировали полимерную пленку, итоговая толщина которой составила 27 мкм.

Оборудование и оптические измерения. Спектры оптической плотности металлических пленок и коллоидных растворов были измерены на спектрофотометре Cary 500 (Varian, США). Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) металлических пленок была проведена на установке Nova NanoSEM 450 (США), морфологию наночастиц золота изучали методом просвечивающей электронной микроскопии на электронном микроскопе S-806TEM/SEM (Hitachi, Япония).

Фотостабильность КТ оценивалась по анализу изменения интенсивности ФЛ при непрерывном облучении светодиодом с длиной волны излучения 460 нм (металлические пленки на стекле), либо лазерами с длиной волны излучения 449 и 532 нм (в растянутых пленках). Спектры регистрировались с использованием спектрометра S-3801 (Solar ТП, Беларусь) и охлаждаемого жидким азотом ПЗС-детектора LN-CCD-1152-E (Princeton Instruments, США). Измерения проводились в одинаковых условиях: размер светового пятна на образцах составлял 2×4 мм, оптическая мощность падающего излучения светодиода была 2,0 мВт, что соответствует плотности оптической мощности 0,3 мВт/мм². В течение 10 ч облучения светодиодом накопленная образцами доза достигала 11,0 Дж в расчете на 1 мм² площади образца. Для измерений фотостабильности КТ в растянутых пленках размер светового пятна составлял $0,1 \times 0,1$ мм, оптическая мощность – 0,4 мВт (плотность мощности – 40 мВт/мм²), накопленная доза за 2 ч – 288 Дж в расчете на 1 мм² площади.

Кинетики затухания фотолюминесценции образцов регистрировались методом время-коррелированного счета одиночных фотонов (TCSPC) с помощью спектрофлуориметра Fluorolog-3 (HORIBA Scientific, США). В качестве источников возбуждения выступали импульсный светодиод DeltaDiode DD-310 (HORIBA Scientific) с длиной волны излучения 314 нм (образцы с металлическими пленками на стекле) либо импульсный светодиод PLS-400 (PicoQuant, Германия) с длиной волны излучения 405 нм (образцы с комплексами «Au НС-КТ» в ПВС). Инструментальный отклик системы (IRF) регистрировался для сильно разбавленного раствора Ludox. Анализ кинетик затухания фотолюминесценции выполнялся с помощью программного пакета DAS6 (HORIBA Scientific) по 3-экспоненциальной модели аппроксимации кривых затухания: $I(t) = A + B_1 e^{-t/\tau_1} + B_2 e^{-t/\tau_2} + B_3 e^{-t/\tau_3}$. Среднее время жизни рассчитывалось как $\langle \tau \rangle = \frac{B_1 \tau_1^2 + B_2 \tau_2^2 + B_3 \tau_3^2}{B_1 \tau_1 + B_2 \tau_2 + B_3 \tau_3}$.

Результаты и их обсуждение. Средний размер наночастиц золота, приготовленных как в растворе, так и на стеклянной подложке методом цитратного восстановления, составил 20 нм в диаметре (рис. 1, *a* и *b*).

Максимум оптической плотности для пленки с Au «типа 2» приходится на 550 нм (рис. 1, *c*, розовая кривая), в то время как пленка с Au «типа 1», состоящая из наночастиц того же размера, что Au «типа 2», имеет широкий максимум поглощения около 590 нм (рис. 1, *c*, черная кривая). Это указывает на присутствие значительно агрегировавших частиц Au в пленке «типа 1». В дальнейшем эти золотые пленки будем называть Au₅₉₀ и Au₅₅₀, в соответствии с их максимумами оптической плотности. Таким образом, процедура синтеза прямо на стеклянной поверхности, используемая для приготовления Au₅₅₀, позволяет избежать процесса агрегации по сравнению с осаждением коллоидных наночастиц из раствора. Спектры оптической плотности раствора НС золота, из которых формировались комплексы с КТ CdSe/ZnCdS/ZnS в полимерной пленке, представлены на рис. 1, *d*, морфология НС приведена на вставке к рисунку.

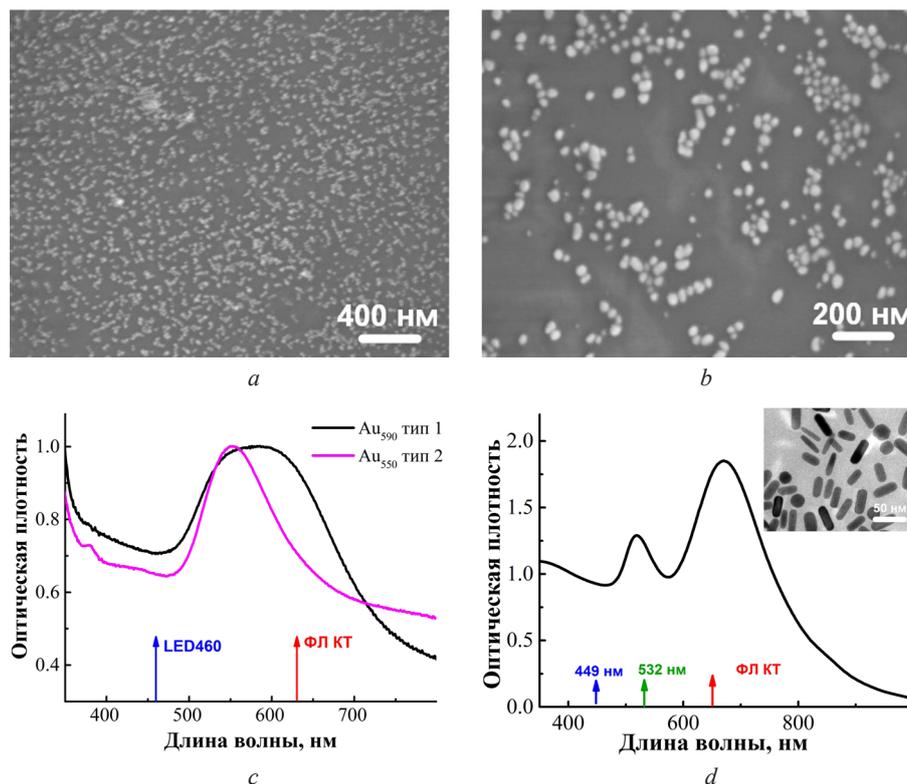


Рис. 1. СЭМ-изображение плазмонных пленок золота Au_{590} «тип 1», Au_{550} «тип 2» (a, b); нормированные спектры оптической плотности Au_{590} «тип 1», Au_{550} «тип 2» (c); спектр оптической плотности НС золота, вставка – изображение электронной микроскопии НС золота (d)

Fig. 1. SEM-image of the plasmonic films of gold Au_{590} of “type 1”, Au_{550} of “type 2” (a, b); normalized spectra of the optical density of Au_{590} of “type 1”, Au_{550} of “type 2” (c); optical density spectrum of the gold nanorods, insert – image of electron microscopy of the gold nanorods (d)

Каждый из двух типов пленок наночастиц золота с различным положением плазмонной полосы был использован для изучения фотостабильности осажденных на них КТ InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS. Чтобы уменьшить роль безызлучательных процессов, плазмонные пленки предварительно были покрыты девятью слоями ПЭ, как и в нашей предыдущей работе [7]. В качестве образцов сравнения были приготовлены образцы с КТ на стекле, не содержащем металлических наночастиц.

Было обнаружено, что фотолюминесценция КТ InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS на подложках с наночастицами золота более стабильна в сравнении со стеклянной подложкой (рис. 2, a). Это может быть обусловлено плазмонным взаимодействием КТ и наночастиц золота.

Для того чтобы установить точную причину такого различия в фотостабильности, были проведены измерения скорости и характера затухания ФЛ во времени для водорастворимых КТ InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS в плазмонных наноструктурах и контрольного образца с девятью ПЭ-слоями (рис. 3, a).

Среднее время жизни для КТ InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS на стекле составило 45,8 нс, а среднее время жизни фотолюминесценции для КТ на подложке с золотыми наночастицами снизилось на 17 % относительно значения контрольного образца на стекле и составило 37,7 нс для Au_{550} и 38,7 нс для Au_{590} . Полученные экспериментальные данные на золотых наноструктурах показывают сокращение среднего времени жизни, что вероятно указывает на плазмонное действие золотых наночастиц на скорость излучательной рекомбинации в КТ InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS. Это стало возможным благодаря перекрытию спектра испускания КТ с плазмонной полосой золотых пленок (рис. 1, c) [1].

КТ до полного фотовыгорания или фотохимического разрушения (окисления) могут подвергаться конечному числу циклов «возбуждения–испускания». Основными двумя причинами,

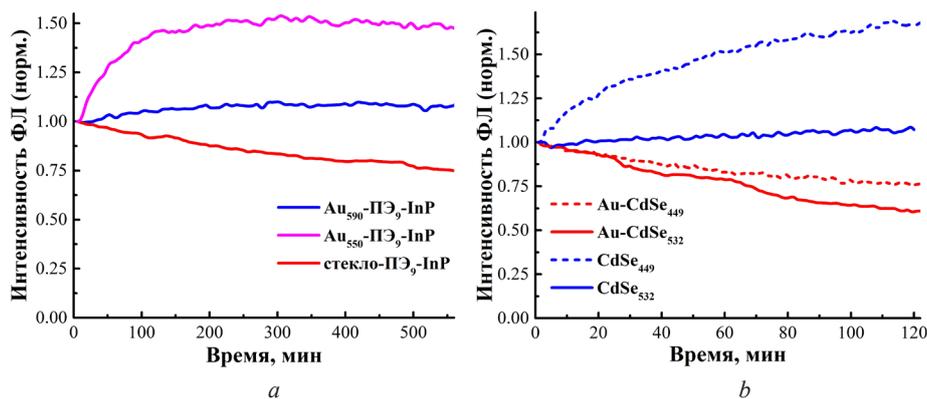


Рис. 2. Зависимости нормированной интенсивности фотолюминесценции: *a* – InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS, осажденные на плазмонные пленки золота с предварительно нанесенными в качестве разделителя (спейсера) девятью слоями полиэлектролитов, от времени облучения. Длина волны регистрации фотолюминесценции – 630 нм. Источник облучения – синий светодиод с длиной волны $\lambda_{\text{cm}} = 460$ нм; *b* – CdSe/ZnCdS/ZnS в растянутых пленках ПВС от времени облучения. Длина волны регистрации ФЛ – 650 нм. Источник облучения – лазеры с длиной волны генерации $\lambda_{\text{cm}} = 449$ и 532 нм

Fig. 2. Dependences of the normalized photoluminescence intensity on the irradiation time: *a* – InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS deposited on the plasmonic films of gold with nine polyelectrolyte layers preliminarily applied as a spacer. The photoluminescence wavelength is 630 nm. The irradiation source is a blue LED with the wavelength $\lambda_{\text{cm}} = 460$ nm; *b* – CdSe/ZnCdS/ZnS in the stretched PVA films, the photoluminescence wavelength is 650 nm. The irradiation source is the lasers with the wavelength $\lambda_{\text{cm}} = 449$ and 532 nm

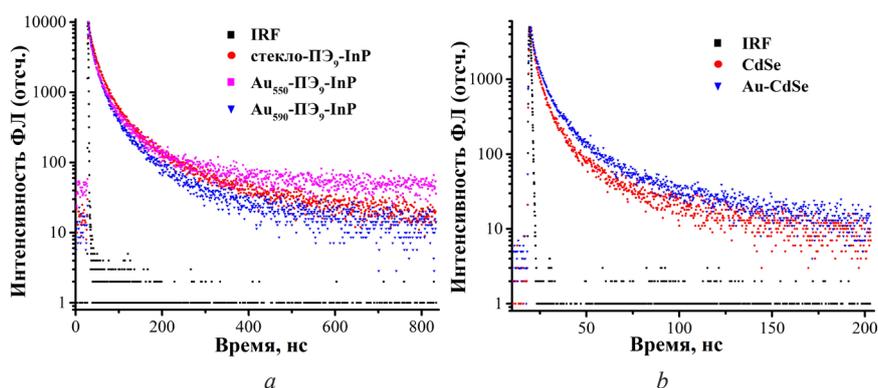


Рис. 3. Кинетики затухания фотолюминесценции: *a* – квантовых точек InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS, осажденных на плазмонные пленки золота с девятью слоями полиэлектролитов, с возбуждением на 314 нм и регистрацией на 635 нм; *b* – квантовых точек CdSe/ZnCdS/ZnS в пленках ПВС с возбуждением на 405 нм и регистрацией на 650 нм

Fig. 3. Photoluminescence decay kinetics: *a* – quantum dots of InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS deposited on the plasmonic films of gold with nine polyelectrolyte layers, upon excitation at 314 nm and upon registration at 635 nm; *b* – CdSe/ZnCdS/ZnS quantum dots in the PVA films upon excitation at 405 nm and upon registration at 650 nm

которые отвечают за падение интенсивности фотолюминесценции со временем, являются фоторазрушение излучательных центров и появление в КТ непарного заряда вследствие Оже-рекомбинации или вследствие туннелирования возбужденных электронов (или дырок) в окружающую среду. Фоторазрушение (или выгорание) является необратимым процессом, в то время как фотоионизация по своей сути является обратимой.

При анализе фотостабильности излучающих центров вблизи металла необходимо рассматривать три эффекта: усиление возбуждающего поля, рост скорости безызлучательных переходов и увеличение скорости излучательной рекомбинации [17]. Обусловленная возбуждением плазмонов локализация поля приводит к усилению темпов возбуждения, нарастанию Оже-процесса и снижению фотостабильности КТ. Эти процессы могут отвечать за снижение фотостабильности КТ в пленках, если длина волны возбуждения совпадает с плазмонной полосой

металла. Однако в наших экспериментальных условиях для композитных структур «наносферы золота–КТ» было использовано возбуждение на 460 нм вне плазмонной полосы золота, поэтому данный фактор, вероятно, не оказывает существенного влияния на фотостабильность InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS. Для полимерных пленок с комплексами «наностержни золота–CdSe/ZnCdS/ZnS» мы исследовали фотостабильность КТ при возбуждении на 449 нм вне плазмонного резонанса и на 532 нм в области поперечного плазмонного резонанса НС золота (рис. 2, *b*). Увеличение излучательной и безызлучательной скоростей переходов в КТ может приводить к улучшению их фотостабильности, так как излучатель меньше времени находится в возбужденном состоянии и, таким образом, имеет меньшую вероятность участия в конкурирующих с фотолюминесценцией фотофизических и фотохимических процессах. Эти выводы подтверждаются корреляцией изменения фотостабильности комплексов КТ, содержащих наностержни золота, с изменением времени жизни возбужденного состояния по сравнению с КТ в отсутствие НС золота. Так, для комплексов «Au НС-КТ» в ПВС (рис. 3, *b*) среднее время жизни возбужденного состояния растет до 14,3 нс по сравнению с образцами КТ в ПВС (9,2 нс), также как растет и время каждой из трех компонент кинетики затухания фотолюминесценции, что сопровождается снижением фотостабильности КТ в присутствии наностержней золота при возбуждении как на 449 нм, так и на 532 нм (рис. 2, *b*).

Таким образом, в присутствии наночастиц золота можно наблюдать как повышение фотостабильности флуорофора, так и понижение, в зависимости от доминирующих процессов.

Усиление фотолюминесценции КТ наблюдалось только для структуры Au₅₅₀-ПЭ-КТ и достигало 1,8 крат. Другие плазмонные наноструктуры (1 и 3-го типа), представленные в работе, показали тушение фотолюминесценции. Это связано с преобладанием безызлучательных механизмов, обусловленных топологией композитных наноструктур: наличие большого числа агрегатов наночастиц золота в случае пленки Au₅₉₀ (рис. 1, *b*) и электростатическая адсорбция КТ преимущественно на боковых поверхностях наностержней золота в случае комплексов «Au НС-КТ» [16].

Заключение. В гибридных наноструктурах, содержащих квантовые точки и наночастицы золота, наблюдается рост фотостабильности квантовых точек в случае сокращения времени жизни возбужденного состояния под влиянием наночастиц золота. Напротив, в случае увеличения среднего времени возбужденного состояния в присутствии наностержней золота, фотостабильность квантовых точек падает как при возбуждении в поперечном плазмонном резонансе (532 нм), так и при возбуждении вне плазмонного резонанса (449 нм). Такая корреляция свидетельствует о доминирующем влиянии плазмонных эффектов на вероятность Оже-процессов, и как следствие, на фотостабильность квантовых точек InP/ZnSe/ZnSeS/ZnS и квантовых точек CdSe/ZnS/ZnS. Полученные результаты могут быть пригодны при разработке новых методик повышения надежности и стабильности оптических характеристик светоизлучающих приборов.

Благодарности. Работа поддержана проектом БРФФИ (грант № Ф20-ПТИ-004). Авторы выражают благодарность А. В. Прудникову за синтез квантовых точек CdSe/ZnS/ZnS.

Acknowledgments. The research is supported by the BRFFR Project (grant No. Ф20-ПТИ-004). The authors are grateful to A. V. Prudnikov for synthesis of CdSe/ZnS/ZnS quantum dots.

Список использованных источников

1. Gaponenko, S. V. Applied Nanophotonics / S. V. Gaponenko, H. V. Demir. – Cambridge, 2018. <https://doi.org/10.1017/9781316535868>
2. Han, C.-Y. Development of Colloidal Quantum Dots for Electrically Driven Light-Emitting Devices / C.-Y. Han, H. J. Yang // Korean Ceramic Society. – 2017. – Vol. 54, N 6. – P. 449–469. <https://doi.org/10.4191/kcers.2017.54.6.03>
3. Full visible range covering InP/ZnS nanocrystals with high photometric performance and their application to white quantum dot light-emitting diodes / X. Yang [et al.] // Adv. Mater. – 2012. – Vol. 24, N 30. – P. 4180–4185. <https://doi.org/10.1002/adma.201104990>
4. Highly luminescent Zn-Cu-In-S/ZnS core/gradient shell quantum dots prepared from indium sulfide by cation exchange for cell labeling and polymer composites / L. Yang [et al.] // Nanotechnology. – 2019. – Vol. 30, N 39. – Art. 395603. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ab2aa2>
5. Photostability of luminescent water-soluble cadmium selenide nanocrystals with chemical surface modification / L. I. Gurinovich [et al.] // J. Appl. Spectrosc. – 2006. – Vol. 73, N 4. – P. 572–575. <https://doi.org/10.1007/s10812-006-0120-2>

6. Photoluminescence of water-soluble CdSe/ZnS nanoparticles in complexes with cationic and anionic polyelectrolytes / N. Strekal [et al.] // *Opt. Spectrosc.* – 2008. – Vol. 104, N 1. – P. 50–56. <https://doi.org/10.1134/s0030400x08010074>
7. Enhanced Luminescence of CdSe Quantum Dots on Gold Colloids / O. Kulakovich [et al.] // *Nano Lett.* – 2002. – Vol. 2, N 12. – P. 1449–1452. <https://doi.org/10.1021/nl025819k>
8. Features of the Secondary Emission Enhancement Near Plasmonic Gold Film / N. Strekal [et al.] // *Plasmonics.* – 2009. – Vol. 4, N 1. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11468-008-9063-1>
9. Jin, Y. Plasmonic fluorescent quantum dots / Y. Jin, X. Gao // *Nat. Nanotechn.* – 2009. – Vol. 4, N 9. – P. 571–576. <https://doi.org/10.1038/nnano.2009.193>
10. Non-blinking quantum dot with a plasmonic nanoshell resonator / B. Ji [et al.] // *Nat. Nanotechn.* – 2015. – Vol. 10, N 2. – P. 170–175. <https://doi.org/10.1038/nnano.2014.298>
11. Metal-enhanced fluorescence in polymer composite films with Au@Ag@SiO₂ nanoparticles and InP@ZnS quantum dots / K.-S. Kim [et al.] // *RSC Adv.* – 2019. – Vol. 9, N 1. – P. 224–233. <https://doi.org/10.1039/c8ra08802k>
12. Influence of the Core/Shell Structure of Indium Phosphide Based Quantum Dots on Their Photostability and Cytotoxicity / D. Wegner [et al.] // *Frontiers Chem.* – 2019. – Vol. 7. – Art. 466. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00466>
13. Turkevich, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold / J. Turkevich, P. C. Stevenson, J. Hillier // *Discuss. Faraday Soc.* – 1951. – Vol. 11. – P. 55–75. <https://doi.org/10.1039/df9511100055>
14. Colloidal Silver Films on Polypropylene and Polyethylene / A. Muravitskaya [et al.] // *Physica Status Solidi (b).* – 2018. – Vol. 255, N 4. – P. 1700491–1700496. <https://doi.org/10.1002/pssb.201700491>
15. Polarization Properties of Photoluminescence of Anisotropic Polymer Films Containing Aligned Au Nanorods and Semiconductor Nanoparticles of Various Shape / L. I. Gurinovich [et al.] // *Semiconductors.* – 2018. – Vol. 52, N 16. – P. 2054–2056. <https://doi.org/10.1134/s1063782618160108>
16. Plasmon-enhanced Fluorescence in Gold Nanorod-Quantum Dot Coupled Systems / L. Trotsiuk [et al.] // *Nanotechnology.* – 2020. – Vol. 31, N 10. – P. 105201–105211. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ab5a0e>
17. Lakowicz, J. R. Radiative decay engineering: biophysical and biomedical applications / J. R. Lakowicz // *Anal. Biochem.* – 2001. – Vol. 298, N 1. – P. 1–24. <https://doi.org/10.1006/abio.2001.5377>

References

1. Gaponenko S. V., Demir H. V. *Applied Nanophotonics*. Cambridge, 2018. <https://doi.org/10.1017/9781316535868>
2. Han C.-Y., Yang H. Development of Colloidal Quantum Dots for Electrically Driven Light-Emitting Devices. *Journal of the Korean Ceramic Society*, 2017, vol. 54, no. 6, pp. 449–469. <https://doi.org/10.4191/kcers.2017.54.6.03>
3. Yang X., Zhao D., Leck K. S., Tan S. T., Tang Y. X., Zhao J. L., Demir H. V., Sun X. W. Full visible range covering InP/ZnS nanocrystals with high photometric performance and their application to white quantum dot light-emitting diodes. *Advanced Materials*, 2012, vol. 24, no. 30, pp. 4180–4185. <https://doi.org/10.1002/adma.201104990>
4. Yang L., Antanovich A., Prudnikau A., Taniya O. S., Grzhegorzhevskii K. V., Zelenovskiy P., Terpinskaya T., Tang J., Artemyev M. Highly luminescent Zn-Cu-In-S/ZnS core/gradient shell quantum dots prepared from indium sulfide by cation exchange for cell labeling and polymer composites. *Nanotechnology*, 2019, vol. 30, no. 39, art. 395603. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ab2aa2>
5. Gurinovich L. I., Artem'ev M. V., Lyutich A. A., Gaponenko S. V. Photostability of luminescent water-soluble cadmium selenide nanocrystals with chemical surface modification. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2006, vol. 73, no. 4, pp. 572–575. <https://doi.org/10.1007/s10812-006-0120-2>
6. Strekal N., Kulakovich O., Belyaev A., Stsiapura V., Maskevich S. Photoluminescence of water-soluble CdSe/ZnS nanoparticles in complexes with cationic and anionic polyelectrolytes. *Optics and Spectroscopy*, 2008, vol. 104, no. 1, pp. 50–56. <https://doi.org/10.1134/s0030400x08010074>
7. Kulakovich O., Strekal N., Yaroshevich A., Maskevich S., Gaponenko S., Nabiev I., Woggon U., Artemyev M. Enhanced Luminescence of CdSe Quantum Dots on Gold Colloids. *Nano Letters*, 2002, vol. 2, no. 12, pp. 1449–1452. <https://doi.org/10.1021/nl025819k>
8. Strekal N., Kulakovich O., Askirka V., Sveklo I., Maskevich S. Features of the Secondary Emission Enhancement Near Plasmonic Gold Film. *Plasmonics*, 2009, vol. 4, no. 1, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11468-008-9063-1>
9. Jin Y., Gao X. Plasmonic fluorescent quantum dots. *Nature Nanotechnology*, 2009, vol. 4, no. 9, pp. 571–576. <https://doi.org/10.1038/nnano.2009.193>
10. Ji B., Giovanelli E., Habert B., Spinicelli P., Nasilowski M., Xu X., Lequeux N., Hugonin J.-P., Marquier F., Grefet J.-J., Dubertret B. Non-blinking quantum dot with a plasmonic nanoshell resonator. *Nature Nanotechnology*, 2015, vol. 10, no. 2, pp. 170–175. <https://doi.org/10.1038/nnano.2014.298>
11. Kim K.-S., Zakia M., Yoon J., Yoo S. I. Metal-enhanced fluorescence in polymer composite films with Au@Ag@SiO₂ nanoparticles and InP@ZnS quantum dots. *RSC Advances*, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 224–233. <https://doi.org/10.1039/c8ra08802k>
12. Wegner D., Dussert F., Truffier-Boutry D., Benayad A., Beal D., Mattera L., Ling W. L., Carrière M., Reiss P. Influence of the Core/Shell Structure of Indium Phosphide Based Quantum Dots on Their Photostability and Cytotoxicity. *Frontiers in Chemistry*, 2019, vol. 7, art. 466. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00466>
13. Turkevich J., Stevenson P. C., Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*, 1951, vol. 11, pp. 55–75. <https://doi.org/10.1039/df9511100055>
14. Muravitskaya A., Kulakovich O., Adam P.-M., Gaponenko S. Colloidal Silver Films on Polypropylene and Polyethylene. *Physica Status Solidi (b)*, 2018, vol. 255, no. 4, pp. 1700491–1700496. <https://doi.org/10.1002/pssb.201700491>

15. Gurinovich L. I., Trotsiuk L. L., Kulakovich O. S., Sushko N. I., Demir H. V., Gaponenko S. V. Polarization Properties of Photoluminescence of Anisotropic Polymer Films Containing Aligned Au Nanorods and Semiconductor Nanoparticles of Various Shape. *Semiconductors*, 2018, vol. 52, no. 16, pp. 2054–2056. <https://doi.org/10.1134/s1063782618160108>

16. Trotsiuk L., Muravitskaya A., Kulakovich O., Guzatov D., Ramanenka A., Kelestemur Y., Demir H. V., Gaponenko S. Plasmon-enhanced Fluorescence in Gold Nanorod-Quantum Dot Coupled Systems. *Nanotechnology*, 2020, vol. 31, no. 10, pp. 105201–105211. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ab5a0e>

17. Lakowicz J. R. Radiative decay engineering: biophysical and biomedical applications. *Analytical Biochemistry*, 2001, vol. 298, no. 1, pp. 1–24. <https://doi.org/10.1006/abio.2001.5377>

Информация об авторах

Кулакович Ольга Сергеевна – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68-2, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: o.kulakovich@ifanbel.bas-net.by. ORCID: 0000-0001-8618-6771

Гуринович Леонид Иванович – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68-2, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonid@dragon.bas-net.by.

Троцюк Людмила Леонидовна – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68-2, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: l.trotsiuk@ifanbel.bas-net.by. ORCID: 0000-0003-2072-3970

Романенко Андрей Алексеевич – науч. сотрудник. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68-2, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.ramanenka@ifanbel.bas-net.by. ORCID: 0000-0002-6336-0578

Хонгбо Ли – профессор. Пекинский технологический институт (5, South Zhongguancun Street, Beijing 10008, China). E-mail: hongbo.li@bit.edu.cn. ORCID: 0000-0002-3378-0870

Матвеевская Неонилла Анатольевна – канд. техн. наук, ст. науч. сотрудник. Институт монокристаллов НАН Украины (пр. Ленина, 60, 61001, Харьков, Украина). E-mail: neonillamatveevskaa@gmail.com.

Гапоненко Сергей Васильевич – академик, д-р физ.-мат. наук, профессор. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68-2, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: s.gaponenko@ifanbel.bas-net.by. ORCID: 0000-0003-3774-5471

Information about the authors

Kulakovich Olga S. – Ph. D. (Chemistry), Leading Researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68-2, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: o.kulakovich@ifanbel.bas-net.by. ORCID: 0000-0001-8618-6771

Gurinovich Leonid I. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior Researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68-2, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonid@dragon.bas-net.by.

Trotsiuk Liudmila L. – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68-2, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: l.trotsiuk@ifanbel.bas-net.by. ORCID: 0000-0003-2072-3970

Ramanenka Andrey A. – Researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68-2, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.ramanenka@ifanbel.bas-net.by. ORCID: 0000-0002-6336-0578

Hongbo Li – Professor. Beijing Institute of Technology (5, South Zhongguancun Street, Beijing 10008, China). E-mail: hongbo.li@bit.edu.cn. ORCID: 0000-0002-3378-0870

Matveevskaya Neonolla A. – Ph. D. (Engineering), Senior Researcher. Institute for Single Crystals of the National Academy of Sciences of Ukraine (60, Lenin Ave., 61001, Kharkiv, Ukraine). E-mail: neonillamatveevskaa@gmail.com.

Gaponenko Sergey V. – Academician, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68-2, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: s.gaponenko@ifanbel.bas-net.by. ORCID: 0000-0003-3774-5471

ХИМИЯ
CHEMISTRY

УДК 615.281:577.1; 616-097.3; 57:007
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-156-166>

Поступило в редакцию 16.02.2022
Received 16.02.2022

**А. М. Андрианов¹, К. В. Фурс², А. М. Юшкевич², А. В. Гончар²,
член-корреспондент А. В. Тузиков²**

¹*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

**IN SILICO СКРИНИНГ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ SARS-CoV-2,
БЛОКИРУЮЩИХ ТРИМЕР HR1 БЕЛКА S КОРОНАВИРУСА**

Аннотация. Сформирована виртуальная библиотека биологически активных молекул и осуществлен *in silico* скрининг низкомолекулярных химических соединений – потенциальных ингибиторов SARS-CoV-2, способных связываться с тримером HR1 белка S и блокировать образование 6-спирального пучка 6-НВ (six-helix bundle), критического для слияния мембран вируса и клетки-мишени и его инфективности. Методами молекулярного моделирования выполнена оценка эффективности связывания идентифицированных соединений с тримером HR1 белка S. В результате обнаружены 12 молекул, характеризующихся высокой аффинностью связывания с этим функционально важным участком оболочки вируса. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования этих соединений в работах по созданию новых противовирусных препаратов – ингибиторов слияния SARS-CoV-2, которые могут блокировать проникновение вируса в клетку хозяина.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, белок S, тример HR1, ингибиторы слияния SARS-CoV-2, молекулярное моделирование, противовирусные препараты

Для цитирования. *In silico* скрининг потенциальных ингибиторов SARS-CoV-2, блокирующих тример HR1 белка S коронавируса / А. М. Андрианов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 156–166. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-156-166>

**Alexander M. Andrianov¹, Konstantin V. Furs², Artsemi M. Yushkevich², Anna V. Gonchar²,
Corresponding Member Alexander V. Tuzikov²**

¹*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**IN SILICO SCREENING OF THE POTENTIAL SARS-CoV-2 INHIBITORS BLOCKING
THE HR1 TRIMER OF THE CORONAVIRUS PROTEIN S**

Abstract. A virtual library of biologically active molecules has been formed and *in silico* screening has been carried out for identification of small-molecule chemical compounds – potential SARS-CoV-2 inhibitors able to bind to the HR1 trimer of the protein S and to block the formation of a six-helix bundle 6-HB, which is critical for the virus-cell fusion and viral infectivity. Molecular modeling methods were used to evaluate the binding affinity of the identified compounds to the HR1 trimer of the protein S. As a result, 12 molecules exhibiting the high binding affinity to this functionally important region of the virus were found. The data obtained indicate the promise of using these compounds in the development of new antiviral drugs presenting SARS-CoV-2 fusion inhibitors that can block the virus entry into the host cell.

Keywords: SARS-CoV-2, protein S, trimer HR1, SARS-CoV-2 fusion inhibitors, molecular modeling, antiviral drugs

For citation. Andrianov A. M., Furs K. V., Yushkevich A. M., Gonchar A. V., Tuzikov A. V. *In silico* screening of the potential SARS-CoV-2 inhibitors blocking the HR1 trimer of the coronavirus protein S. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 156–166 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-156-166>

Введение. Первые два десятилетия XXI в. ознаменовались появлением новых зоонозных коронавирусных заболеваний, таких как тяжелый острый респираторный синдром (SARS, Severe Acute Respiratory Syndrome) [1], Ближневосточный респираторный синдром (MERS, Middle East Respiratory Syndrome) [2] и COVID-19 [3]. Все эти заболевания представляют собой серьезную угрозу для мировой общественности, подвергая риску здоровье людей и нанося значительный ущерб экономике. Широко распространенные коронавирусы человека 229E (HCoV-229E), HCoV-NL63 и HCoV-OC43 могут вызывать инфекции верхних дыхательных путей у взрослых и детей, в ряде случаев сопровождающиеся летальным исходом [4]. Более того, недавние исследования показали, что некоторые коронавирусы, обнаруженные у летучих мышей и связанные с атипичной пневмонией (SARS-CoV), могут привести к новым коронавирусным заболеваниям в будущем [5]. Очевидно, что это требует оперативной разработки новых эффективных противовирусных препаратов широкого спектра действия для терапии коронавирусных инфекций и предотвращения будущих пандемий или эпидемий.

Разработка ингибиторов коронавирусов, блокирующих их репликацию на различных этапах жизненного цикла, зависит от выявления консервативных и функционально важных целевых сайтов, которые могут быть использованы в качестве перспективных мишеней для создания противовирусных препаратов широкого спектра действия. Шиповидный белок оболочки коронавируса человека SARS-CoV-2 – этиологического агента COVID-19 – является трансмембранным гликопротеином класса I и включает две субъединицы S1 и S2, играющие ключевую роль в распознавании рецепторов, связывании, слиянии мембран и последующем проникновении вирусного генома в клетку-мишень [6]. Субъединица S2 состоит из пептида слияния, двух областей гептадных повторов HR1 и HR2, трансмембранного домена и цитоплазматического домена [6]. Взаимодействие рецептор-связывающего сайта в субъединице S1 с клеточным рецептором ACE2 (ангиотензинпревращающий фермент 2) вызывает структурные изменения в субъединице S2, приводящие к обнажению пептида слияния и его внедрению в клеточную мембрану. Затем три спирали HR1 связываются друг с другом, образуя внутренний тример с тремя открытыми гидрофобными бороздками. Взаимодействие тримера HR1 со спиралью домена HR2 приводит к формированию консервативного 6-спирального пучка 6-НВ (six-helix bundle), инициирующего сближение мембран вируса и клетки-мишени [6]. Необходимо отметить, что образование 6-НВ, главным образом опосредованное областями HR1 и HR2 субъединицы S2 белка S, является общим для всех известных коронавирусов, включая доминирующий в настоящее время «омикрон»-штамм SARS-CoV-2 [7]. В связи с этим представляется крайне перспективной стратегия создания противовирусных агентов широкого спектра действия, способных предотвращать образование 6-спирального пучка 6-НВ, критического для слияния мембран и инфективности вируса.

В [8] Шибо Дзян и соавт. разработали пептидный ингибитор слияния коронавирусов EK1, который нацелен на домен HR1 белка S и может ингибировать различные коронавирусы человека, включая SARS-CoV и MERS-CoV. В более поздней работе [9] эти авторы создали на основе EK1 набор липопептидов и обнаружили, что липопептидный аналог EK1 EK1C4 является более мощным ингибитором слияния SARS-CoV-2 и псевдовирусной инфекции по сравнению с исходным пептидом EK1 [9]. Липопептид EK1C4 оказался также высокоэффективным против слияния мембран и заражения другими псевдовirusами коронавируса человека, такими как SARS-CoV и MERS-CoV, и сильно ингибировал репликацию пяти исследованных живых коронавирусов человека, включая SARS-CoV-2 [9]. Интраназальное применение EK1C4 до или после заражения HCoV-OC43 защищало мышей от инфекции, что позволило высказать предположение о возможном использовании EK1C4 для профилактики и лечения инфекции, вызванной циркулирующими в настоящее время штаммами коронавируса SARS-CoV-2 [7; 9].

Несмотря на достигнутый успех в разработке пептидных агентов EK1 и EK1C4, способных блокировать слияние мембран коронавируса и клетки-мишени, эти ингибиторы имеют ряд недостатков, которые могут ограничить их применение в клинической практике. К этим недостаткам в первую очередь следует отнести ряд присущих пептидным молекулам нежелательных физико-

химических свойств, таких как переменная растворимость, низкая биодоступность и ограниченная стабильность, что делает затруднительной системную доставку лекарства к биологической мишени [10]. Поэтому актуальным является поиск низкомолекулярных соединений – пептидомиметиков EK1/EK1C4, которые могут связываться с тримером HR1 SARS-CoV-2 и блокировать образование 6-спирального пучка 6-НВ.

В настоящей работе методами виртуального скрининга идентифицированы малые молекулы, потенциально активные по отношению к домену HR1 белка S коронавируса. Для этого были проведены исследования, которые включали:

формирование виртуальной молекулярной библиотеки, содержащей соединения, находящиеся на стадиях лабораторных исследований, клинических испытаний или использования в медицинской практике;

молекулярный докинг этих соединений с доменом HR1 белка S SARS-CoV-2;

оценку аффинности связывания комплексов лиганд/HR1 с использованием трех разных оценочных функций (ОФ);

расчеты экспоненциального консенсусного ранга (ECR) для каждого соединения и выбор лигандов с лучшими значениями ECR;

молекулярную динамику комплексов лиганд/HR1 и отбор соединений, перспективных для тестирования на противовирусную активность.

Материалы и методы исследования. *Формирование виртуальной библиотеки биологически активных соединений.* При формировании библиотеки биологически активных молекул учитывали следующие критерии: свободный академический доступ к данным, наличие структур соединений в формате файлов химических данных SDF (Structure Data File) (<https://www.fda.gov/media/151718/download>), активная поддержка баз данных и наличие информации о возможности синтеза и покупки молекулы. В соответствии с этими критериями были выбраны следующие базы данных со свободным доступом:

DrugBank – база данных, содержащая подробную информацию о более чем 10 000 лекарств (<https://go.drugbank.com/>);

ZINC15 – база данных, включающая несколько сотен миллионов коммерчески доступных соединений для виртуального скрининга потенциальных лекарств (<https://zinc.docking.org/>);

Selleck Chemicals – база данных, содержащая более 120 000 ингибиторов, используемых в исследованиях сигнальных путей клеток (<https://www.selleckchem.com/>).

При сборке молекулярной библиотеки из приведенных баз были отобраны и загружены в формате SDF химические соединения, находящиеся на стадиях лабораторных исследований, клинических испытаний или применения в медицинской практике. В результате собранная виртуальная библиотека включала 28 806 соединений, потенциальную активность которых по отношению к домену HR1 SARS-CoV-2 оценивали методами молекулярного докинга.

Молекулярный докинг. Подготовку соединений для молекулярного докинга осуществляли с помощью программного пакета MGLTools (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/>). Докинг проводили с использованием программы AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu>) в приближении жесткого рецептора и гибких лигандов. Структуру домена HR1 выделяли из его комплекса с доменом HR2 белка S SARS-CoV-2 в кристалле (PDB ID: 6LXT) [9]. Ячейка для докинга охватывала область белка S, которая включала сайт связывания пептида EK1 с доменом HR1 [9] и имела следующие параметры: $\Delta X = 16,18 \text{ \AA}$, $\Delta Y = 13,62 \text{ \AA}$, $\Delta Z = 38,82 \text{ \AA}$ с центром в точках $X = -3,97 \text{ \AA}$, $Y = 1,81 \text{ \AA}$, $Z = -25,89 \text{ \AA}$. Параметр, характеризующий полноту поиска (охват конформационного пространства), был задан равным 100 (<https://vina.scripps.edu>).

Оценка аффинности связывания комплексов лиганд/HR1. Значения свободной энергии связывания лигандов с тримером HR1 рассчитывали с помощью классической ОФ AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu>) и двух функций машинного обучения – RF-Score-4 (<https://pjballester.wordpress.com/software/>) и NNScore 2.0 (<https://git.durrantlab.pitt.edu/jdurrant/nnscore2>). Затем для всех соединений определяли их ранги согласно каждой ОФ и из этих данных вычисляли величину экспоненциального консенсусного ранга (ECR) по следующей формуле [11]:

$$ECR = \sum_{sf} \frac{1}{\sigma_{sf}} \exp \left\{ -\frac{\text{rank}_{sf}}{\sigma_{sf}} \right\},$$

где rank_{sf} – ранг соединения по данным ОФ sf ; σ_{sf} – параметр, контролирующий влияние ОФ на результаты консенсусного отбора (при расчетах ECR для всех рассматриваемых ОФ значение σ_{sf} задавали равным 10, предполагая, что их вклады в суммарную величину ECR одинаковы). Соединения ранжировали на основе величин ECR; при этом соединения с одинаковым рангом включали в отдельные группы. В результате из 28 806 исходных молекул были отобраны лиганды, которые принадлежали к 11 группам с высшими значениями ECR, что позволило идентифицировать 43 соединения, комплексы которых с тримером HR1 анализировали методами молекулярной динамики.

Молекулярная динамика. Молекулярную динамику комплексов лиганд/HR1 в воде выполняли в программном пакете Amber18 с использованием силовых полей Amber ff14SB (домен HR1) и GAFF (лиганды) (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Для задания парциальных зарядов атомов (модель AM1-BCC) использовали модуль Antechamber программного пакета AmberTools18 (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Атомы водорода добавляли с помощью программы tleap пакета AmberTools18. Комплексы помещали в кубическую коробку, заполняли растворителем (модель воды TIP3P; <https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>) и добавляли ионы Na^+ и Cl^- до значения ионной силы, равного 0,15 М. Систему минимизировали методами наискорейшего спуска (500 шагов) и сопряженных градиентов (500 шагов), нагревали от 0 до 300 К в течение 50 пс в рамках статистического ансамбля NVT и термостата Ланжевена, а затем уравнивали в течение 50 пс и давлении 1,0 атм (ансамбль NPT, баростат Берендсена). На заключительном шаге систему уравнивали в течение 0,5 нс при постоянном объеме и проводили молекулярную динамику длительностью 150 нс в изобарно-изотермических условиях при температуре 300 К и давлении 1 атм. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма «leap-frog» (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>) с шагом интегрирования 2,0 фс. Для фиксации длин связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Максимальное расстояние, на котором учитывали электростатические взаимодействия, задавали равным 8,0 Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>).

Анализ межмолекулярных взаимодействий и аффинности связывания. Водородные связи, катион-π взаимодействия и ван-дер-ваальсовы контакты, реализующиеся в статических моделях комплексов лиганд/HR1, идентифицировали с помощью программы BINANA (<https://durrant-lab.pitt.edu/binana/>). Средние значения энергии связывания для динамических моделей комплексов лиганд/HR1 рассчитывали с помощью метода MM/GBSA в программном пакете AMBER 18 (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). При расчете свободной энергии первые 30 нс молекулярно-динамического (МД) моделирования отводили на релаксацию системы и не учитывали в расчетах. Энергию связывания вычисляли для 120 «точек» МД траектории, разделенных временным интервалом 1 нс. Для расчета полярной составляющей энергии сольватации использовали континуальную модель растворителя Пуассона–Больцмана с ионной силой 0,15 М. Неполарные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Энтропийную компоненту свободной энергии Гиббса рассчитывали с использованием программного модуля Nmode (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). Анализ МД траекторий выполняли с помощью программного модуля CPPTRAJ пакета AmberTools 18 (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>).

Результаты и их обсуждение. В результате анализа полученных данных были идентифицированы 12 соединений (рис. 1), лучших по значению экспоненциального консенсусного ранга ECR и проявляющих высокое сродство к домену HR1 S-белка SARS-CoV-2. Поэтому эти соединения были отобраны в качестве наиболее перспективных кандидатов для разработки эффективных ингибиторов слияния коронавируса.

Исследование статических моделей комплексов лиганд/HR1 (рис. 2) показывает, что все идентифицированные соединения связываются с гидрофобной бороздкой между спиралями

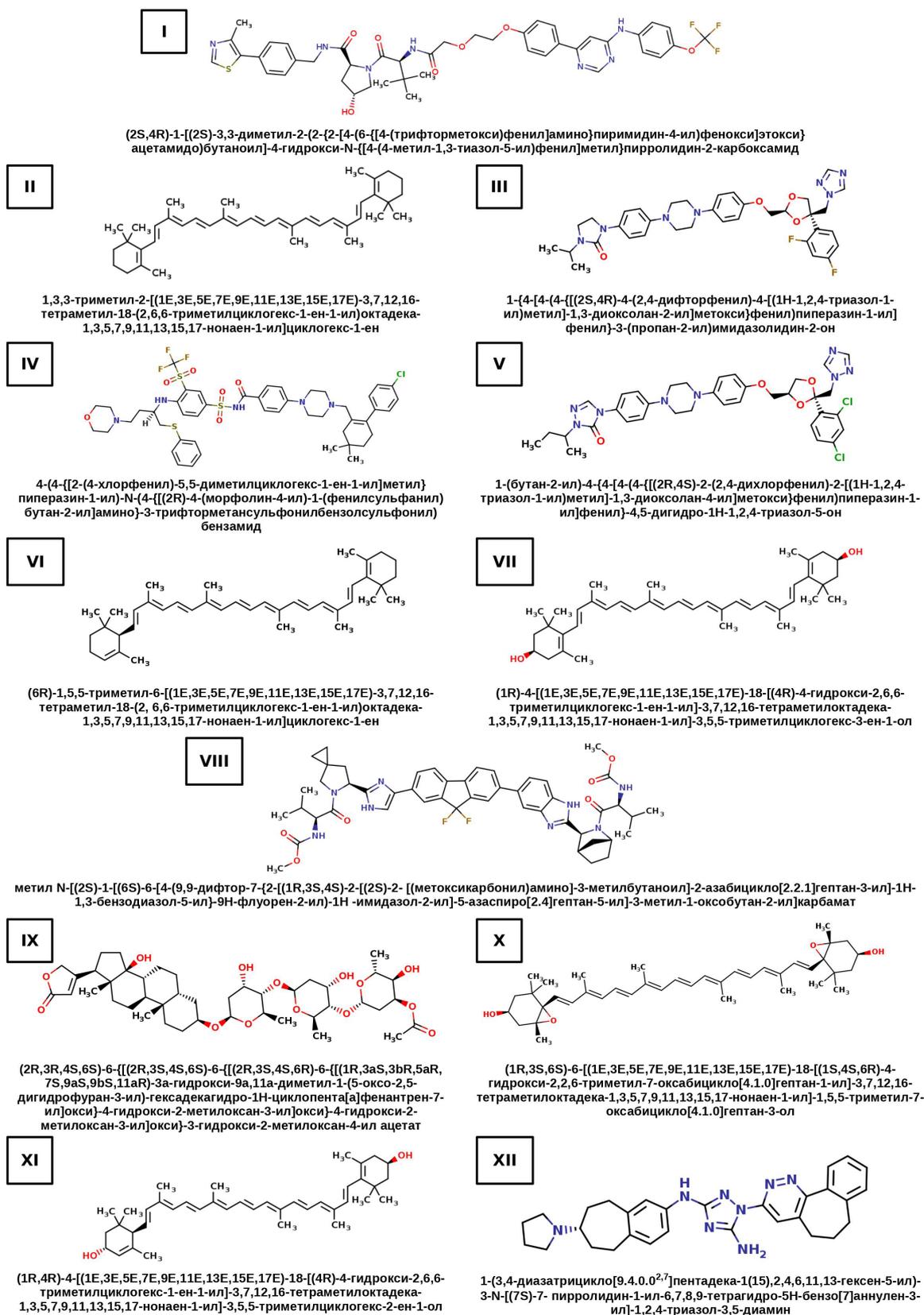


Рис. 1. Химические структуры идентифицированных соединений. Приведены названия соединений согласно систематической номенклатуре ИЮПАК

Fig. 1. Chemical structures of the identified compounds. The names of the compounds are given according to the IUPAC systematic nomenclature

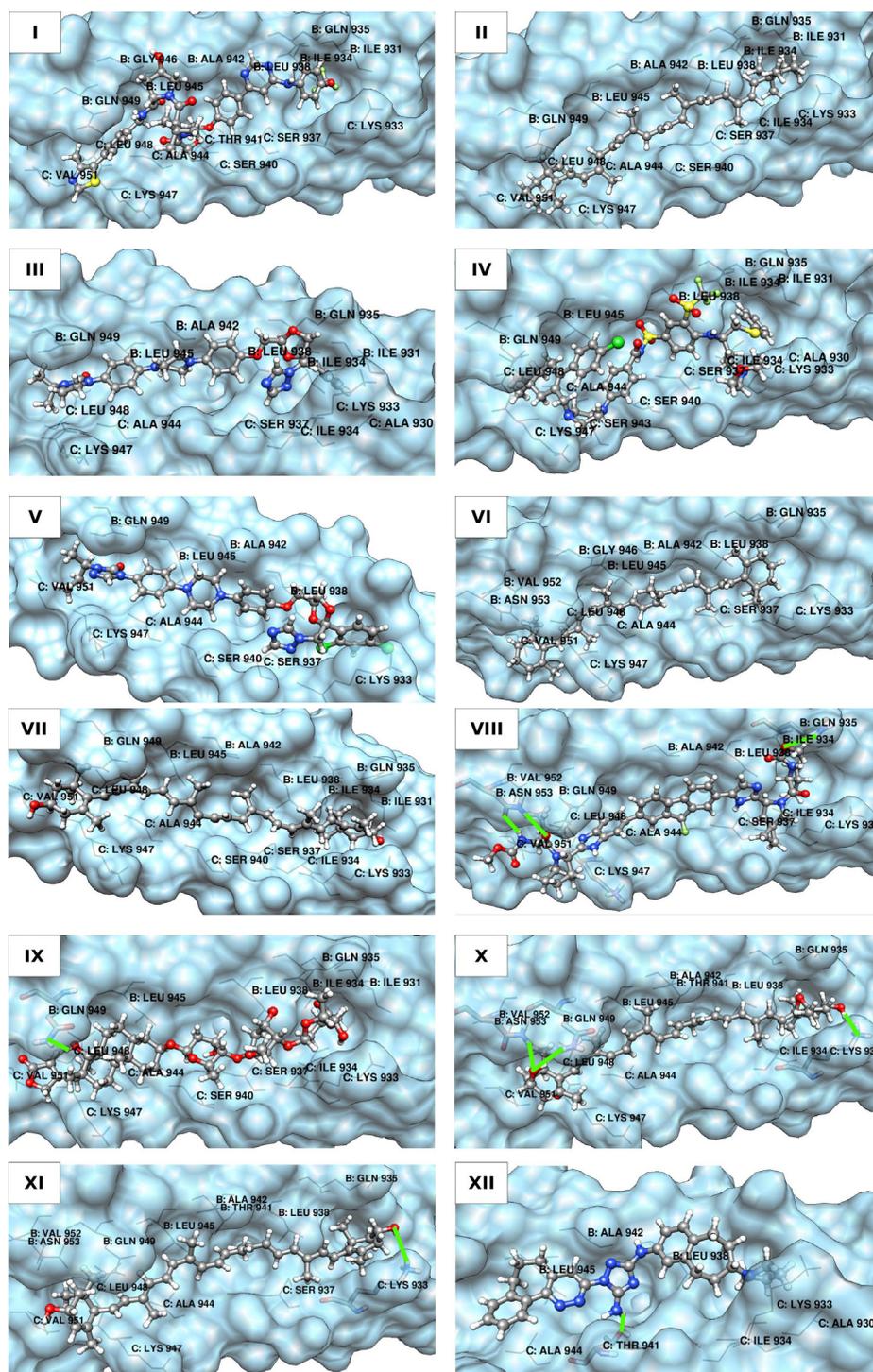


Рис. 2. Структурные комплексы идентифицированных соединений с тримером HR1 S-белка SARS-CoV-2, построенные методом молекулярного докинга. Соединения представлены моделью «шарик–палочка». Остатки HR1, образующие межатомные контакты с лигандами, указаны вместе с обозначениями соответствующих спиралей тримера. Остатки HR1, участвующие в водородных связях, обозначены палочковой моделью. Водородные связи показаны сплошными зелеными линиями. Проволочная модель использована для обозначения остатков HR1, образующих ван-дер-ваальсовы контакты

Fig. 2. Structural complexes of the identified compounds with the HR1 trimer of the SARS-CoV-2 S protein obtained by molecular docking. The compounds are represented by a ball-stick model. The HR1 residues forming interatomic contacts with the ligands are indicated together with the notations of the corresponding protein chains. Residues of the HR1 trimer involved in hydrogen bonding are indicated by a stick model. Hydrogen bonds are shown by green solid lines. The wire model is used to designate the HR1 residues forming van der Waals contacts

тримера и образуют широкую сеть межмолекулярных взаимодействий, включающую многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты, водородные связи (соединения VIII–XII) и катион-π взаимодействия (соединение VIII). При этом доминирующую роль в стабилизации структурных комплексов домена HR1 SARS-CoV-2 с лигандами играют ван-дер-ваальсовы взаимодействия, в которые вовлечены остатки, важные для образования 6-спирального пучка 6-НВ. Эффективность межмолекулярных взаимодействий обнаруженных соединений с доменом HR1 SARS-CoV-2 подтверждают низкие значения свободной энергии связывания, свидетельствующие о высоком химическом средстве этих лигандов к молекулярной мишени (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Значения свободной энергии связывания ΔG и констант диссоциации K_d , рассчитанные для статических моделей комплексов лиганд/HR1 с помощью ОФ Vина, RFScore4 и NNScore 2.0

T a b l e 1. The values of binding free energy ΔG and dissociation constants K_d , calculated for the static ligand/HR1 models using scoring functions Vина, RFScore4 and NNScore 2.0

Лиганд Ligand	ΔG_{Vina} , ккал/моль ΔG_{Vina} , kcal/mol	$K_{d\text{Vina}}$, нМ $K_{d\text{Vina}}$, nM	$\Delta G_{\text{RFScore4}}$, ккал/моль $\Delta G_{\text{RFScore4}}$, kcal/mol	$K_{d\text{RFScore4}}$, нМ $K_{d\text{RFScore4}}$, nM	$\Delta G_{\text{NNScore2.0}}$, ккал/моль $\Delta G_{\text{NNScore2.0}}$, kcal/mol	$K_{d\text{NNScore2.0}}$, нМ $K_{d\text{NNScore2.0}}$, nM
I	-8,2	1655	-10,6	32,4	-9,6	169,70
II	-8,5	1017	-9,7	134,9	-12,8	1,00
III	-9,2	326	-10,6	33,1	-10,0	95,50
IV	-8,7	735	-11,1	14,8	-12,7	1,10
V	-8,7	735	-10,3	51,3	-11,1	14,10
VI	-8,7	735	-9,6	169,8	-13,1	0,54
VII	-9,0	452	-9,8	123,0	-12,4	1,90
VIII	-9,1	384	-10,6	31,6	-13,1	0,58
IX	-8,8	625	-10,5	39,8	-11,4	8,80
X	-9,4	236	-10,4	50,1	-13,1	0,60
XI	-8,8	625	-9,7	151,4	-12,7	1,10
XII	-9,8	123	-9,7	151,4	-10,4	50,20

Известно, что расчеты методами молекулярного докинга энергии межмолекулярных взаимодействий связаны с различными приближениями, которые варьируют от упрощенных форм уравнений до приближений, ограничивающих размер системы и фундаментальных приближений в уравнениях, необходимых для решения задачи, что приводит к относительно большим погрешностям в оценке аффинности связывания [11]. Поэтому для более корректного ранжирования

Т а б л и ц а 2. Средние значения свободной энергии связывания $\langle \Delta G \rangle$ и соответствующие им стандартные отклонения ΔG_{STD} , рассчитанные для динамических моделей комплексов лиганд/HR1

T a b l e 2. The mean values of binding free energy $\langle \Delta G \rangle$ and their standard deviations ΔG_{STD} calculated for the dynamic ligand/HR1

Лиганд Ligand	$\langle \Delta H \rangle$, ккал/моль $\langle \Delta H \rangle$, kcal/mol	ΔH_{STD} , ккал/моль ΔH_{STD} , kcal/mol	$\langle T\Delta S \rangle$, ккал/моль $\langle T\Delta S \rangle$, kcal/mol	$(T\Delta S)_{\text{STD}}$, ккал/моль $(T\Delta S)_{\text{STD}}$, kcal/mol	$\langle \Delta G \rangle$, ккал/моль $\langle \Delta G \rangle$, kcal/mol	ΔG_{STD} , ккал/моль ΔG_{STD} , kcal/mol
I	-39,36	4,40	-28,30	4,25	-12,98	4,23
II	-42,42	3,35	-28,93	2,74	-13,61	4,15
III	-37,35	5,10	-26,93	2,58	-10,80	5,43
IV	-36,22	5,99	-26,85	3,23	-9,25	6,68
V	-41,40	4,26	-28,42	2,83	-12,95	4,55
VI	-42,00	3,47	-29,65	3,34	-12,37	4,48
VII	-43,45	3,79	-30,73	3,21	-12,76	4,11
VIII	-36,50	5,56	-26,84	2,98	-9,44	5,14
IX	-41,55	4,94	-29,65	3,28	-11,47	4,67
X	-41,64	4,35	-30,47	3,19	-10,21	5,09
XI	-42,26	3,59	-30,75	3,14	-11,75	4,69
XII	-33,65	3,36	-23,88	2,72	-9,49	4,24

П р и м е ч а н и я: $\langle \Delta H \rangle$ и $\langle T\Delta S \rangle$ – соответственно средние значения энтальпийной и энтропийной составляющих свободной энергии; $(\Delta H)_{\text{STD}}$ и $(T\Delta S)_{\text{STD}}$ – соответствующие этим значениям стандартные отклонения.

N o t e s: $\langle \Delta H \rangle$ and $\langle T\Delta S \rangle$ are the mean values of enthalpic and entropic components of free energy, respectively; $(\Delta H)_{\text{STD}}$ and $(T\Delta S)_{\text{STD}}$ are standard deviations for these values.

потенциальных ингибиторов SARS-CoV-2 по эффективности связывания с HR1 в настоящей работе кроме классической ОФ Vina использованы две дополнительные функции – RFScore4 и NNScore 2.0 – и выполнено ранжирование лигандов по величине ECR. Такой подход повышает надежность ранжирования лигандов по данным молекулярного докинга [11] и позволяет провести отбор наиболее перспективных соединений для проведения более точных МД расчетов.

Действительно, данные молекулярной динамики согласуются с основными выводами, сделанными на основе анализа статических моделей комплексов лиганд/HR1. Эти комплексы отно-

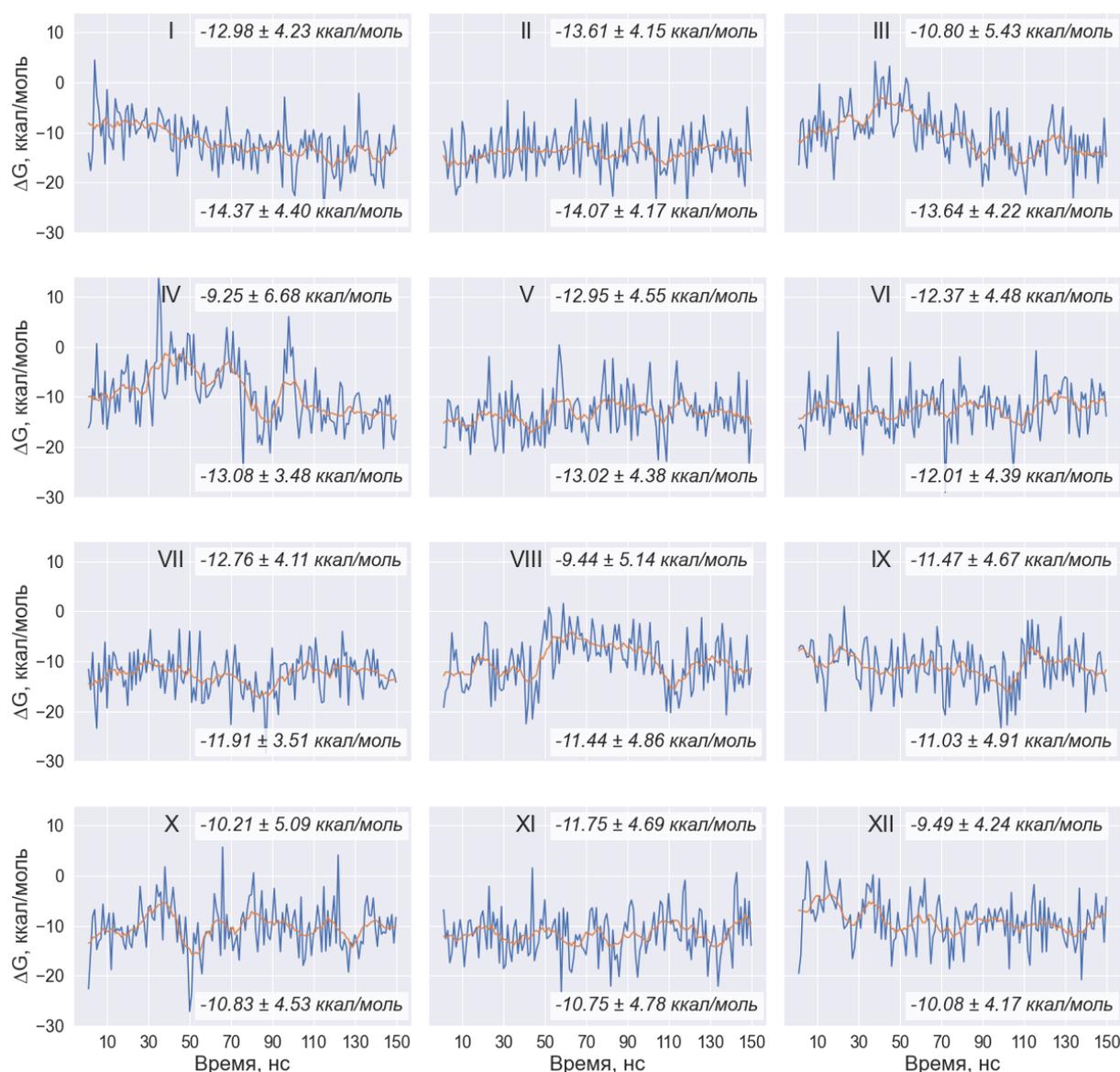


Рис. 3. Зависимости свободных энергий связывания для комплексов идентифицированных соединений с доменом HR1 S-белка SARS-CoV-2 от времени. На графике оранжевая линия показывает простое скользящее среднее во временном диапазоне 11 нс. В правом верхнем углу указаны средние значения свободных энергий связывания и соответствующие им стандартные отклонения, рассчитанные для последних 120 нс траекторий МД. В правом нижнем углу приведены средние значения свободной энергии образования комплексов и соответствующие стандартные отклонения, вычисленные для конечного временного интервала 50 нс

Fig. 3. Time dependences of binding free energies for complexes of the identified compounds with the HR1 domain of the SARS-CoV-2 S protein. On the chart, the orange line shows a simple moving average over the 11 ns time domain. In the upper right corner, the mean values of binding free energies and corresponding standard deviations calculated for the last 120 ns of the MD trajectories are indicated. In the lower right corner, the averages of binding free energy and corresponding standard deviations calculated for the final 50 ns time domain are given

сительно стабильны в течение МД расчетов, на что указывают средние значения свободной энергии связывания и соответствующие им стандартные отклонения (табл. 2). Вывод о стабильности динамических структур лиганд/HR1 подтверждают также данные о временных зависимостях свободной энергии связывания, свидетельствующие об отсутствии тенденции к увеличению значений ΔG с течением времени (рис. 3). Более того, комплексы соединений I–IV и VIII с доменом HR1 демонстрируют снижение средних значений энергии связывания на заключительных участках МД траекторий длительностью 50 нс (рис. 3), что является дополнительным свидетельством их конформационной стабильности.

Изучение данных о вкладах отдельных аминокислотных остатков S-белка SARS-CoV-2 в энергию связывания позволило выявить аминокислоты, доминирующие в интерфейсе лиганд/HR1. Среди этих остатков следует в первую очередь выделить аминокислоты В:Gln 935, В:Leu 938, В:Ala 942, В:Leu 945, С:Lys 933, С:Ile 934, С:Ser 937, С:Ala. 944 и С:Leu 948 (рис. 2). Эти данные показывают, что существует ряд ключевых остатков, которые играют роль «горячих» точек связывания, способствующих идентифицированным соединениям эффективно взаимодействовать с тримером HR1.

Таким образом, данные об аффинности связывания предсказанных соединений с тримером HR1, полученные с использованием четырех различных ОФ, согласуются друг с другом (табл. 1 и 2), свидетельствуя о том, что вычислительный подход, примененный в данном исследовании, позволил избежать ложноположительных результатов и правильно оценить силу межмолекулярных взаимодействий. Это предположение косвенно подтверждается данными новой работы Шена и соавт. [12], в которой изучалось влияние комбинаций термов из нескольких ОФ на точность предсказания энергии связывания. Согласно этому исследованию, комбинация NNScore 2.0 с несколькими другими классическими ОФ может обеспечить наилучшую точность предсказания аффинности связывания [12]. В целом эти результаты обеспечивают убедительные доказательства того, что идентифицированные молекулы могут демонстрировать низкие значения свободной энергии связывания в комплексах с доменом HR1.

Заключение. Результаты молекулярного докинга и молекулярной динамики показывают, что идентифицированные соединения (рис. 1) способны связываться с тримером HR1 S-белка SARS-CoV-2 путем эффективных взаимодействий с гидрофобными бороздками между спиралью тримера, которые включают многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты, водородные связи (соединения VIII–XII) и катион- π взаимодействия (соединение VIII) (рис. 2). Эффективность этих взаимодействий подтверждают низкие значения свободной энергии образования комплексов лиганд/HR1 и Kd (табл. 1), указывающие на высокое сродство обнаруженных молекул к области белка S, критической для слияния мембран вируса и клетки-мишени (табл. 1 и 2, рис. 3). Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования этих соединений в работах по созданию новых противовирусных препаратов – ингибиторов слияния SARS-CoV-2, блокирующих проникновение вируса в клетку хозяина.

В заключение следует отметить, что идентифицированные соединения (рис. 1) разработаны для терапии различных заболеваний, не связанных с коронавирусной инфекцией, и находятся либо на различных стадиях клинических испытаний, либо уже используются в медицинской практике (соединения II, V, VII, VIII, IX и XI). Очевидно, что профили безопасности соединений, одобренных для применения в клинике, хорошо документированы, и эти данные могут существенно облегчить и ускорить процесс их перепрофилирования для лечения пациентов, инфицированных SARS-CoV-2.

Благодарности. Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект X21COVID-003).

Acknowledgments. The research is supported by the Belarusian Republican Foundation of Fundamental Research (Project X21COVID-003).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Holmes, K. V. SARS coronavirus: a new challenge for prevention and therapy / K. V. Holmes // *J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 111, N 11. – P. 1605–1609. <https://doi.org/10.1172/jci18819>
2. Graham, R. L. A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses / R. L. Graham, E. F. Donaldson, R. S. Baric // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2013. – Vol. 11, N 12. – P. 836–848. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3143>
3. Jiang, S. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies / S. Jiang, L. Du, Z. Shi // *Emerg. Microbes Infect.* – 2020. – Vol. 9, N 1. – P. 275–277. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1723441>
4. More than just a common cold: Endemic coronaviruses OC43, HKU1, NL63, and 229E associated with severe acute respiratory infection and fatality cases among healthy adults / A. Veiga [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2021. – Vol. 93, N 2. – P. 1002–1007. <https://doi.org/10.1002/jmv.26362>
5. Cui, J. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses / J. Cui, F. Li, Z. L. Shi // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2019. – Vol. 17, N 3. – P. 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
6. Pan-coronavirus fusion inhibitors as the hope for today and tomorrow / X. Wang [et al.] // *Prot. Cell.* – 2021. – Vol. 12, N 2. – P. 84–88. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00806-7>
7. Peptide-based pan-CoV fusion inhibitors maintain high potency against SARS-CoV-2 Omicron variant / S. Xia [et al.] // *Cell Res.* – 2022. <https://doi.org/10.1038/s41422-022-00617-x>
8. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike / S. Xia [et al.] // *Sci. Adv.* – 2019. – Vol. 5, N 4. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav4580>
9. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion / S. Xia [et al.] // *Cell Res.* – 2020. – Vol. 30, N 4. – P. 343–355. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x>
10. Peptides as drug candidates: Limitations and recent development perspectives / Y. A. Haggag [et al.] // *Biomed. J. Sci. & Tech. Res.* – 2018. – Vol. 8, N 4. – P. 6659–6662. <https://doi.org/10.26717/bjstr.2018.08.001694>
11. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking / K. Palacio-Rodríguez [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, N 1. – Art. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3>
12. Can machine learning consistently improve the scoring power of classical scoring functions? Insights into the role of machine learning in scoring functions / C. Shen [et al.] // *Brief. Bioinform.* – 2021. – Vol. 22, N 1. – P. 497–514. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz173>

References

1. Holmes K. V. SARS coronavirus: a new challenge for prevention and therapy. *Journal of Clinical Investigation*, 2003, vol. 111, no. 11, pp. 1605–1609. <https://doi.org/10.1172/jci18819>
2. Graham R. L., Donaldson E. F., Baric R. S. A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, vol. 11, no. 12, pp. 836–848. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3143>
3. Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerging Microbes & Infection*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 275–277. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1723441>
4. Veiga A. B. G., Martins L. G., Riediger I., Mazetto A., Debur M. C., Gregianini T. S. More than just a common cold: Endemic coronaviruses OC43, HKU1, NL63, and 229E associated with severe acute respiratory infection and fatality cases among healthy adults. *Journal of Medical Virology*, 2021, vol. 93, no. 2, pp. 1002–1007. <https://doi.org/10.1002/jmv.26362>
5. Cui J., Li F., Shi Z. L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, vol. 17, no. 3, pp. 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
6. Wang X., Xia S., Zhu Y., Lu L., Jiang S. Pan-coronavirus fusion inhibitors as the hope for today and tomorrow. *Protein and Cell*, 2021, vol. 12, no. 2, pp. 84–88. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00806-7>
7. Xia S., Chan J. F.-W., Wang L., Jiao F., Chik K. K.-H., Chu H., Lan Q., Xu W., Wang Q., Wang C., Yuen K.-Y., Lu L., Jiang S. Peptide-based pan-CoV fusion inhibitors maintain high potency against SARS-CoV-2 Omicron variant. *Cell Research*, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41422-022-00617-x>
8. Xia S., Yan L., Xu W., Agrawal A. S., Algaissi A., Tseng C.-T. K., Wang Q., Du L., Tan W., Wilson I. A., Jiang S., Yang B., Lu L. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike. *Science Advances*, 2019, vol. 5, no. 4. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav4580>
9. Xia S., Liu M., Wang C., Xu W., Lan Q., Feng S., Qi F., Bao L., Du L., Liu S., Qin C., Sun F., Shi Z., Zhu Y., Jiang S., Lu L. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Research*, 2020, vol. 30, no. 4, pp. 343–355. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x>
10. Haggag Y. A., Donia A. A., Osman M. A., El-Gizawy S. A. Peptides as drug candidates: Limitations and recent development perspectives. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 2018, vol. 8, no. 4, pp. 6659–6662. <https://doi.org/10.26717/bjstr.2018.08.001694>
11. Palacio-Rodríguez K., Lans I., Cavasotto C. N., Cossio P. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, no. 1, art. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3>
12. Shen C., Hu Y., Wang Z., Zhang X., Zhong H., Wang G., Yao X., Xu L., Cao D., Hou T. Can machine learning consistently improve the scoring power of classical scoring functions? Insights into the role of machine learning in scoring functions. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, vol. 22, no. 1, pp. 497–514. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz173>

Информация об авторах

Андрианов Александр Михайлович – д-р хим. наук, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrianov@iboch.by.

Фурс Константин Викторович – инженер-программист. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: кубujlo@gmail.com.

Юшкевич Артемий Михайлович – стажер мл. науч. сотрудника. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: geneprog@gmail.com.

Гончар Анна Викторовна – стажер мл. науч. сотрудника. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: raphaelkyzy@gmail.com.

Тузиков Александр Васильевич – член-корреспондент, д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий лабораторией. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.

Information about the authors

Andrianov Alexander M. – D. Sc. (Chemistry), Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: andrianov@iboch.by.

Furs Konstantin V. – Software Engineer. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: кубujlo@gmail.com.

Yushkevich Artsemi M. – Trainee of Junior Researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: artsemi.yushkevich@gmail.com.

Gonchar Anna V. – Trainee of Junior Researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: raphaelkyzy@gmail.com.

Tuzikov Alexander V. – Corresponding Member, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Head of the Laboratory. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 541.183+544.58
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-167-175>

Поступило в редакцию 04.04.2022
Received 04.04.2022

**Член-корреспондент А. И. Иванец, И. Л. Шашкова, Н. В. Китикова,
Н. В. Дроздова, А. С. Дикая**

*Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

СОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ФОСФАТОВ Zr-Ca-Mg И Ti-Ca-Mg ПО ОТНОШЕНИЮ К ИОНАМ Sr(II)

Аннотация. Осуществлен синтез фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg различного состава и изучены их сорбционные свойства по отношению к ионам Sr(II). Исследовано влияние pH водных растворов, а также фоновых электролитов NaCl, CaCl₂, раствора морской воды на сорбционно-селективные свойства фосфатных сорбентов. Изучены изотермы сорбции и кинетические закономерности извлечения ионов Sr(II), проведена математическая обработка экспериментальных данных с использованием различных моделей. Установлено, что наибольшую селективность к ионам Sr(II) проявляют Ti-содержащие сорбенты. Максимальная сорбционная емкость для образца Ti-2 достигает 196,5 мг/г (2,2 ммоль/г). Образцы фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg сохраняют высокую сорбционную емкость в 0,1 М NaCl растворе и в морской воде. Кинетика сорбции для всех сорбентов с высокой степенью достоверности ($R^2 \geq 0,99$) описывается уравнением псевдо-второго порядка, что свидетельствует о химическом взаимодействии при сорбции ионов Sr(II). Исследование фазового состава продуктов сорбции свидетельствует об ионообменном и хемосорбционном механизмах поглощения ионов Sr(II).

Ключевые слова: неорганические сорбенты, фосфаты Zr-Ca-Mg, фосфаты Ti-Ca-Mg, изотермы сорбции, кинетика сорбции, стронций

Для цитирования. Сорбционные свойства фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg по отношению к ионам Sr(II) / А. И. Иванец [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 167–175. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-167-175>

**Corresponding Member Andrei I. Ivanets, Irina L. Shashkova, Nataliya V. Kitikova,
Nataliya V. Drazdova, Anastasiya S. Dzikaya**

*Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

SORPTION PROPERTIES OF Zr-Ca-Mg AND Ti-Ca-Mg PHOSPHATES IN RELATION TO Sr(II) IONS

Abstract. The synthesis of Zr-Ca-Mg and Ti-Ca-Mg phosphates of different composition was carried out and their sorption properties to Sr(II) ions were studied. The effect of pH of aqueous solutions, as well as of background electrolytes NaCl, CaCl₂, the seawater solution on the sorption-selective properties of phosphate sorbents was studied. The sorption isotherms and kinetic regularities of the Sr(II) ion removal were studied, the mathematical modeling of the experimental data using various models was carried out. It was found that Ti-containing sorbents had the greatest selectivity to Sr(II) ions. The maximum sorption capacity for the Ti-2 sample reached 196.5 mg/g (2.2 mmol/g). Samples of Zr-Ca-Mg and Ti-Ca-Mg phosphates had a high sorption capacity in the 0.1 M NaCl solution and in seawater. The sorption kinetics for all sorbents with a high degree of confidence ($R^2 \geq 0.99$) was described by a pseudo-second-order equation, due to the chemical interaction during the Sr(II) ions sorption. The study of the phase composition of sorption products indicated the ion exchange and chemisorption mechanism of the Sr(II) ions sorption.

Keywords: inorganic sorbents, Zr-Ca-Mg phosphates, Ti-Ca-Mg phosphates, sorption isotherms, sorption kinetics, strontium

For citation. Ivanets A. I., Shashkova I. L., Kitikova N. V., Drazdova N. V., Dzikaya A. S. Sorption properties of Zr-Ca-Mg and Ti-Ca-Mg phosphates in relation to Sr(II) ions. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 167–175 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-167-175>

Введение. Стронций широко распространен в природе, встречается в отдельных регионах в виде минералов целестита SrSO₄ и стронцианита SrCO₃, присутствует в водоемах и почве в виде стабильных ионов, обнаруживается также в подземных водах [1]. Соединения стабильного стронция, его природные минералы используются в промышленности при изготовлении люми-

несцентных материалов, труб для рентгеновских установок, стекол для цветных телевизоров, керамики, сверхпроводников и другого и могут попадать в сточные воды этих предприятий [2]. При попадании в организм стронций замещает кальций в костях человека, что приводит к изменению их прочности и возникновению стронциевого рахита, особенно опасного для детей [3]. Помимо этого, источником поступления стронция в окружающую среду являются нестабильные радиоизотопы стронция, которые входят в состав жидких радиоактивных отходов, образующихся в результате функционирования атомных электростанций и ядерных установок в медицине и промышленности [4]. Радионуклиды ^{90}Sr , вследствие схожих физико-химических свойств с ионами кальция, являются трудноудаляемыми ионами, что обуславливает постоянный интерес к разработке селективных сорбентов ионов $\text{Sr}(\text{II})$ [5].

Для извлечения стронция из водных растворов применяют различные методы: осаждение, выпаривание, экстракция, мембранные технологии, коагуляция, ионный обмен, сорбция и др. [6–8]. Сорбционный метод извлечения ионов $\text{Sr}(\text{II})$ и радионуклидов ^{90}Sr получил наиболее широкое практическое применение вследствие высокой селективности синтетических сорбентов на основе фосфатов циркония и титана, гидроксипатита, а также фосфатов кальция и магния [9–11].

Ранее нами разработаны простые способы синтеза сорбентов на основе фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg [12; 13] из широко распространенного природного доломита, показана их высокая эффективность при очистке растворов сложного состава от радионуклидов ^{60}Co , ^{85}Sr , ^{137}Cs . При этом полученные композиционные фосфаты превосходят по эффективности фосфаты кальция-магния и индивидуальные фосфаты циркония и титана. Также установлено, что при термической обработке синтезированные композиционные фосфаты циркония и титана образуют двойные фосфаты кальция-циркония $\text{CaZr}_4(\text{PO}_4)_6$ и магния-циркония $\text{MgZr}_4(\text{PO}_4)_6$, изоструктурные NZP-фосфатам, которые перспективны для иммобилизации радионуклидов [13]. При этом большое значение имеют селективно-сорбционные свойства, а также емкость сорбентов в различных средах и в широком диапазоне pH, что мало изучено для фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg .

Цель настоящей работы – изучить адсорбционные свойства композиционных фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg различного состава к ионам $\text{Sr}(\text{II})$ и установить взаимосвязь в ряду синтез – структура – адсорбционные свойства.

Экспериментальная часть. Исходным сырьем для синтеза композиционных фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg являлись термически активированный при $800\text{ }^\circ\text{C}$ доломит, фосфорная кислота H_3PO_4 (20 мас. %), нитрат цирконила $\text{ZrO}(\text{NO}_3)_2$ (водный раствор 2,0 мас. %), сульфат титанилдиаммония $(\text{NH}_4)_2\text{TiO}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (водный раствор 3,85 мас. %). На первом этапе проводили фосфатирование прокаленного доломита при соотношении m / V равном 1 : 3, где m – навеска термоактивированного доломита (г), V – объем раствора 20 %-ной фосфорной кислоты (мл). В этих условиях получается фосфатированный доломит состава $\text{Ca}_{0,7}\text{Mg}_{0,3}\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, представляющий собой смесь гидрофосфатов кальция и магния. Синтез смешанных фосфатов Ti-Ca-Mg осуществляли путем взаимодействия фосфатированного доломита с 3,85 %-ным водным раствором сульфата титанилдиаммония $(\text{NH}_4)_2\text{TiO}(\text{SO}_4)_2$ при соотношении V / m равном 60 : 4 мл/г (образец Ti-Ca-Mg-1 , или сокращенно Ti-1) и 180 : 4 мл/г (образец Ti-Ca-Mg-2 , или Ti-2) при температуре $25\text{ }^\circ\text{C}$ [12]. Смешанные фосфаты Zr-Ca-Mg с содержанием 2,2 (образец Zr-Ca-Mg-1 , или сокращенно Zr-1) и 6,6 (образец Zr-Ca-Mg-2 , или Zr-2) ммоль цирконила на 1 г фосфатированного доломита получали взаимодействием фосфатированного доломита с 2,0 %-ным водным раствором нитрата цирконила $\text{ZrO}(\text{NO}_3)_2$ [13].

Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили на дифрактометре ДРОН-3 с $\text{CuK}\alpha$ излучением (диапазон 2Θ $5\text{--}70^\circ$). Химический состав образцов исследовали посредством энергодисперсионного анализа (AZtecLiveAdvanced with UltimMax 40 detector, Oxford Instruments, BognorRegis, Великобритания). Адсорбционные свойства и текстуру образцов оценивали из изотерм низкотемпературной ($-196\text{ }^\circ\text{C}$) физической адсорбции-десорбции азота, измеренных объемным методом на анализаторе площади поверхности и пористости ASAP 2020 MP (Micromeritics, США). Определение pH точки нулевого заряда ($\text{pH}_{\text{ТНЗ}}$) адсорбентов проводили путем измерения pH растворов после контакта $0,0400 \pm 0,0001$ г адсорбента с 10,0 мл 0,01 М раствора NaCl , pH

которого варьировала от 3,0 до 12,0 добавлением растворов 0,5 М HNO_3 и NaOH . Суспензию выдерживали в течение 24 ч при постоянном перемешивании на орбитальном шейкере со скоростью 200 об/мин. Адсорбент отделяли от фильтрата на бумажном фильтре, измеряли равновесный pH раствора и графическим методом определяли $\text{pH}_{\text{ТНЗ}}$ [14].

Изучение сорбции ионов Sr(II) проводилось в статических условиях из водных растворов $\text{Sr(NO}_3)_2 \cdot (\text{ч. д. а.})$ при температуре 20 °С, для чего навеску сорбента массой $0,1000 \pm 0,0001$ г выдерживали в растворе объемом 25 мл при периодическом перемешивании. Для построения изотерм сорбции готовили растворы концентрацией 50–2500 мг/л, изучение влияния pH проводилось при концентрации ионов Sr(II) 1000 мг/л, максимальную емкость сорбентов определяли из 0,05 М растворов $\text{Sr(NO}_3)_2$, продолжительность контакта сорбентов и растворов – 24 ч. Кинетические исследования проводились в растворах концентрацией 500 мг/л, варьируя продолжительность контакта сорбентов и раствора от 10 до 1440 мин. Регулирование pH растворов в интервале 3,0–9,0 производилось растворами 0,5 М HNO_3 и NaOH . По окончании заданного времени контакта сорбента и раствора суспензию отфильтровывали. Концентрацию ионов Sr(II) в исходных растворах и фильтратах определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрометре SpectraAA 220FS. Обработку экспериментальных данных проводили с использованием известных уравнений Ленгмюра, Фрейндлиха, Сипса и Редлиха–Петерсона для изотерм сорбции, а также псевдо-первого и псевдо-второго порядка для кинетических данных [15].

Результаты и их обсуждение. Согласно данным РФА (рис. 1), образцы с меньшим содержанием M(IV) Ti-1 и Zr-1 представляют собой композиты, содержащие аморфные фосфаты Zr или Ti и гидрофосфаты Ca и Mg. Помимо этого, в составе Ti-1 идентифицируются слабые рефлексы Ti-содержащих фаз – $\text{Ti}_{0,857}\text{H}_{0,571}\text{O}_2$ и CaTiO_3 . Образцы Ti-2 и Zr-2 представлены только аморфной фазой.

Ti-содержащие образцы характеризуются меньшим содержанием компонентов фосфатного прекурсора, включая фосфор, и гораздо большим содержанием M(IV) по сравнению с Zr-содержащими (табл. 1), что подтверждает наличие нефосфатных фаз в их составе (рис. 1, а). Синтезированные композиционные фосфаты представляют собой мезопористые материалы, существенно различающиеся в зависимости от состава по своим текстурным характеристикам. Для Ti-содержащих образцов наблюдается увеличение удельной поверхности и объема пор, в то время как для Zr-содержащих – уменьшение этих параметров. Увеличение содержания M(IV) сопровождается уменьшением $\text{pH}_{\text{ТНЗ}}$, что обусловлено кислотной природой поверхности образующихся фосфатов титана и циркония (табл. 1).

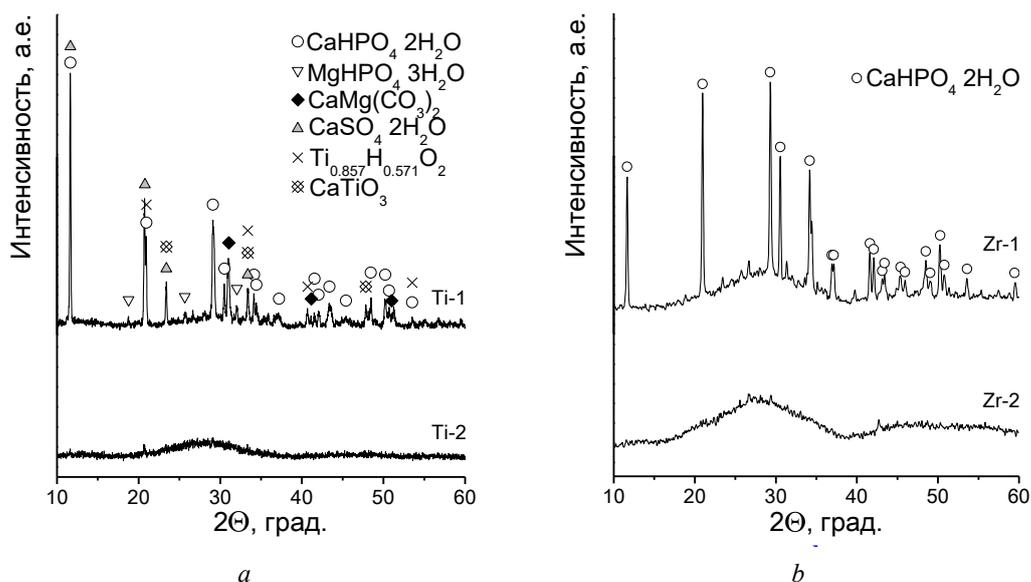


Рис. 1. Рентгенограммы исходных образцов фосфатов Ti-Ca-Mg (а) и Zr-Ca-Mg (б)

Fig. 1. X-ray patterns of the phosphate samples Ti-Ca-Mg (a) and Zr-Ca-Mg (b)

Т а б л и ц а 1. Химический состав и свойства образцов фосфатов Ti-Ca-Mg и Zr-Ca-Mg

T a b l e 1. Chemical composition and properties of the phosphate samples Ti-Ca-Mg and Zr-Ca-Mg

Образец Sample	Химический состав, ат. % Chemical composition, at. %					Текстурные свойства Texture properties			pH _{тнз}
	Ca	Mg	Ti/Zr	P	O	S _{уд.} , м ² /г	V _{дес.} , см ³ /г	D _{ср.} , нм	
Ti-1	4,32	1,76	16,9	8,21	67,1	19	0,075	10,9	7,2
Ti-2	1,33	0,06	23,6	6,89	66,1	60	0,286	19,1	5,2
Zr-1	6,00	2,50	7,8	12,9	70,8	80	0,166	7,6	7,0
Zr-2	0,70	0,40	15,1	12,7	71,1	29	0,082	9,3	4,8

Увеличение pH раствора приводит к росту сорбционной емкости для всех изученных сорбентов (табл. 2), наиболее значительному для Ti-содержащих образцов. Так, максимальная емкость сорбентов наблюдается в растворах с pH 7,0–9,0, достигая для образца Ti-2 81,5–92,6 мг/г. Для остальных сорбентов максимальные значения находятся в диапазоне 63 ± 6 мг/г.

Т а б л и ц а 2. Сорбционная емкость фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg

T a b l e 2. Sorption capacity of the phosphates Zr-Ca-Mg and Ti-Ca-Mg

Раствор Solution	Сорбционная емкость, q _e , мг/г Sorption capacity, q _e , mg/g			
	Zr-1	Zr-2	Ti-1	Ti-2
C ₀ (Sr ²⁺) = 1000 мг/л				
pH 3,0	61,1	49,3	49,3	73,0
pH 5,0	52,0	46,4	49,5	64,5
pH 7,0	56,5	62,1	65,3	81,5
pH 9,0	68,9	57,6	67,0	92,6
0,1 М NaCl	55,3	73,4	56,5	69,5
1,0 М NaCl	41,3	24,4	40,6	9,4
0,01 М CaCl ₂	31,7	39,5	37,4	33,9
0,1 М CaCl ₂	12,0	7,0	32,4	4,9
Морская вода*	37,9	17,7	27,5	0,1
C ₀ (Sr ²⁺) = 4400 мг/л (0,05 М)				
H ₂ O	152,8	82,1	142,0	196,5

П р и м е ч а н и е. * – модельный раствор, содержащий ионы Na⁺ (0,468 М), K⁺ (0,01 М), Mg²⁺ (0,053 М), Ca²⁺ (0,011 М), Cl⁻ (0,548 М), SO₄²⁻ (0,028 М) с общим солесодержанием 35 г/л.

N o t e. * – model solution containing Na⁺ (0.468 M), K⁺ (0.01 M), Mg²⁺ (0.053 M), Ca²⁺ (0.011 M), Cl⁻ (0.548 M) ions, SO₄²⁻ (0.028 M) with a total salt content of 35 g/l.

Сорбционная емкость фосфатов Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg в малосолёных растворах (0,1 М NaCl) близка к емкости в водных растворах с pH 5,0–7,0, при этом наибольшие значения получены для образцов Zr-2 и Ti-2. С увеличением концентрации NaCl для этих образцов емкость снижается в 3–7 раз, в то время как для Zr-1 и Ti-1 всего на 25–28 %. Аналогичная зависимость от концентрации электролита наблюдается и в присутствии CaCl₂ при более низких значениях. В модельных растворах морской воды более высокую сорбционную емкость сохранили Zr-содержащие образцы. Наибольшее снижение емкости, как и в 1,0 М NaCl, отмечено для образца Ti-2. Такое поведение сорбентов обусловлено высоким содержанием одновалентных ионов Na⁺, что связано с особенностями механизма поглощения ионов Sr²⁺ и будет рассмотрено ниже.

Сорбционная емкость для изученных сорбентов существенно зависит от концентрации раствора. Так, в 0,05 М Sr(NO₃)₂ растворе максимальная емкость составляет от 82,1 до 196,5 мг/г и сорбенты образуют ряд



Изотермы сорбции ионов Sr^{2+} для Ti-содержащих сорбентов (рис. 2, *a, b*) по классификации Джайлса [15] соответствуют L-типу, в то время как для сорбентов Zr-1 и Zr-2 (рис. 2, *c, d*) относятся к H-типу, характеризующемуся меньшим углом наклона к оси ординат. Это свидетельствует о более высоком сродстве Zr-содержащих сорбентов к ионам Sr(II) и более высокой эффективности в растворах с низкой концентрацией раствора нитрата стронция.

Наибольшие значения коэффициента аппроксимации R^2 получены для уравнения Ленгмюра и моделей Сипса и Редлиха–Петерсона (табл. 3), что на рис. 2 проявляется практически слиянием кривых, а наименьшие – для уравнения Фрейндлиха. Значительные отклонения q_m от $q_{e,\text{exp}}$, за исключением образца Ti-2, не позволяют использовать уравнения Сипса и Редлиха–Петерсона для интерпретации экспериментальных данных. Полученные данные свидетельствуют о преимущественно мономолекулярной сорбции ионов Sr(II).

Для Zr-содержащих образцов сорбционное равновесие достигается в течение 60–80 мин, а для фосфатов Ti-Ca-Mg – в течение 200–250 мин. По кинетике сорбции фосфаты Zr-Ca-Mg различного состава близки между собой, в то время как Ti-содержащие образцы различаются по скорости сорбции ионов Sr(II). Так, образец Ti-1 характеризуется более высокой скоростью сорбции (рис. 3). Различная кинетика сорбции ионов Sr(II) для Ti-содержащих сорбентов может обуславливать различную эффективность поглощения при высоких и низких концентрациях растворов $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$.

Кинетика процесса поглощения ионов Sr(II) с высокой степенью достоверности описывается уравнением псевдо-второго порядка (R^2 0,97–0,99). Наиболее высокие коэффициенты аппроксимации получены для Zr-содержащих сорбентов, а увеличение содержания Zr в составе сорбентов приводит к более чем 2-кратному снижению кажущейся константы скорости k_2 (табл. 4).

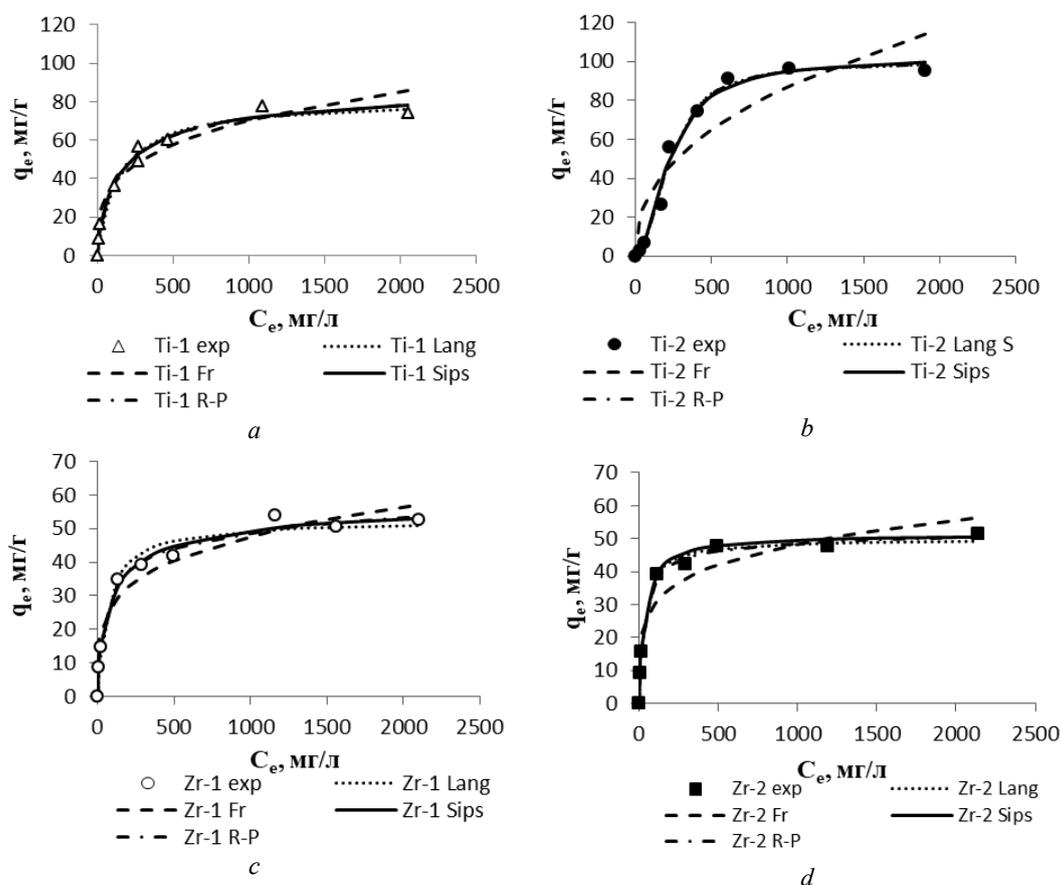


Рис. 2. Экспериментальные и рассчитанные по различным моделям изотермы сорбции ионов Sr(II) сорбентами: *a, b* – Ti-Ca-Mg; *c, d* – Zr-Ca-Mg

Fig. 2. Experimental and calculated on different model sorption isotherms of Sr(II) ions by sorbents: *a, b* – Ti-Ca-Mg; *c, d* – Zr-Ca-Mg

Т а б л и ц а 3. Рассчитанные параметры изотерм сорбции

T a b l e 3. Calculated parameters of adsorption isotherms

Модель Model	Параметр Parameter	Ti-1	Ti-2	Zr-1	Zr-2
Ленгмюра	$q_{e,exp}$ (мг·г ⁻¹)	76,0	96,3	52,5	47,8
	q_m (мг·г ⁻¹)	81,2	99,9	52,5	50,0
	K_L (л·мг ⁻¹)	0,007	101,3	0,015	0,030
	S (мг·л ⁻¹)	–	$5,2 \cdot 10^6$	–	–
	R^2	0,973	0,984	0,994	0,988
Фрейндлиха	K_F (мг·г ⁻¹)/(л·мг ⁻¹) ⁿ	10,01	4,67	9,11	11,99
	n_F	3,55	2,36	4,17	4,95
	R^2	0,912	0,808	0,987	0,862
Сипса	q_m (мг·г ⁻¹)	90,3	103,3	59,6	51,5
	K_S (л·мг ⁻¹)	0,021	0,023	0,043	0,034
	n_S	0,75	1,00	0,68	0,96
	S (мг·л ⁻¹)	–	1000	–	–
	R^2	0,983	0,981	0,998	0,986
Редлих– Петерсона	K_{RP} (л·г ⁻¹)	0,91	16,7	1,39	1,72
	a_{RP} (л ^g ·мг ^{-g})	0,022	0,166	0,056	0,043
	g	0,91	1,00	0,90	0,97
	q_m (мг·г ⁻¹)	41,6	100,4	24,7	39,9
	S (мг·л ⁻¹)	–	8374	–	–
	R^2	0,978	0,984	0,998	0,991

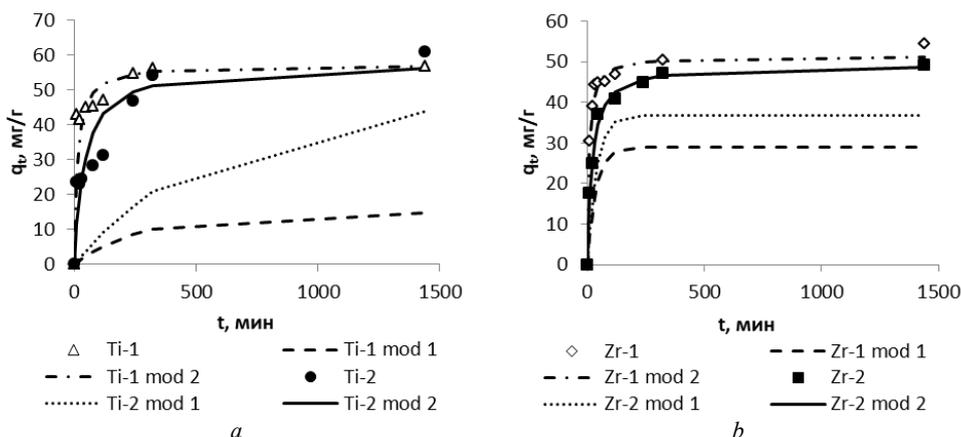
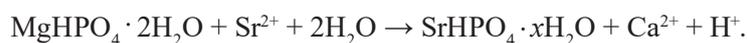
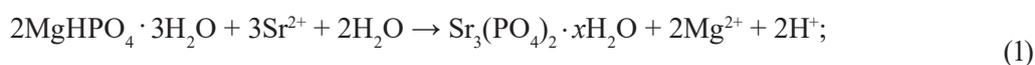


Рис. 3. Кинетические кривые сорбции ионов Sr(II) фосфатами Ti-Ca-Mg (a) и Zr-Ca-Mg (b) и рассчитанные по моделям псевдо-первого (mod 1) и псевдо-второго (mod 2) порядка

Fig. 3. Kinetic curves of Sr(II) ions adsorption by phosphates Ti-Ca-Mg (a) and Zr-Ca-Mg (b) and calculated according to the models of the pseudo-first (mod 1) and pseudo-second (mod 2) order

Для интерпретации механизма поглощения ионов стронция композиционными фосфатами были изучены дифрактограммы образцов после сорбции. Так, на рентгенограмме Zr-1 после сорбции присутствуют главным образом рефлексы гидрофосфата кальция, одного из компонентов исходного образца (рис. 4), что свидетельствует о взаимодействии гидрофосфата магния с ионами Sr(II). Известно [11], что гидрофосфат кальция слабо поглощает ионы стронция из раствора, в отличие от гидрофосфата магния, который вступает с ним в гетерогенную обменную реакцию, что обусловлено образованием соединений с меньшим произведением растворимости:



Т а б л и ц а 4. Рассчитанные параметры кинетических моделей для фосфатов Ti-Ca-Mg и Zr-Ca-Mg

T a b l e 4. The calculated parameters of kinetic models for Ti-Ca-Mg and Zr-Ca-Mg phosphates

Образец Sample	q_{exp} , мг/г	Псевдо-первый порядок Pseudo-first order			Псевдо-второй порядок Pseudo-second order			
		q_1 , мг/г	$k_1 \cdot 10^3$, 1/мин	R^2	q_2 , мг/г	$k_2 \cdot 10^3$, г/(мг·мин)	h , мг/(г·мин)	R^2
Ti-1	56,8	14,9	3,64	0,863	57,5	1,37	4,52	0,995
Ti-2	69,5	47,5	1,81	0,984	57,7	0,43	1,44	0,968
Zr-1	54,5	29,0	27,28	0,887	51,4	2,66	7,01	1,000
Zr-2	56,0	36,9	25,66	0,928	49,4	1,04	2,54	0,999

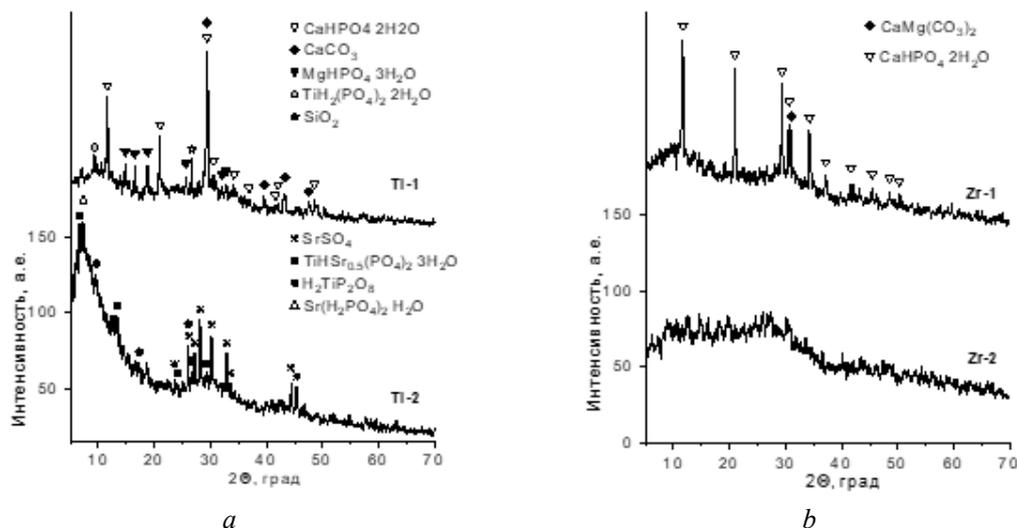
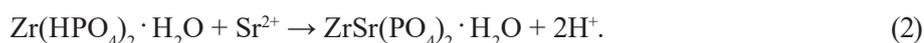


Рис. 4. Рентгенограммы фосфатов Ti-Ca-Mg (a) и Zr-Ca-Mg (b) после сорбции ионов Sr(II)

Fig. 4. X-ray patterns of the phosphates Ti-Ca-Mg (a) and Zr-Ca-Mg (b) after Sr(II) ions sorption

Аморфный фосфат циркония, входящий в состав Zr-1, идентичен по химическому составу кристаллическому $\alpha\text{-Zr}(\text{HPO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, протон которого также может замещаться ионами стронция:



Ti-содержащие сорбенты после взаимодействия с ионами Sr(II) имеют более сложный состав и представлены как интенсивными рефлексами кристаллических фаз, так и широкими рефлексами не идентифицированной рентгеноаморфной фазы в случае образца Ti-2. Для образца Ti-1 помимо непрореагировавших гидрофосфатов кальция и магния, а также CaCO_3 и кварца, входящих в состав доломита, идентифицируются рефлексы гидрофосфата титана, что свидетельствует о том, что процесс протекает по уравнению (1). В составе Ti-2 наряду с фазой фосфата титана проявляются также слабые рефлексы Sr-содержащих фаз – дигидрофосфата стронция и гидрофосфата Ti-Sr, что свидетельствует о протекании ионообменной реакции при сорбции ионов Sr(II) (уравнение (2)). Рефлексы фазы SrSO_4 обусловлены взаимодействием ионов стронция с сульфат-ионами, присутствующими в составе исходного Ti-содержащего прекурсора $(\text{NH}_4)_2\text{TiO}(\text{SO}_4)_2$.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что композиционные фосфаты Zr-Ca-Mg и Ti-Ca-Mg эффективно сорбируют из водных и малосолёных растворов ионы Sr(II). Эффективность сорбции зависит от состава сорбента и природы сорбируемого иона металла, концентрации раствора, его химического состава и значения pH. Установленные различия в механизме сорбции обуславливают селективные свойства Zr-1 и Ti-1 в малосолёных растворах вследствие взаимодействия гидрофосфата магния с ионами Sr(II). При этом образцы Zr-2 и Ti-2 поглощают ионы Sr(II) преимущественно по ионообменному механизму, что

обуславливает существенное снижение сорбционной емкости на фоне конкурирующих ионов. Проведенные исследования имеют важное значение для практического применения полученных материалов в качестве сорбентов ионов Sr(II) и иммобилизации радионуклидов ^{90}Sr .

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке НАН Беларуси в рамках проекта № 21/06-01.

Acknowledgements. This work was financially supported by the National Academy of Sciences of Belarus (project no. 21/06-01).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Strontium Contamination in the Environment / eds. P. Pathak, D. K. Gupta. – Springer, 2020. – 250 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-15314-4>
2. Murthy, Z. V. P. Removal of strontium by electrocoagulation using stainless steel and aluminum electrodes / Z. V. P. Murthy, S. Parmar // *Desalination*. – 2011. – Vol. 282. – P. 63–67. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.08.058>
3. Removal of strontium from drinking water by conventional treatment and lime softening in bench-scale studies / A. J. O'Donnell [et al.] // *Water Research*. – 2016. – Vol. 103. – P. 319–333. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.06.036>
4. Hossain, F. Natural and anthropogenic radionuclides in water and wastewater: Sources, treatments and recoveries / F. Hossain // *J. Environ. Radioact.* – 2020. – Vol. 225. – Art. 106423. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2020.106423>
5. Abdel-Rahman, R. O. Liquid Radioactive Wastes Treatment: A Review / R. O. Abdel-Rahman, H. A. Ibrahim, Y.-T. Hung // *Water*. – 2011. – Vol. 3, N 2. – P. 551–565. <https://doi.org/10.3390/w3020551>
6. Radioactive decontamination of water by membrane processes – A review / D. Rana [et al.] // *Desalination*. – 2013. – Vol. 321. – P. 77–92. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2012.11.007>
7. Xu, C. Solvent extraction of strontium and cesium: a review of recent progress / C. Xu, J. Wang, J. Chen // *Solvent Extraction and Ion Exchange*. – 2012. – Vol. 30, N 6. – P. 623–650. <https://doi.org/10.1080/07366299.2012.700579>
8. Strontium Removal in Seawater by Means of Composite Magnetic Nanoparticles Derived from Industrial Sludge / Y.-J. Tu [et al.] // *Water*. – 2016. – Vol. 8, N 8. – Art. 357. <https://doi.org/10.3390/w8080357>
9. A facile synthesis of hydroxyapatite for effective removal strontium ion / X. Xia [et al.] // *J. Hazard. Mater.* – 2019. – Vol. 368. – P. 326–335. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.01.040>
10. Xiao, H. Zirconium phosphate (ZrP)-based functional materials: Synthesis, properties and applications / H. Xiao, S. Liu // *Materials & Design*. – 2018. – Vol. 155. – P. 19–35. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2018.05.041>
11. Effect of phase composition on sorption behavior of Ca-Mg phosphates towards Sr(II) ions in aqueous solution / I. L. Shashkova [et al.] // *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* – 2017. – Vol. 80. – P. 787–796. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.09.027>
12. New heterogeneous synthesis of mixed Ti-Ca-Mg phosphates as efficient sorbents of ^{137}Cs , ^{90}Sr and ^{60}Co radionuclides / A. I. Ivanets [et al.] // *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* – 2019. – Vol. 104. – P. 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2019.09.001>
13. Facile synthesis of calcium magnesium zirconium phosphate adsorbents transformed into $\text{MZr}_4\text{P}_6\text{O}_{24}$ (M: Ca, Mg) ceramic matrix for radionuclides immobilization / A. Ivanets [et al.] // *Sep. Purif. Technol.* – 2021. – Vol. 272. – Art. 118912. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118912>
14. Khan, M. N. Determination of points of zero charge of natural and treated adsorbents / M. N. Khan, A. Sarwar // *Surface Review Letters*. – 2007. – Vol. 14, N 3. – P. 461–469. <https://doi.org/10.1142/s0218625x07009517>
15. Mistakes and inconsistencies regarding adsorption of contaminants from aqueous solutions: A critical review / H. N. Tran [et al.] // *Water Research*. – 2017. – Vol. 120. – P. 88–116. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.014>

References

1. Pathak P., Gupta D. K., eds. *Strontium Contamination in the Environment*. Springer, 2020. 250 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-15314-4>
2. Murthy Z. V. P., Parmar S. Removal of strontium by electrocoagulation using stainless steel and aluminum electrodes. *Desalination*, 2011, vol. 282, pp. 63–67. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.08.058>
3. O'Donnell A. J., Lytle D. A., Harmon S., Vu K., Chait H., Dionysiou D. D. Removal of strontium from drinking water by conventional treatment and lime softening in bench-scale studies. *Water Research*, 2016, vol. 103, pp. 319–333. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.06.036>
4. Hossain F. Natural and anthropogenic radionuclides in water and wastewater: Sources, treatments and recoveries. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2020, vol. 225, art. 106423. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2020.106423>
5. Abdel-Rahman R. O., Ibrahim H. A., Hung Y.-T. Liquid Radioactive Wastes Treatment: A Review. *Water*, 2011, vol. 3, no. 2, pp. 551–565. <https://doi.org/10.3390/w3020551>
6. Rana D., Matsuura T., Kassim M. A., Ismail A. F. Radioactive decontamination of water by membrane processes – A review. *Desalination*, 2013, vol. 321, pp. 77–92. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2012.11.007>
7. Xu C., Wang J., Chen J. Solvent extraction of strontium and cesium: a review of recent progress. *Solvent Extraction and Ion Exchange*, 2012, vol. 30, no. 6, pp. 623–650. <https://doi.org/10.1080/07366299.2012.700579>
8. Tu Y.-J., You C.-F., Zhang Z., Duan Y., Fu J., Xu D. Strontium Removal in Seawater by Means of Composite Magnetic Nanoparticles Derived from Industrial Sludge. *Water*, 2016, vol. 8, no. 8, art. 357. <https://doi.org/10.3390/w8080357>
9. Xia X., Shen J., Cao F., Wang C., Tang M., Zhang Q., Wei S. A facile synthesis of hydroxyapatite for effective removal strontium ion. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, vol. 368, pp. 326–335. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.01.040>
10. Xiao H., Liu S. Zirconium phosphate (ZrP)-based functional materials: Synthesis, properties and applications. *Materials & Design*, 2018, vol. 155, pp. 19–35. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2018.05.041>

11. Shashkova I. L., Ivanets A. I., Kitikova N. V., Sillanpää M. Effect of phase composition on sorption behavior of Ca-Mg phosphates towards Sr(II) ions in aqueous solution. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2017, vol. 80, pp. 787–796. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.09.027>

12. Ivanets A. I., Shashkova I. L., Kitikova N. V., Maslova M. V., Mudruk N. V. New heterogeneous synthesis of mixed Ti-Ca-Mg phosphates as efficient sorbents of ^{137}Cs , ^{90}Sr and ^{60}Co radionuclides. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2019, vol. 104, pp. 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2019.09.001>

13. Ivanets A., Shashkova I., Kitikova N., Radkevich A., Venhlinkaya E., Dzikaya A., Trukhanov A., Sillanpää M. Facile synthesis of calcium magnesium zirconium phosphate adsorbents transformed into $\text{MZr}_4\text{P}_6\text{O}_{24}$ (M: Ca, Mg) ceramic matrix for radionuclides immobilization. *Separation and Purification Technology*, 2021, vol. 272, art. 118912. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118912>

14. Khan M. N., Sarwar A. Determination of points of zero charge of natural and treated adsorbents. *Surface Review and Letters*, 2007, vol. 14, no. 3, pp. 461–469. <https://doi.org/10.1142/s0218625x07009517>

15. Tran H. N., You S.-J., Hosseini-Bandegharaei A., Chao H.-P. Mistakes and inconsistencies regarding adsorption of contaminants from aqueous solutions: A critical review. *Water Research*, 2017, vol. 120, pp. 88–116. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.014>

Информация об авторах

Иванец Андрей Иванович – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, научный руководитель лаборатории. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: andreiivanets@yandex.ru.

Шашкова Ирина Лукинична – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: shashkova@igic.bas-net.by.

Китикова Наталья Владиленовна – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kitikova@igic.bas-net.by.

Дроздова Наталья Владимировна – науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: natdrzdova@yandex.by.

Дикая Анастасия Сергеевна – мл. науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dikaya-an@mail.ru.

Information about the authors

Ivanets Andrei I. – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Professor, Science Head of the Laboratory. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: andreiivanets@yandex.ru.

Shashkova Irina L. – Ph. D. (Chemistry), Leading Researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shashkova@igic.bas-net.by.

Kitikova Nataliya V. – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kitikova@igic.bas-net.by.

Drzdova Nataliya V. – Researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: natdrzdova@yandex.by.

Dzikaya Anastasiya S. – Junior Researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dikaya-an@mail.ru.

**В. В. Бритиков¹, Е. В. Бритикова¹, Э. В. Бочаров², Я. В. Бершадский²,
Н. В. Кузьмина³, К. М. Бойко⁴, член-корреспондент С. А. Усанов¹**

¹*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова
Российской академии наук, Москва, Российская Федерация*

³*Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук, Москва, Российская Федерация*

⁴*Институт физической химии и электрохимии имени А. Н. Фрумкина Российской академии наук,
Москва, Российская Федерация*

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА Δ3–12 ЦИСТЕИН-ОБЕДНЕННОГО ЦИТОХРОМА P450 3A4 С АМИНОКИСЛОТНОЙ ЗАМЕНОЙ S291C

Аннотация. Цитохром P450 3A4 (3A4) экспрессируется в клетках печени человека и играет ключевую роль в метаболизме ксенобиотиков, в том числе и более 50 % лекарственных препаратов. Регуляция активности данного фермента может происходить на уровне экспрессии генов, а также на уровне конформационного состояния структуры самого белка, за счет изменения молекулярного окружения, в том числе за счет взаимодействия с высокомолекулярными эффекторами. Понимание изменения структуры и динамики 3A4 в ответ на изменение условий среды необходимо для предсказания изменения уровня его активности, который в значительной степени обуславливает гомеостаз организма. Для проведения *in vitro* экспериментов по исследованию структуры, динамики и белок-лигандных/белковых взаимодействий ферментов современными спектральными методами используется подход, в котором в целевой белок селективно вводятся методами белковой инженерии цистеиновые остатки в заданные локусы полипептидной цепи для последующего мечения специализированными молекулярными метками. Для этих целей в данной работе была получена мутантная форма мембрансвязанного (полноразмерного) рекомбинантного цитохрома P450 3A4 человека C58A/C64M/C98A/C239T/C377A/C468S/S291C. По данным спектроскопии кругового дихроизма нами было установлено, что введенные мутации не вызывают значимых изменений во вторичной структуре полученной формы 3A4, что свидетельствует о сохранении свернутости полипептидной цепи. Проведены спектрофотометрические измерения для сравнительного анализа изменения сродства к лигандам активного центра. Более того, нами было показано, что тестостерон гидроксилирующая активность в *in vitro* реконструированной системе для данной мутантной формы 3A4 многократно увеличивается относительно дикой формы фермента.

Ключевые слова: цитохром P450 3A4 человека, микросомальный цитохром *b*₅ человека, белковая инженерия, сайт-направленный мутагенез, гидроксиллазная активность, спектроскопия кругового дихроизма

Для цитирования. Физико-химические свойства Δ3–12 цистеин-обедненного цитохрома P450 3A4 с аминокислотной заменой S291C / В. В. Бритиков [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 176–186. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-176-186>

**Vladimir V. Britikov¹, Elena V. Britikova¹, Eduard V. Bocharov², Yaroslav V. Bershatsky², Natalya V. Kuzmina³,
Konstantin M. Boyko⁴, Corresponding Member Sergey A. Usanov¹**

¹*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation*

³*Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation*

⁴*Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation*

PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF Δ3–12 CYSTEINE-DEPLETED CYTOCHROME P450 3A4 WITH AMINO ACID SUBSTITUTION OF S291C

Abstract. Cytochrome P450 3A4 (3A4) is highly expressed in the human liver cells and plays a decisive role in the metabolism of xenobiotics, including more than 50 % of medical products. The activity of this enzyme can be regulated at the expression level of genes, as well as at the conformation level of the structure of the protein itself, due to changes in the molecular environment, including due to the interaction with high-molecular effectors. The understanding of the structure changes

and the 3A4 dynamics in response to the environmental changes is necessary to predict the changes in the level of its activity that to a considerable extent regulates the body's homeostasis. To perform *in vitro* experiments on the structure, dynamics, and protein-ligand/protein interactions of the enzymes by the modern spectral methods, the approach is used, in which the target protein is selectively added with cysteine residues in the given polypeptide chain loci by the protein engineering methods for subsequent labeling with specialized molecular labels. To do this, the human mutant form of membrane-bound (full length) recombinant cytochrome P450 3A4 C58A/C64M/C98A/C239T/C377A/C468S/S291C was obtained. According to the circular dichroism spectroscopy data we established that the introduced mutations do not cause significant changes in the secondary structure of the obtained form 3A4, which shows the preservation of the folding of the peptide chain. The spectral photometric measurements were made to comparatively analyze the changes in the affinity to the ligands of the active center. Moreover, we showed that the testosterone hydroxylase activity in the *in vitro* reconstructed system for a given mutation form of 3A4 increases many times with respect to the wild form of the enzyme.

Keywords: human cytochrome P450 3A4, human microsomal cytochrome b_5 , protein engineering, site-directed mutagenesis, hydroxylase activity, circular dichroism spectroscopy

For citation. Britikov V. V., Britikova E. V., Bocharov E. V., Bershatsky Ya. V., Kuzmina N. V., Boyko K. M., Usanov S. A. Physical and chemical properties of $\Delta 3-12$ cysteine-depleted cytochrome P450 3A4 with amino acid substitution of S291C. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 176–186 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-176-186>

Введение. Изучение цитохрома P450 3A4 человека (3A4) представляет значительный интерес из-за его ключевой роли в метаболизме более 50 % лекарственных средств, доступных на фармацевтическом рынке. 3A4 является мембран-связанным белком и локализован в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) клеток со стороны, обращенной в цитозоль. 3A4 наиболее распространенный из цитохромов P450, представленных в печени человека и в тонком кишечнике. На долю 3A4 из общего количества P450 в печени в среднем приходится 25–30 % [1]. В настоящий момент накоплено большое количество данных относительно кристаллической структуры 3A4 в несвязанной с мембраной форме для его транскрибированного по N-концу варианта с различными лигандами активного центра [2–6]. Полученные данные не могут объяснить процессов, происходящих в условиях *in vivo* для 3A4, ввиду ограниченности применения и интерпретации данных кристаллографического метода (рентгеноструктурного анализа). Альтернативой в исследовании является применение методов молекулярного моделирования, а в частности метода молекулярной динамики (МД) [7]. Так МД была успешно использована в процессе исследования взаимодействия 3A4 с тестостероном в мембранном окружении [8]. В результате моделирования ускоренной МД на траектории более чем 25 мкс было установлено, что связывание с субстратом может происходить напрямую с его мембран-солюбилизированной формой [8]. Но подтверждение результатов молекулярного моделирования требует экспериментальных проверок и уточнений. Для этих целей необходимо использовать макромолекулярные биофизические методы, способные предоставить информацию о структуре и динамике белковой глобулы в водном (нативном) окружении. К таким методам можно отнести флуоресцентную и ЯМР спектроскопию. Часто для применения этих методов прибегают к получению форм белков, меченых специализированными молекулярными метками (зондами), чувствительными к изменению структуры и динамики при изменении условий среды или при взаимодействии с белками партнерами. Для введения таких меток используется подход белковой инженерии по селективному внедрению в полипептидную цепь одиночных цистеиновых остатков, к боковой группе которых присоединяется необходимая молекулярная метка [9; 10]. Целью данной работы является получение мембран-связанной цистеин-обедненной рекомбинантной формы 3A4 с селективно внедренным цистеиновым остатком и физико-химическая характеристика для подтверждения сохранения нативности структуры. Введение нового цистеина осуществляется рациональным способом с целью дальнейшего использования в исследованиях определения взаимодействия 3A4 с белками партнерами на структурном уровне. Ранее уже были получены различные цистеин-обедненные формы 3A4 как для растворимой ($\Delta 3-22$) [11–13], так и мембран-связанной формы ($\Delta 3-12$) [14–19]. В качестве основы для селективного внедрения цистеинового остатка в $\Delta 3-12$ S18F форму 3A4 нами был выбран цистеин-обедненный вариант C58A/C64M/C98A/C239T/C377A/C468S из [13], который охарактеризован как каталитически активный и высокоэкспрессируемый. Участок цепи для внедрения нового цистеина был выбран нами исходя из следующих критериев: он должен быть расположен на

поверхности белковой глобулы, но в участке, не связанном с липидным окружением, не должен перекрываться с сайтом связывания для доноров электрона (НАДФН-зависимая цитохром P450 редуктаза (ЦПР)), должен находиться в участке с пониженной динамикой цепи (т. е. избегаются подвижные петли), мутируемый остаток должен быть максимально похож по структуре цистеину (например, серин), чтобы предотвратить потенциальную пертурбацию структуры и влияние на взаимодействие с белками партнерами. Таким критериям, с нашей точки зрения, исходя из анализа имеющихся структурных данных, соответствует сериновый остаток в положении 291 и поэтому он был выбран для замещения на цистеин. Мутантная форма S281C 3A4 ранее описана не была. Полученная в данной работе форма 3A4 послужит в дальнейшем базисом для проведения биофизических экспериментов по определению влияния изменения конформационной динамики белка на его результирующую каталитическую активность.

Материалы и методы исследования. *Клонирование, гетерологическая экспрессия и очистка рекомбинантных белков.* Кодон-оптимизированный ген 3A4 с делецией участка, кодирующего 10 аминокислотных остатков в области предполагаемой трансмембранной спирали на N-конце полипептидной цепи ($\Delta 3-12$), и введением аминокислотных замен S18F/C58A/C64M/C98A/C239T/C377A/C468S/S291C, а также с добавлением гексогистидиновой последовательности на C-конец был синтезирован (Synbio Technologies, США) и клонирован в экспрессионный вектор pCW-LIC по сайтам рестрикции NdeI и HindIII. Рекомбинантный P450 3A4 дикого типа был также получен в виде $\Delta 3-12$ S18F формы (NF14) с использованием pCW-LIC вектора. Полноразмерный микросомальный цитохром b_5 человека (b_5) был клонирован нами ранее в pT7 плазмидный вектор с T7 промотором экспрессии по сайтам рестрикции NdeI и SalI.

Для гетерологической экспрессии колонию свежетрансформированных клеток *E. coli* штамма DH5 α для цитохрома 3A4 и BL21(DE3) для b_5 засевали в LB среду, содержащую 100 мг/мл ампициллина, и растили 16 ч при 37 °C и 180 об/мин. Итоговую ночную культуру переносили в 500 мл ТВ-среды, содержащую 100 мг/мл ампициллина и микроэлементы, и инкубировали до оптической плотности OD₆₀₀ ~ 0,8 при 37 °C и 180 об/мин. Экспрессию индуцировали добавлением в среду изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозид до концентрации 170 мг/л. Для увеличения синтеза гема В клетками в среду добавляли аминоклевулиновую кислоту до концентрации 110 мг/л. Экспрессия осуществлялась в течение 48 ч при 28 °C и 200 об/мин для P450 3A4 и при 22 °C и 130 об/мин для цитохрома b_5 . По окончании экспрессии клетки осаждали с использованием центрифуги ScanSpeed (LaboGene, Дания) при 2700g в течение 20 мин. Клетки ресуспендировали в 0,1 М калий-фосфатном буфере (КФБ) (pH 7,4), содержащем 20 % глицерина, 0,4 мМ фенилметилсульфонил фторида (ФМСФ) и 0,3 М NaCl.

Очистку целевых белков осуществляли с использованием метода металл-аффинной хроматографии. В качестве аффинного сорбента был использован синтезированный нами Ni-IDA-Сефакрил S-200 по методике, описанной в [20], с использованием в качестве матрицы (носителя IDA-групп) Сефакрила S-200 HR. Использование такого сорбента позволяет получить рекомбинантные белки с гексагистидиновыми тагами в высокоочищенном состоянии за один акт хроматографии. В начале к размороженным клеткам добавляли ингибитор протеаз ФМСФ до концентрации 1 мМ и разрушали с использованием гомогенизатора высокого давления Emulsiflex-C5 (Avestin, Канада). Далее полученную суспензию осаждали с использованием центрифуги Avanti JXN-30 (BeckmanCoulter, США) при 58000g в течение 40 мин. Полученный осадок, содержащий мембрансвязанную форму целевых белков, отделяли от супернатанта и гомогенизировали в буфере, содержащем 0,1 М КФБ (pH 7,4), 20 % глицерина 0,3 М NaCl. К полученному раствору добавляли детергент CHAPS до концентрации 1,2 % и инкубировали при постоянном перемешивании при температуре 4 °C в течение 75 мин для солиubilизации белков из мембран. Затем солиubilизированный белок отделяли от липидных компонент при помощи центрифугирования в течение 1 ч при 58000g. Итоговый супернатант пропускали через ДЭАЭ-целлюлозу и наносили на Ni-IDA-Сефакрил S-200, предварительно уравновешенный буфером, содержащим 0,1 М КФБ (pH 7,4), 20 % глицерина, 0,2 % CHAPS и 0,3 М NaCl (буфер А). На этом этапе, до пропускания через ДЭАЭ-целлюлозу, для цитохрома b_5 добавлялась стадия инкубирования супернатанта с гемин хлоридом (50 мкМ) для образования холо-формы b_5 . После аффинной иммобилизации белка колонку промывали двадцатью объемами буфера А с 50 мМ имидазола. Для иллюции

белков использовали линейный градиент имидазола от 50 до 500 мМ в буфере А. Фракцию очищенного белка избавляли от имидазола при помощи гель-фильтрации с использованием Сефадекса G-15, предварительно уравновешенного буфером А. Степень чистоты белков была определена с использованием электрофоретического разделения в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях. Точные молекулярные массы белков определены с использованием МАЛДИ масс-спектрометра Microflex (Bruker Daltonik Ink., США). Финальные препараты целевых белков хранили при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

In vitro реконструкция гидроксиллазной активности и ее измерение. Для измерения гидроксиллазной активности рекомбинатных 3A4 использовали *in vitro* реконструированную P450 систему гидроксирования. В качестве донора электронов для 3A4 применяли рекомбинантную ЦПП и систему регенерации НАДФН на основе НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (ИД) и изоцитрата натрия. Реакцию проводили в 50 мМ КФБ (рН 7,4), который содержал 10 мМ MgCl_2 , 100 мкМ тестостерона, 8 мМ изоцитрат натрия, 0,1 ЕМ/мл ИД. В такой раствор добавляли предварительно смешанные P450 3A4 и ЦПП до концентрации 1 и 2 мкМ соответственно. При определении влияния b_5 на гидроксиллазную активность его добавляли до концентрации от 0,5 до 4 мкМ. Реакцию инициировали добавлением НАДФН до концентрации 1 мМ и инкубировали при температуре $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 2 ч, а останавливали добавлением дихлорметана. Экстракт в дихлорметане выпаривали с использованием центрифужного вакуумного концентратора ScanVac (LaboGene, Дания). Полученный осадок растворяли в метаноле до концентрации 200 мкМ и анализировали при помощи ВЭЖХ с использованием хроматографа Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, США). ВЭЖХ для разделения тестостерона и его гидроксированной формы проводили с использованием C18 колонки при температуре $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ с градиентом метанола в воде (от 40 до 95 % метанола в смеси). Детекция веществ осуществлялась по поглощению на длине волны 254 нм.

Измерение спектров кругового дихроизма (КД). Спектры КД для 3A4 и его мутантной формы были измерены с использованием КД спектрометра J-1700 (JASCO, Япония). Измерения проводили при комнатной температуре ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) в 10 мМ КФБ (рН 7,4) и оптическом пути 1 мм, при диапазоне длин волн 180–260 нм и продувке измерительного отсека азотом. Белок добавлялся в буферный раствор для измерений при 150-кратном разбавлении для значительного снижения концентрации компонентов криоконсервирующего буфера. Спектр базовой линии записывали по буферному раствору. Концентрация белка при измерении составляла 1 мкМ. Итоговые спектры были получены в результате усреднения 10 сканирований. Скорость сканирования диапазона длин волн составила 50 нм/мин при сканировании точек с разрешением 0,5 нм.

Разностное спектрофотометрическое титрование. Данные измерения проводили с использованием двулучевого спектрофотометра Cary 5000 (Agilent Technologies, США), оснащенного термостатируемой измерительной ячейкой. Измерение производили в 50 мМ КФБ (рН 7,4) при температуре $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ в диапазоне длин волн 350–700 нм. Концентрация белка составляла 1 мкМ. Добавляемые лиганды были растворены в этаноле. В кювету сравнения при каждом шаге титрования добавляли соответствующий объем этанола. Для определения кажущейся равновесной константы диссоциации ($K_{d(\text{каж})}$) использовали зависимость разности поглощения от концентрации лиганда с учетом выражения, которое является производным от уравнения Моррисона [21]:

$$\Delta A_{\text{полг}} = \Delta A_{\text{макс}} \left\{ (n[P]_{\text{общ}} + [L]_{\text{общ}} + K_{d(\text{каж})}) - [n[P]_{\text{общ}} + [L]_{\text{общ}} + K_{d(\text{каж})}]^2 - 4n[P]_{\text{общ}}[L]_{\text{общ}} \right\}^{1/2} / 2n[P]_{\text{общ}},$$

где $\Delta A_{\text{полг}}$ – модуль разницы поглощения между максимумами для высоко- и низкоспиновой составляющей; $\Delta A_{\text{макс}}$ – разница поглощения при максимальном насыщении сайтов связывания; $[P]_{\text{общ}}$ и $[L]_{\text{общ}}$ – итоговая концентрация фермента и лиганда соответственно; n – количество сайтов связывания в ферменте.

Результаты и их обсуждение. *Получение цистеин-обедненной мутантной формы 3A4.* Нами была получена в высокоочищенном состоянии рекомбинантная мембран-связанная цистеин-обедненная форма 3A4 с селективно введенным цистеиновым остатком в положение 291 полипеп-

тидной цепи (далее 3A4monoC-S291C) (рис. 1, *a*). За основу взята модифицированная аминокислотная последовательность 3A4 NF14 (3A4-NF14) из [22], которая обеспечивает высокий уровень экспрессии мембран-связанной рекомбинантной формы 3A4 с минимальными изменениями последовательности и сохранением активности на уровне дикого типа фермента. В такой последовательности усечена на 10 аминокислотных остатков N-концевая трансмембранная альфа-спираль ($\Delta 3-12$) (рис. 1, *a*) и введена мутация S18F, кардинально увеличивающая уровень экспрессии в клетках *E. coli* [22]. Для применения металл-аффинной хроматографии, с целью получения высокоочищенной формы 3A4, на C-конец были добавлены шесть гистидиновых остатков. В данную последовательность введена мутация S291C и мутации для цистеинового обеднения последовательности C58A/C64M/C98A/C239T/C377A/C468S, которые, как было продемонстрировано ранее, позволяют получить цистеин-обедненную немембран-связанную ($\Delta 3-22$) форму 3A4 в активном состоянии с высоким выходом экспрессии и сохранением нативности структуры [13]. Полученная последовательность была кодон-оптимизирована для экспрессии в *E. coli*, синтезирована и клонирована в экспрессионный вектор pCW-LIC по сайтам рестрикции NdeI и HindIII. Уровень экспрессии определен по итоговому количеству очищенного белка (в предположении, что потери при очистке незначительны) и составил 94 нмоль/л (0,32 мг/г клеток). Молекулярная масса очищенного 3A4monoC-S291C соответствует теоретически ожидаемой, что было подтверждено по МАЛДИ масс-спектру (рис. 1, *b*). Высокая степень чистоты финального препарата определена электрофоретическим и спектрофотометрическим методами (рис. 1, *b*). Так соотношение поглощения на длинах волн 424/280 для имидазол-связанной формы составило $>1,2$ (рис. 1, *c*). В свободном от лигандов состоянии спектр поглощения характеризуется наличием двух максимумов поглощения в области полосы Core (393 и 410 нм), что указывает на взаимодействие с молекулами CHAPS детергента, которые вероятно связываются с областью активного сайта

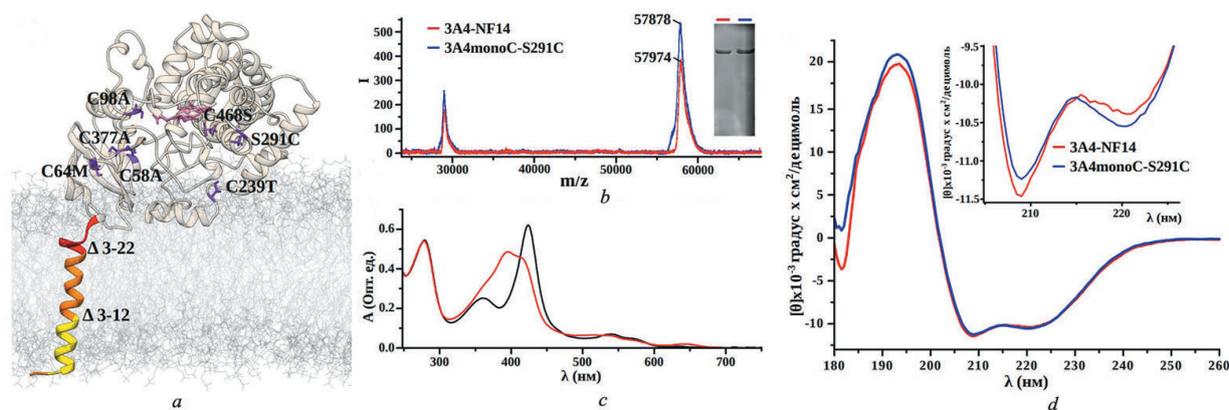


Рис. 1. Анализ состояния полученного 3A4monoC-S291C: *a* – изображение локализации введенных мутаций на структурной модели 3A4 в мембранном окружении. Модель структуры получена нами на основании моделирования молекулярной динамики 3A4 дикого типа при помощи Amber16 [23] в POPC липидном бислое. Стартовая модель построена с использованием веб-приложения CHARMM-GUI [24] и координат кристаллической структуры 3A4 (pdb-код: 1TQN) [2]; *b* – МАЛДИ масс-спектр для очищенных 3A4 (3A4-NF14 – красный, 3A4monoC-S291C – синий). На вставке изображена электрофореграмма разделения очищенных фракций в полиакриламидном геле при денатурирующих условиях; *c* – спектр поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра для 3A4monoC-S291C в свободном (красный) и связанном (черный) с имидазолом состоянии; *d* – спектр КД для 3A4-NF14 (красный) и 3A4monoC-S291C (синий)

Fig. 1. Analysis of the state of obtained 3A4monoC-S291C: *a* – image of the localization of the introduced mutations on the structure model of 3A4 in the membrane environment. We obtained the structure model by simulating molecular dynamics of the wild form of 3A4 using Amber16 [23] in the POPC lipid bilayer. The starting model was built with the aid of the web-application CHARMM-GUI [24] and the coordinates of the crystalline structure of 3A4 (pdb-code: 1TQN) [2]; *b* – MALDI mass-spectrometer for purified 3A4 (3A4-NF14 – red, 3A4monoC-S291C – blue). The insert show the electrophoreogram of purified fraction separation in polyacrylamide gel at denaturing conditions; *c* – absorption spectrum in the ultraviolet and visible spectrum areas of 3A4monoC-S291C in the free (red) and bound (black) imidazol state; *d* – CD spectrum for 3A4-NF14 (red) and 3A4monoC-S291C (blue)

3A4monoC-S291C и смещают равновесие спинового состояния атома железа гемовой группы в сторону уменьшения низко-спиновой составляющей.

Нативность конформации 3A4monoC-S291C была проанализирована при помощи спектроскопии КД (рис. 1, *d*). В результате сравнения КД спектров 3A4monoC-S291C с 3A4-NF14 установлено, что введение выбранных мутаций не приводит к каким-либо значимым изменениям в составе вторичной структуры. Поэтому мы можем утверждать, что общий фолд белковой глобулы для 3A4monoC-S291C не нарушается. Небольшая разница в интенсивности вращения плоскости поляризации для двух форм 3A4 в диапазоне длин волн 180–195 нм может быть связана с неточностью измерений из-за избыточного поглощения раствора препарата. В области 208 нм для 3A4monoC-S291C происходит уменьшение вращения на 2 % по сравнению с 3A4-NF14, а в области 220 нм вращение плоскости увеличивается (рис. 1, *d*). Такое спектральное поведение указывает на возможное небольшое увеличение спиральности для 3A4monoC-S291C.

Измерение равновесной константы диссоциации. Потенциальные изменения во взаимодействии с лигандами активного центра для 3A4monoC-S291C вследствие введенных мутаций исследовали при помощи разностного спектрофотометрического титрования (рис. 2). В качестве лигандов были выбраны ингибитор гидроксилазной активности кетоконазол, а в качестве субстрата – тестостерон. В процессе титрования кетоконазолом в обоих случаях спектральные изменения соответствуют увеличению доли низкоспиновой формы, что согласуется с координированием атома азота азольной группы по атому железа гема в нативном состоянии (рис. 2, *a, b*). В результате измерений было установлено, что для 3A4monoC-S291C сродство к кетоконазолу увеличилось в 2,57 раз. Кроме того, величина ΔA увеличивается в 1,225 раза, что может указывать на такое же увеличение доли конформаций 3A4monoC-S291C, способных связывать кетоконазол, если предположить, что в растворе 3A4 находится в динамическом равновесии между «открытой» и «закрытой» конформацией. Тогда для 3A4monoC-S291C доля «открытой» конформации увеличивается в 1,225 по сравнению с 3A4-NF14.

Для случая титрования тестостероном для обеих форм 3A4 обнаруживается отклонение от стандартного спектрального ответа при связывании P450 с субстратом (рис. 2, *b, d*). При добавлении тестостерона уменьшается поглощение в области, связанной с высокоспиновым пятикоординатным состоянием, и не происходит значительных изменений в области для низкоспинового состояния. Такое поведение объясняется вытеснением тестостероном CHAPS детергента из активного сайта, который остается связанным после растворения стокового раствора белка в буфере для измерений. Поэтому наблюдаемые изменения в разностном спектре характеризуют замещение одного субстрата другим субстратом. Уменьшение высокоспиновой составляющей при добавлении тестостерона можно объяснить разным химическим равновесием между низко- и высокоспиновым состоянием для CHAPS и тестостерона. Стоит отметить, что при увеличении концентрации тестостерона больше 4 мкМ происходит скачкообразное изменение типа спектрального ответа со сдвигом в длинноволновую область спектра (рис. 2, *c, d*). Такое поведение можно связать с моментом полного вытеснения CHAPS из активного сайта или началом одновременного связывания нескольких молекул тестостерона. Известно, что 3A4 может одновременно связывать несколько молекул субстрата [25]. Но несмотря на это представляется возможность оценить изменение сродства тестостерона для 3A4monoC-S291C относительно дикого варианта 3A4 по концентрационной зависимости связывания в диапазоне до начала скачкообразного перехода. Так, для 3A4monoC-S291C $K_{d(\text{каж})}$ взаимодействия с тестостероном составляет 196 нМ, что в 1,18 раз меньше, чем для дикого типа 3A4. Суммируя результаты спектрофотометрического титрования, можно сделать вывод, что 3A4monoC-S291C связывает лиганды активного центра с большим сродством. Исходя из этого можно предположить влияние введенных мутаций на локальную структуру активного сайта или канала доступа субстрата, не приводящего к их глобальным структурным перестроениям.

In vitro реконструкция гидроксилазной активности. Нами были проведены сравнительные измерения гидроксирования тестостерона в *in vitro* реконструированной системе для 3A4-NF14 и 3A4monoC-S291C (рис. 3). Активность проанализирована по количеству образовавшегося 6β -гидрокситестостерона (6β -ОН) после 2 ч ферментации при условиях, описанных выше.

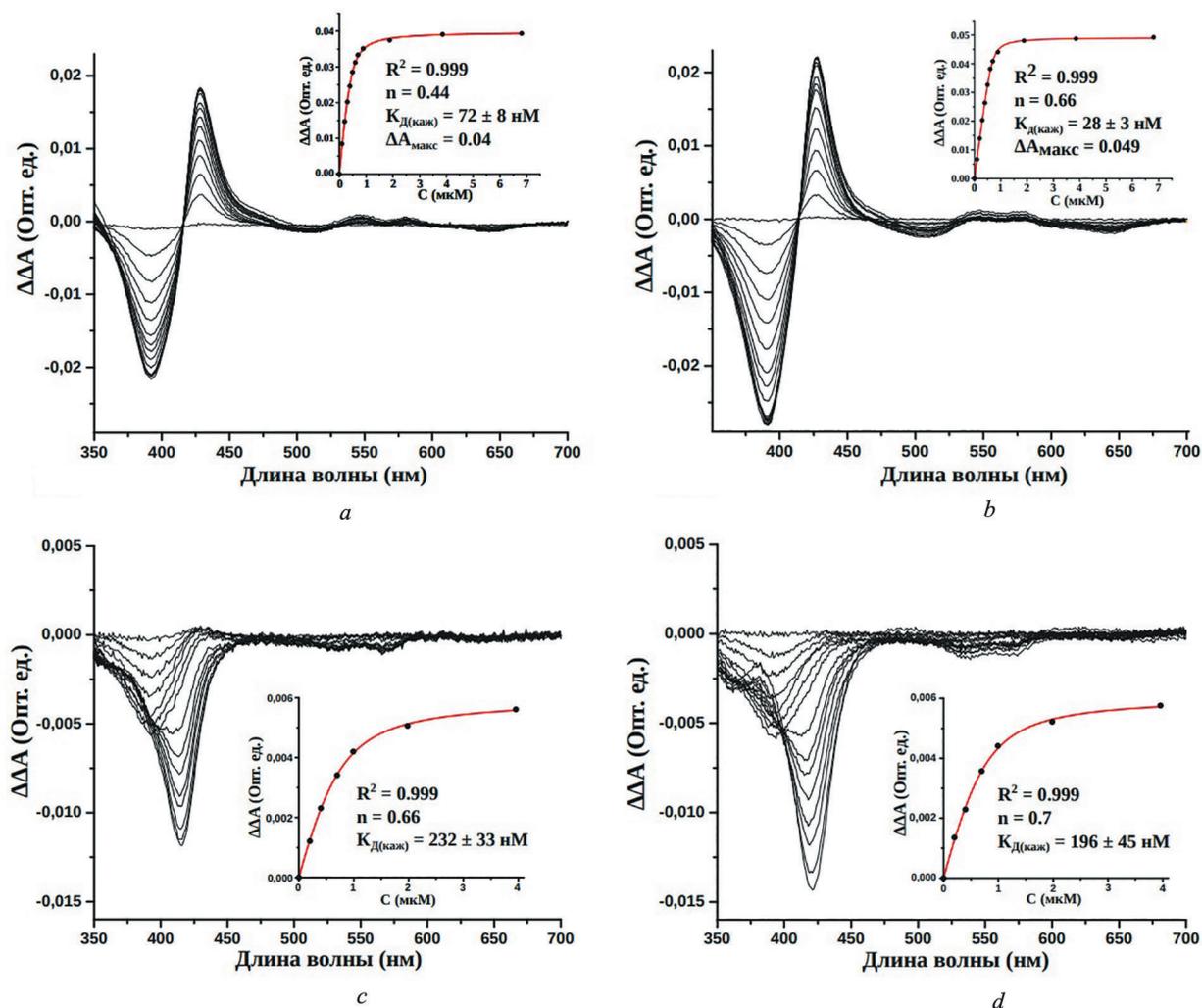


Рис. 2. Разностное спектрофотометрическое титрование 3A4-NF14 (a, c) и 3A4monoC-S291C (b, d) кетоконазолом и тестостероном. Измерения выполнены при температуре 25 °С и концентрации 3A4 1 μM в 50 мМ КФБ буфере (рН 7,4). Вставки в спектрах отображают зависимость $\Delta A_{\text{полд}}$ от концентрации лиганда с соответствующей аппроксимирующей кривой и ее параметрами

Fig. 2. Difference spectrophotometric titration of 3A4-NF14 (a, c) and 3A4monoC-S291C (b, d) with ketoconazole and testosterone. Measurements are made at a temperature of 25 °C and a concentration of 3A4 1 μM in 50 mM KPB (pH 7.4). The insets in the spectra show the dependence of ΔA_{absorb} on the ligand concentration using the approximate approximation curve and its parameters

В результате установлено, что для 3A4monoC-S291C данная активность увеличивается в 4 раза по сравнению с 3A4-NF14 (рис. 3, b, c). Кроме активности форм 3A4 также исследовалось влияние добавления b_5 в реконструированную систему. Установлено, что добавление b_5 в систему приводит к увеличению активности для обеих форм белков. Оптимальное соотношение между 3A4 и b_5 составляет 1 : 1, при дальнейшем увеличении концентрации b_5 активность существенно не изменяется (рис. 3, c). Это означает то, что 3A4 с b_5 образуют специфический комплекс с одним сайтом связывания и при достижении равного стехиометрического соотношения концентраций двух белков рост эффекта прекращается. Прирост в активности для 3A4monoC-S291C и дикого типа в присутствии b_5 составляет 1,57 и 1,64 раз соответственно. Такая небольшая разница между двумя формами 3A4 находится в пределах экспериментальной погрешности. Поэтому мы можем утверждать, что введение выбранных мутаций 3A4 не влияет на взаимодействие с цитохромом b_5 . Это дает возможность в будущем осуществить детальные биофизические исследования по взаимодействию меченного 3A4monoC-S291C с b_5 .

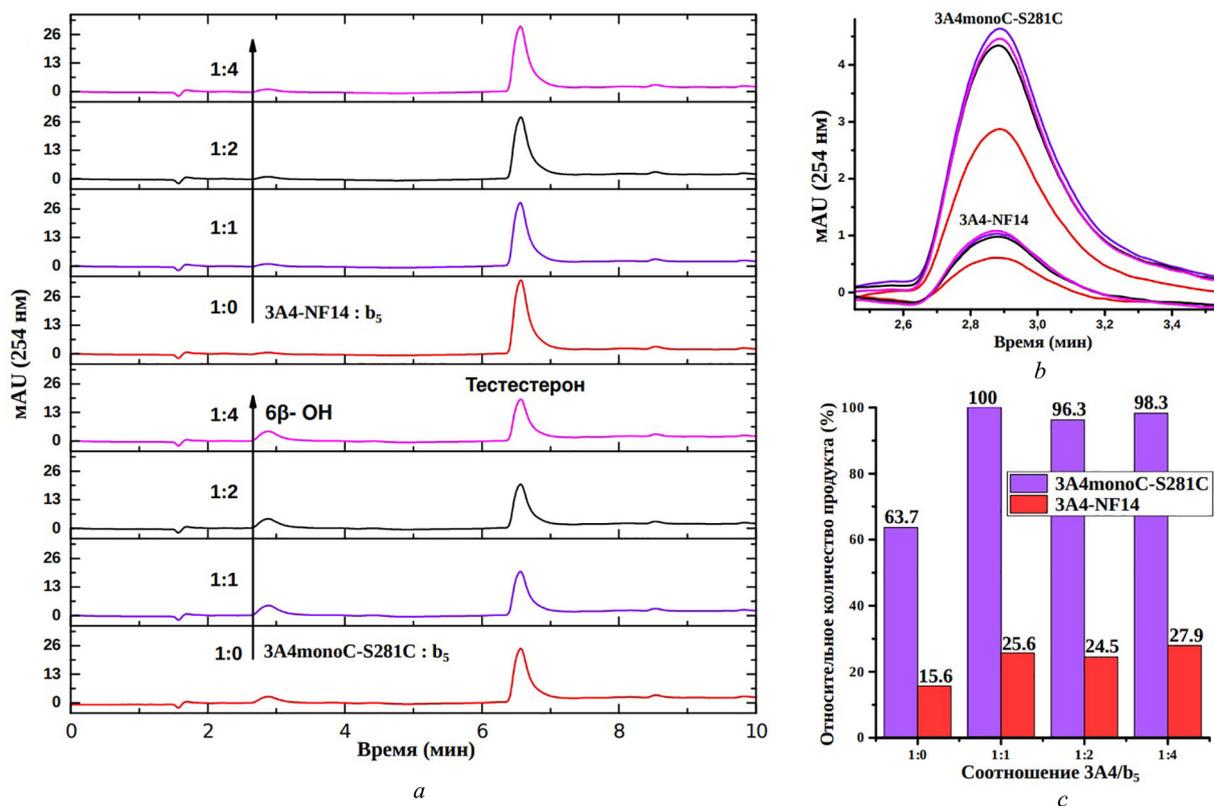


Рис. 3. Сравнительный анализ гидроксилазной активности в *in vitro* реконструированной системе P450 для 3A4-NF14 и 3A4monoC-S291C в зависимости от концентрации b_5 : *a* – ВЭЖХ хроматограммы для реакции с 3A4 (4 верхних) и 3A4monoC-S291C (4 нижних). Увеличение концентрации b_5 в реакции указано стрелкой с соответствующими соотношениями. Время выхода для тестостерона 2,9 и 6,6 мин для 6β -ОН; *b* – наложение хроматограмм в области для 6β -ОН. Цвета кривых соответствуют обозначениям на полных хроматограммах; *c* – гистограмма зависимости относительного количества образованного 6β -ОН от формы 3A4 и количества b_5 в реакции

Fig. 3. Comparative analysis of the hydroxylase activity in the *in vitro* reconstructed system of P450 for 3A4-NF14 and 3A4monoC-S291C depending on the concentration of b_5 : *a* – HPLC of the chromatogram for the reaction with 3A4 (4 upper) and 3A4monoC-S291C (4 lower). The increase in the concentration of b_5 in the reaction is shown by the arrow with the appropriate relations. The testosterone time is 2.9 and 6.6 min for 6β -OH; *b* – superposition of chromatograms in the 6β -OH region. The colors of the curves correspond to the designations on the complete chromatograms; *c* – histogram of the dependence of a relative amount of formed 6β -OH on the 3A4 form and the number of b_5 in the reaction

Закключение. В результате с использованием методов белковой инженерии была получена новая рекомбинантная мутантная форма цитохрома P450 3A4 в активном состоянии. Сравнение данной формы с диким типом фермента установлено как увеличение в степени сродства к лигандам активного центра, так и в увеличении степени гидроксилазной активности. Введенные мутации не влияют на взаимодействие 3A4 с цитохромом b_5 , что установлено по результатам измерения тестостерон-гидроксилирующей активности. Анализ спектров КД позволяет утверждать о сохранении основного состава вторичной структуры и общего фолда (свернутости) мутантной формы 3A4. Полученная мутантная форма может быть с уверенностью использована для дальнейших исследований по определению взаимодействия 3A4 с белками партнерами.

Благодарности. Работа была выполнена при финансовой поддержке БРФФИ и РФФИ (проекты № X20P-159 и № 20-54-00041Бел_а).

Acknowledgments. The research is financially sponsored by the Belarusian Republican Foundation of Fundamental Research and the Russian Foundation of Basic Research (Projects No. X20P-159 and No. 20-54-00041Бел_а).

Список использованных источников

1. Guengerich, F. P. Human cytochrome P450 enzymes / F. P. Guengerich // Cytochrome P450. – Springer, Cham, 2015. – P. 597–607.
2. The structure of human microsomal cytochrome P450 3A4 determined by X-ray crystallography to 2.05-Å resolution / J. K. Yano [et al.] // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279, N 37. – P. 38091–38094. <https://doi.org/10.1074/jbc.c400293200>

3. Ekroos, M. Structural basis for ligand promiscuity in cytochrome P450 3A4 / M. Ekroos, T. Sjögren // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 103, N 37. – P. 13682–13687. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603236103>
4. Sevrioukova, I. F. Dissecting cytochrome P450 3A4–ligand interactions using ritonavir analogues / I. F. Sevrioukova, T. L. Poulos // *Biochemistry*. – 2013. – Vol. 52, N 26. – P. 4474–4481. <https://doi.org/10.1021/bi4005396>
5. Structure-based ligand design to overcome CYP inhibition in drug discovery projects / G. Brändén [et al.] // *Drug Discovery Today*. – 2014. – Vol. 19, N 7. – P. 905–911. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.03.012>
6. Sevrioukova, I. F. Anion-dependent stimulation of CYP3A4 monooxygenase / I. F. Sevrioukova, T. L. Poulos // *Biochemistry*. – 2015. – Vol. 54, N 26. – P. 4083–4096. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00510>
7. Membrane-attached mammalian cytochromes P450: An overview of the membrane's effects on structure, drug binding, and interactions with redox partners / M. Šrejber [et al.] // *J. Inorg. Biochem.* – 2018. – Vol. 183. – P. 117–136. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.03.002>
8. Hackett, J. C. Membrane-embedded substrate recognition by cytochrome P450 3A4 / J. C. Hackett // *J. Biol. Chem.* – 2018. – Vol. 293, N 11. – P. 4037–4046. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra117.000961>
9. Site-specific labelling of proteins with a rigid lanthanide-binding tag / X. C. Su [et al.] // *ChemBioChem*. – 2006. – Vol. 7, N 10. – P. 1599–1604. <https://doi.org/10.1002/cbic.200600142>
10. A Chiral Lanthanide Tag for Stable and Rigid Attachment to Single Cysteine Residues in Proteins for NMR, EPR and Time-Resolved Luminescence Studies / I. D. Herath [et al.] // *Chemistry – A European Journal*. – 2021. – Vol. 27, N 51. – P. 13009–13023. <https://doi.org/10.1002/chem.202101143>
11. Site-specific fluorescent labeling and oriented immobilization of a triple mutant of CYP3A4 via C64 / A. Ménard [et al.] // *Bioconjugate Chemistry*. – 2012. – Vol. 23, N 4. – P. 826–836. <https://doi.org/10.1021/bc200672s>
12. Polic, V. Allosteric activation of cytochrome P450 3A4 via progesterone bioconjugation / V. Polic, K. Auclair // *Bioconjugate Chemistry*. – 2017. – Vol. 28, N 4. – P. 885–889. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00604>
13. Sevrioukova, I. F. High-level production and properties of the cysteine-depleted cytochrome P450 3A4 / I. F. Sevrioukova // *Biochemistry*. – 2017. – Vol. 56, N 24. – P. 3058–3067. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.7b00334>
14. Mechanism of interactions of α -naphthoflavone with cytochrome P450 3A4 explored with an engineered enzyme bearing a fluorescent probe / T. N. Tsalkova [et al.] // *Biochemistry*. – 2007. – Vol. 46, N 1. – P. 106–119. <https://doi.org/10.1021/bi061944p>
15. Effect of glutathione on homo- and heterotropic cooperativity in cytochrome P450 3A4 / D. R. Davydov [et al.] // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2008. – Vol. 471, N 2. – P. 134–145. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.01.001>
16. Peripheral ligand-binding site in cytochrome P450 3A4 located with fluorescence resonance energy transfer (FRET) / D. R. Davydov [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287, N 9. – P. 6797–6809. <https://doi.org/10.1074/jbc.m111.325654>
17. A large-scale allosteric transition in cytochrome P450 3A4 revealed by luminescence resonance energy transfer (LRET) / E. V. Sineva [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, N 12. – Art. e83898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083898>
18. Interactions among cytochromes P450 in microsomal membranes: oligomerization of cytochromes P450 3A4, 3A5, and 2E1 and its functional consequences / D. R. Davydov [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2015. – Vol. 290, N 6. – P. 3850–3864. <https://doi.org/10.1074/jbc.m114.615443>
19. Conformational mobility in cytochrome P450 3A4 explored by pressure-perturbation EPR spectroscopy / D. R. Davydov [et al.] // *Biophys. J.* – 2016. – Vol. 110, N 7. – P. 1485–1498. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.02.026>
20. Porath, J. Immobilized metal affinity adsorption and immobilized metal affinity chromatography of biomaterials. Serum protein affinities for gel-immobilized iron and nickel ions / J. Porath, B. Olin // *Biochemistry*. – 1983. – Vol. 22, N 7. – P. 1621–1630. <https://doi.org/10.1021/bi00276a015>
21. Morrison, J. F. Kinetics of the reversible inhibition of enzyme-catalysed reactions by tight-binding inhibitors / J. F. Morrison // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Enzymology*. – 1969. – Vol. 185, N 2. – P. 269–286. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(69\)90420-3](https://doi.org/10.1016/0005-2744(69)90420-3)
22. Expression of modified human cytochrome P450 3A4 in *Escherichia coli* and purification and reconstitution of the enzyme / E. M. J. Gillam [et al.] // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1993. – Vol. 305, N 1. – P. 123–131. <https://doi.org/10.1006/abbi.1993.1401>
23. AMBER16 package / D. A. Case [et al.]. – San Francisco, 2016.
24. CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM / S. Jo [et al.] // *J. Comp. Chem.* – 2008. – Vol. 29, N 11. – P. 1859–1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
25. Frank, D. J. Analysis of heterotropic cooperativity in cytochrome P450 3A4 using α -naphthoflavone and testosterone / D. J. Frank, I. G. Denisov, S. G. Sligar // *J. Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 286, N 7. – P. 5540–5545. <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.182055>

References

1. Guengerich F. P. Human cytochrome P450 enzymes. *Cytochrome P450*. Springer, 2015, pp. 597–607.
2. Yano J. K., Wester M. R., Schoch G. A., Griffin K. J., Stout C. D., Johnson E. F. The structure of human microsomal cytochrome P450 3A4 determined by X-ray crystallography to 2.05-Å resolution. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, vol. 279, no. 37, pp. 38091–38094. <https://doi.org/10.1074/jbc.c400293200>
3. Ekroos M., Sjögren T. Structural basis for ligand promiscuity in cytochrome P450 3A4. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, vol. 103, no. 37, pp. 13682–13687. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603236103>

4. Sevrioukova I. F., Poulos T. L. Dissecting cytochrome P450 3A4–ligand interactions using ritonavir analogues. *Biochemistry*, 2013, vol. 52, no. 26, pp. 4474–4481. <https://doi.org/10.1021/bi4005396>
5. Brändén G., Sjögren T., Schnecke V., Xue Y. Structure-based ligand design to overcome CYP inhibition in drug discovery projects. *Drug Discovery Today*, 2014, vol. 19, no. 7, pp. 905–911. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.03.012>
6. Sevrioukova I. F., Poulos T. L. Anion-dependent stimulation of CYP3A4 monooxygenase. *Biochemistry*, 2015, vol. 54, no. 26, pp. 4083–4096. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00510>
7. Šrejber M., Navrátilová V., Paloncýová M., Bazgier V., Berka K., Anzenbacher P., Otyepka M. Membrane-attached mammalian cytochromes P450: An overview of the membrane's effects on structure, drug binding, and interactions with redox partners. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2018, vol. 183, pp. 117–136. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.03.002>
8. Hackett J. C. Membrane-embedded substrate recognition by cytochrome P450 3A4. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, vol. 293, no. 11, pp. 4037–4046. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra117.000961>
9. Su X. C., Huber T., Dixon N. E., Otting G. Site-specific labelling of proteins with a rigid lanthanide-binding tag. *ChemBioChem*, 2006, vol. 7, no. 10, pp. 1599–1604. <https://doi.org/10.1002/cbic.200600142>
10. Herath I. D., Breen C., Hewitt S. H., Berki T. R., Kassir A. F., Dodson C., Judd M., Jabar S., Cox N., Otting G., Butler S. J. A Chiral Lanthanide Tag for Stable and Rigid Attachment to Single Cysteine Residues in Proteins for NMR, EPR and Time-Resolved Luminescence Studies. *Chemistry – A European Journal*, 2021, vol. 27, no. 51, pp. 13009–13023. <https://doi.org/10.1002/chem.202101143>
11. Ménard A., Huang Y., Karam P., Cosa G., Auclair K. Site-specific fluorescent labeling and oriented immobilization of a triple mutant of CYP3A4 via C64. *Bioconjugate Chemistry*, 2012, vol. 23, no. 4, pp. 826–836. <https://doi.org/10.1021/bc200672s>
12. Polic V., Auclair K. Allosteric activation of cytochrome P450 3A4 via progesterone bioconjugation. *Bioconjugate Chemistry*, 2017, vol. 28, no. 4, pp. 885–889. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00604>
13. Sevrioukova I. F. High-level production and properties of the cysteine-depleted cytochrome P450 3A4. *Biochemistry*, 2017, vol. 56, no. 24, pp. 3058–3067. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.7b00334>
14. Tsalkova T. N., Davydova N. Y., Halpert J. R., Davydov D. R. Mechanism of interactions of α -naphthoflavone with cytochrome P450 3A4 explored with an engineered enzyme bearing a fluorescent probe. *Biochemistry*, 2007, vol. 46, no. 1, pp. 106–119. <https://doi.org/10.1021/bi061944p>
15. Davydov D. R., Davydova N. Y., Tsalkova T. N., Halpert J. R. Effect of glutathione on homo- and heterotropic cooperativity in cytochrome P450 3A4. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2008, vol. 471, no. 2, pp. 134–145. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.01.001>
16. Davydov D. R., Rumfeldt J. A., Sineva E. V., Fernando H., Davydova N. Y., Halpert J. R. Peripheral ligand-binding site in cytochrome P450 3A4 located with fluorescence resonance energy transfer (FRET). *Journal of Biological Chemistry*, 2012, vol. 287, no. 9, pp. 6797–6809. <https://doi.org/10.1074/jbc.m111.325654>
17. Sineva E. V., Rumfeldt J. A., Halpert J. R., Davydov D. R. A large-scale allosteric transition in cytochrome P450 3A4 revealed by luminescence resonance energy transfer (LRET). *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 12, art. e83898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083898>
18. Davydov D. R., Davydova N. Y., Sineva E. V., Halpert J. R. Interactions among cytochromes P450 in microsomal membranes: oligomerization of cytochromes P450 3A4, 3A5, and 2E1 and its functional consequences. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, vol. 290, no. 6, pp. 3850–3864. <https://doi.org/10.1074/jbc.m114.615443>
19. Davydov D. R., Yang Z., Davydova N., Halpert J. R., Hubbell W. L. Conformational mobility in cytochrome P450 3A4 explored by pressure-perturbation EPR spectroscopy. *Biophysical Journal*, 2016, vol. 110, no. 7, pp. 1485–1498. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.02.026>
20. Porath J., Olin B. Immobilized metal affinity adsorption and immobilized metal affinity chromatography of biomaterials. Serum protein affinities for gel-immobilized iron and nickel ions. *Biochemistry*, 1983, vol. 22, no. 7, pp. 1621–1630. <https://doi.org/10.1021/bi00276a015>
21. Morrison J. F. Kinetics of the reversible inhibition of enzyme-catalysed reactions by tight-binding inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Enzymology*, 1969, vol. 185, no. 2, pp. 269–286. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(69\)90420-3](https://doi.org/10.1016/0005-2744(69)90420-3)
22. Gillam E. M., Baba T., Kim B. R., Ohmori S., Guengerich F. P. Expression of modified human cytochrome P450 3A4 in *Escherichia coli* and purification and reconstitution of the enzyme. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1993, vol. 305, no. 1, pp. 123–131. <https://doi.org/10.1006/abbi.1993.1401>
23. Case D. A., Cerutti D., Cheatham T., Darden T., Duke R., Homeyer N. *AMBER16 package*. San Francisco, 2016.
24. Jo S., Kim T., Iyer V. G., Im W. CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. *Journal of Computational Chemistry*, 2008, vol. 29, no. 11, pp. 1859–1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
25. Frank D. J., Denisov I. G., Sligar S. G. Analysis of heterotropic cooperativity in cytochrome P450 3A4 using α -naphthoflavone and testosterone. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, vol. 286, no. 7, pp. 5540–5545. <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.182055>

Информация об авторах

Бритиков Владимир Владимирович – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: britikov@iboch.by.

Бритикова Елена Вячеславовна – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: britikova@iboch.by.

Бочаров Эдуард Валерьевич – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН (ул. Миклухо-Маклая, 16/10, 117997, Москва, Российская Федерация). E-mail: edvbon@mail.ru.

Бершацкий Ярослав Витальевич – мл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН (ул. Миклухо-Маклая, 16/10, 117997, Москва, Российская Федерация). E-mail: bershackujaroslav@gmail.com.

Кузьмина Наталья Викторовна – канд. физ.-мат. наук, науч. сотрудник. Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (Ленинский пр., 33/2, 119071, Москва, Российская Федерация). E-mail: kuzmina-natsha@inbox.ru.

Бойко Константин Михайлович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН (Ленинский пр., 31/4, 119071, Москва, Российская Федерация). E-mail: boiko_konstantin@inbi.ras.ru.

Усанов Сергей Александрович – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: usanov@iboch.by.

Information about the authors

Britikov Vladimir V. – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: britikov@iboch.by.

Britikova Elena V. – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: britikova@iboch.by.

Bocharov Eduard V. – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher. Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS (16/10, Miklukho-Maklai Str., 117997, Moscow, Russian Federation). E-mail: edvbon@mail.ru.

Bershatsky Yaroslav V. – Junior Researcher. Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS (16/10, Miklukho-Maklai Str., 117997, Moscow, Russian Federation). E-mail: edvbon@mail.ru.

Kuzmina Natalya V. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Researcher. Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” RAS (33/2, Leninsky Ave., 119071, Moscow, Russian Federation). E-mail: kuzmina-natsha@inbox.ru.

Boiko Konstantin M. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry RAS (31/4, Leninsky Ave., 119071, Moscow, Russian Federation). E-mail: boiko_konstantin@inbi.ras.ru.

Usanov Sergey A. – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Professor. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: usanov@iboch.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

БИОЛОГИЯ

BIOLOGY

УДК 577.21:575.174.015.3:616.24-008.4
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-187-194>

Поступило в редакцию 04.04.2022
Received 04.04.2022

**О. М. Малышева¹, Е. П. Михаленко¹, А. П. Сухарева^{2,3}, М. В. Артюшевская³,
К. А. Гомолко^{2,3}, академик А. В. Кильчевский¹**

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Клинический родильный дом Минской области, Минск, Республика Беларусь

³Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ СУРФАКТАНТА SP-B И SP-C У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ

Аннотация. Синдром дыхательных расстройств (СДР) и бронхолегочная дисплазия (БЛД) являются заболеваниями легких, возникающими в основном у недоношенных новорожденных. Полиморфные варианты генов сурфактантных белков рассматриваются как кандидаты, вносящие вклад в патогенез СДР и БЛД. Изучена связь 5 полиморфных вариантов гена *SFTPB* (rs2077079, rs1130866, D2S388, D2S2232, VNTR 4 интрона) и 3 полиморфных замен гена *SFTPC* (rs4715, rs1124, rs2070687) у недоношенных новорожденных с СДР различной степени тяжести и БЛД. В исследование включены 555 новорожденных, среди которых 313 недоношенных младенцев со сроком гестации 28–36 недель. Генотипирование проводили секвенированием по Сэнгеру, микросателлитным анализом и ПЦР-РВ. Все недоношенные новорожденные характеризовались наличием СДР разной степени тяжести, у 36 новорожденных была выявлена БЛД. Микросателлитный маркер D2S388 гена *SFTPB* вносит вклад в этиологию СДР и может служить геном его предрасположенности. Аллель 256 п. н. увеличивает риск развития СДР тяжелой степени. В то же время генотип –18AA rs2077079 гена *SFTPB* ассоциирован с уменьшением риска развития СДР тяжелой степени. Полиморфный вариант с.413C>A р. T138N (rs4715) гена *SFTPC* ассоциирован с БЛД: генотип 413CC повышает, а генотип 413CA снижает риск развития заболевания.

Ключевые слова: полиморфизм генов, синдром дыхательных расстройств, бронхолегочная дисплазия, недоношенные новорожденные, сурфактант

Для цитирования. Генетический полиморфизм белков сурфактанта SP-B и SP-C у недоношенных новорожденных с дыхательными осложнениями / О. М. Малышева [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 187–194. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-187-194>

**Volha M. Malyshava¹, Alena P. Mikhalenka¹, Anastasiya P. Suharava^{2,3}, Maryna V. Artsiusheuskaya³,
Kseniya A. Gomolko^{2,3}, Academician Aleksandr V. Kilchevsky¹**

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Clinical Maternity Hospital of Minsk Region, Minsk, Republic of Belarus

³Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

GENETIC POLYMORPHISM OF SP-B AND SP-C SURFACTANT PROTEINS IN PRETERM INFANTS WITH RESPIRATORY COMPLICATIONS

Abstract. The respiratory distress syndrome (RDS) and the bronchopulmonary dysplasia (BPD) are the lung diseases that occur mainly in preterm infants. Polymorphic variants of surfactant protein genes are considered as candidates contributing to the pathogenesis of RDS and BPD. The association of 5 polymorphic variants of the *SFTPB* gene (rs2077079, rs1130866, D2S388, D2S2232, VNTR 4 introns) and 3 polymorphic substitutions of the *SFTPC* gene (rs4715, rs1124, rs2070687) in newborns with the development risk and severity of RDS and BPD was studied. 555 newborns were included in the study, among which 313 premature babies with a gestational age of 28–36 weeks. Genotyping was performed by the Sanger sequencing, the microsatellite analysis, and the real-time PCR. All premature newborns were characterized by the presence of RDS of differ-

ent severity and BPD was detected in 36 newborns. The microsatellite marker D2S388 of the *SFTPB* gene contributes to the etiology of RDS and may serve as a gene for its predisposition. Allele 256 bp increases the risk of developing severe RDS. At the same time, the –18AA rs2077079 genotype of the *SFTPB* gene is associated with a reduced risk of developing severe RDS. The polymorphic variant c.413C>A p. T138N (rs4715) of the *SFTPC* gene is associated with BPD: the 413CC genotype increases, and the 413CA genotype reduces the risk of developing the disease.

Keywords: gene polymorphism, respiratory distress syndrome, bronchopulmonary dysplasia, premature newborns, surfactant

For citation. Malyshava V. M., Mikhalenka A. P., Suharava A. P., Artsiusheuskaya M. V., Gomolko K. A., Kilchevsky A. V. Genetic polymorphism of SP-B and SP-C surfactant proteins in preterm infants with respiratory complications. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 187–194 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-187-194>

Введение. Важнейшей функцией легочного сурфактанта является обеспечение механики дыхания легких. При дефиците или сниженной активности сурфактанта повышается проницаемость альвеолярных и капиллярных мембран для белка и жидкости, что вызывает застой крови в капиллярах, отек интерстициальной и альвеолярной тканей, снижение растяжимости и газообменной функции легких, происходит спадание альвеол и формирование ателектазов. Вследствие этого уменьшается функциональная остаточная емкость, дыхательный объем и жизненная емкость легких. Эти процессы приводят к появлению гипоксемии, гиперкапнии и острой дыхательной недостаточности. Основным осложнением синдрома дыхательных расстройств (СДР) у недоношенных новорожденных является бронхолегочная дисплазия (БЛД) [1; 2].

К мультифакторным патологическим состояниям недоношенных новорожденных относятся как СДР, так и БЛД, вклад в развитие которых помимо антенатальных и постнатальных предикторов, незрелости структур и органов из-за недоношенности вносят и генетические детерминанты. Понимание молекулярных механизмов их патогенеза позволяет выявлять гены, белковые продукты которых могут быть ассоциированы с возникновением болезни. Значительную роль в формировании дыхательной недостаточности играют белки сурфактанта SP-B и SP-C, кодируемые генами *SFTPB*, *SFTPC*, за счет участия в оптимизации реологических свойств поверхности сурфактанта при динамических изменениях в процессе легочного дыхания. Можно предположить, что полиморфные варианты в генах *SFTPB*, *SFTPC*, влияющие на уровень и активность сурфактанта, могут оказывать значимую роль в формировании и течении дыхательных расстройств у недоношенных новорожденных [1; 2].

Целью данного исследования является изучение связи полиморфных вариантов в генах *SFTPB* и *SFTPC* у недоношенных новорожденных с течением синдрома дыхательных расстройств и развитием бронхолегочной дисплазии.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 555 новорожденных детей, родившихся в УЗ «Клинический родильный дом Минской области» с 2015 по 2021 г. Эксперимент проводился с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности, получено письменное информированное согласие законного представителя пациента и разрешение Комитета по этике БелМАПО на проведение исследования.

В соответствии с поставленными задачами были сформированы 2 группы наблюдений: основная, состоящая из 313 недоношенных новорожденных, а также группа сравнения – 242 доношенных новорожденных, гестационный возраст которых был в пределах 37–40 недель и течение раннего неонатального периода характеризовалось отсутствием патологических признаков. Исследуемая группа недоношенных новорожденных была разделена на 3 подгруппы в зависимости от гестационного срока.

Критериями включения пациентов в основную группу исследования были следующие: срок гестации 28–36 недель, наличие СДР различной степени тяжести. При тяжелом течении СДР недоношенному ребенку проводилась сурфактантная терапия, респираторная поддержка более 1 суток, оксигенотерапия после перевода на спонтанное дыхание. У младенцев с СДР умеренной степени тяжести респираторная поддержка проводилась в течение первых суток. Диагноз бронхолегочная дисплазия был выставлен на основании клинических и рентгенологических данных.

Распределение пациентов по группам с учетом срока гестации, степени тяжести СДР и наличия БЛД показано на рис. 1.



Рис. 1. Распределение пациентов и критерии их включения в исследуемые группы

Fig. 1. Patients' distribution and criteria for their inclusion in the study groups

Геномную ДНК выделяли из пуповинной и венозной периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции [3].

У пациентов проведен анализ 8 полиморфных вариантов генов *SFTPВ*, *SFTPС*. Инсерционно-делеционный полиморфный локус, обусловленный вариабельностью числа tandemных повторов (VNTR – variable number tandem repeat) в интроне 4 гена *SFTPВ* определяли электрофорезом ПЦР-продукта в 1,5 %-ном агарозном геле сразу после проведения амплификации. Фрагменты более 510 п. н. соответствовали наличию инсерции длиной 20 п. н. Фрагменты менее 510 п. н. соответствовали наличию делеции. Для выявления полиморфных вариантов с.392C>T Thr131Ile (rs1130866), D2S388, D2S2232 гена *SFTPВ* и с.413C>A p.T138N (rs4715), с.557G>A p.S186N (rs1124), с.436-8 C>G (rs2070687) гена *SFTPС* использовали метод капиллярного электрофореза (секвенирование по Сэнгеру, микросателлитный анализ). Нуклеотидную замену –18A>C rs2077079 гена *SFTPВ* определяли методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Последовательности праймеров, использованных в работе, подобраны по [4–8], а условия ПЦР – экспериментально для каждой пары праймеров.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программного обеспечения GraphPad InStat Version 3.05 и онлайн-программы SNPStats (http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats_web). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У недоношенных новорожденных в сроке гестации 32–34 и 34–36 недель чаще встречается СДР умеренной степени тяжести (55,4 и 65,4 % соответственно).

Недоношенные новорожденные с БЛД чаще встречались в сроке гестации 28–32 недели (19,1 %), чем в сроке гестации 32–34 недели (2,4 %). В группе поздних недоношенных исследуемого осложнения выявлено не было. Поэтому в статистическом анализе корректно использовать в качестве группы сравнения для определения риска развития исследуемого осложнения молекулярно-генетические данные пациентов гестационного возраста 28–32 недели.

В исследовании была проанализирована связь 8 полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPС* с риском развития и тяжестью течения синдрома дыхательных расстройств, риском развития бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных. При проведении анализа

по микросателлитным маркерам D2S388 и D2S2232 гена *SFTPВ* обнаружено 9 (250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266 п. н.) и 10 (200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218 п. н.) аллелей, которые образуют 22 и 42 генотипа соответственно. Аллели с частотой встречаемости менее 5 % на всю исследуемую выборку из анализа были исключены.

Проведено попарное сравнение в следующих группах новорожденных (алгоритм пошагового сравнения групп новорожденных с увеличением тяжести респираторного осложнения: от отсутствия до БЛД):

- 1) контрольная группа (доношенные новорожденные) и пациенты с СДР умеренной степени тяжести (срок гестации – 28–36 недель);
- 2) пациенты с СДР умеренной степени тяжести и пациенты с СДР тяжелой степени (срок гестации – 28–36 недель для обеих групп);
- 3) пациенты с СДР тяжелой степени в сроке гестации 28–32 недели с БЛД и без исследуемого осложнения.

Распределение генотипов в группе доношенных новорожденных соответствовало равновесию Харди–Вайнберга.

Анализ распределения частоты встречаемости полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPC* не выявил существенных различий между группой недоношенных новорожденных с СДР умеренной степени тяжести и контрольной группой.

На следующем этапе проводился анализ связи изучаемых нуклеотидных замен и микросателлитных локусов с тяжестью течения синдрома дыхательных расстройств у недоношенных новорожденных в сроке гестации 28–36 недель, так как не было обнаружено достоверных различий в частотах распределения полиморфных вариантов изучаемых локусов в зависимости от гестационного срока пациентов в основной группе. Обнаружено, что в гене *SFTPВ* по микросателлитному маркеру SPBD388 аллель 256 п. н. встречается в 1,9 раза чаще в группе недоношенных новорожденных с тяжелой формой СДР ($p = 0,026$; OR (95 % CI): 2,00 (1,10–3,63)), а генотип –18АА rs2077079 в 1,4 раза реже ($p = 0,032$; OR (95 % CI): 0,60 (0,37–0,95)).

В дальнейшем проанализирована ассоциация полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPC* с развитием БЛД у недоношенных новорожденных со сроком гестации 28–32 недели, группу сравнения для которых составили недоношенные сроком гестации 28–32 недели без БЛД с СДР тяжелой степени. Установлено влияние полиморфных вариантов rs4715 гена *SFTPC* на риск развития БЛД у недоношенных с СДР тяжелой степени. В группе недоношенных новорожденных с БЛД достоверно чаще встречались носители генотипа 413СС ($p = 0,026$; OR (95 % CI): 2,60 (1,13–5,98)) и достоверно реже – носители генотипа 413СА ($p = 0,023$; OR (95 % CI): 0,30 (0,11–0,80)).

Полученные данные об аллелях и генотипах полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPC*, достоверно ассоциированных с риском развития респираторных нарушений у недоношенных новорожденных, представлены на рис. 2.

По микросателлитному маркеру D2S2232, инсерционно-делеционному полиморфизму, нуклеотидным заменам rs1130866 гена *SFTPВ*, rs1124 и rs2070687 гена *SFTPC* не было выявлено ассоциаций со степенью тяжести СДР и риском развития БЛД.

Молекулярные нарушения в генах *SFTPВ* и *SFTPC* могут приводить к изменению процесса образования сурфактанта либо к нарушению его метаболизма. Первый патогенный вариант в гене *SFTPВ* был выявлен у доношенного новорожденного с дефицитом белка SP-B и альвеолярным протеинозом, так называемая 121ins2 – мутация, расположенная в 4 экзоне гена. Инсерция вызывает сдвиг рамки считывания и появление преждевременного стоп-кодона в 6 экзоне гена, что приводит к нестабильности транскрипта, а также к отсутствию мРНК и белка SP-B [9]. В настоящее время известно примерно о 50 различных мутациях по всему гену, из которых мутация 121ins2 является наиболее распространенной и может составлять более половины случаев синдрома дыхательных расстройств среди европеоидного населения.

Патогенный эффект мутаций в гене *SFTPC* в первую очередь является результатом ошибочного процессинга мутантного белка, который оказывает токсическое воздействие на альвеолоциты. Среди более 60 замен в гене *SFTPC* наиболее распространенной мутацией как

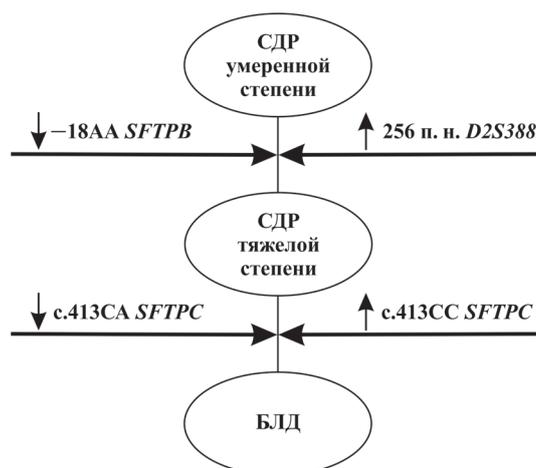


Рис. 2. Генотипы и аллели полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPС*, ассоциированные с риском развития респираторных нарушений (↑ – повышенный риск развития осложнения, ↓ – пониженный риск развития осложнения)

Fig. 2. Genotypes and alleles of polymorphic variants of the *SFTPВ* and *SFTPС* genes associated with the risk of developing respiratory disorders (↑ – increased risk of complications, ↓ – reduced risk of complications)

у детей, так и у взрослых является мутация линкерного домена – I73T, в результате чего нарушается транспорт пропептида в эндосомы и регуляция протеостаза в альвеолоцитах. Кроме того, при наличии этой мутации происходит изменение липидного состава сурфактанта. Другие мутации, расположенные в С-концевом BRICHOS-домене, вызывают токсическое внутриклеточное накопление пробелка и апоптоз клетки [9].

Помимо патогенных мутаций в генах описано множество полиморфных локусов, расположенных в кодирующей части, регуляторной и нетранслируемой области гена, которые могут влиять на уровень и активность сурфактанта, тем самым оказывая модифицирующую роль в формировании и течении дыхательных расстройств у недоношенных новорожденных.

В промоторной области гена *SFTPВ* между ТАТА-боксом и сайтом инициации транскрипции расположен полиморфный вариант –18С/А, который может функционально воздействовать на промотор. Транскрипционный фактор Sp1 связывается более тесно с последовательностью аллеля С, чем с последовательностью аллеля А. Транскрипционный и иммуноферментный анализ жидкости бронхоальвеолярного лаважа показали, что присутствие аллеля С коррелирует с большей активностью промотора гена *SFTPВ* и белка SP-B. Наблюдалась примерно трехкратная разница в количестве SP-B в жидкости бронхоальвеолярного лаважа в сравнении с лицами, обладающими генотипами –18СА и –18АА [10]. Генотип –18АА, достоверно чаще встречаемый у недоношенных новорожденных с СДР умеренной степени тяжести в нашем исследовании, снижает экспрессию гена *SFTPВ*, что должно повышать степень тяжести респираторных осложнений. Обнаруженное защитное свойство данного генотипа вероятно связано с другими факторами.

VNTR 4 интрона гена *SFTPВ* состоит из повторяющихся мотивов, включающих консервативную последовательность длиной 20 п. н., за которой следуют различные динуклеотидные повторы (СА-повторы). Вариантные аллели состоят либо из инсерций мотивов, либо из делеций мотивов. Длина 4 интрона гена влияет на сплайсинг в области экзон 4/интрон 4 и появление не полностью сплайсированной мРНК при наличии делеции в интроне. Длина 4 интрона играет роль в регуляции транскрипции гена *SFTPВ*, что приводит к изменению мРНК. Гомозиготный вариант генотипа с делецией в 4 интроне может быть связан с развитием БЛД за счет наличия аномального белка SP-B [11].

Микросателлитные маркеры D2S388 и D2S2232 гена *SFTPВ* расположены в некодирующей области примерно на расстоянии 191 и 105 т. п. н. от центромерного конца гена соответственно, и представляют собой последовательности двух основных повторов (AC)*n*. По литературным данным известно о корреляции между полиморфизмами D2S388 и D2S2232 и предрасположенностью к острому респираторному дистресс-синдрому и восприимчивостью к хронической

обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у мексиканцев [5]. Так, в локусе D2S388 аллель 254 п. н. достоверно чаще встречается у китайцев с ХОБЛ, аллель 256 п. н. – у детей с СДР, аллель 258 п. н. – у недоношенных новорожденных с БЛД [5; 12; 13], а в локусе D2S2232 аллель 222 п. н. повышает, а 220 п. н. снижает риск развития БЛД у недоношенных детей [13].

Полиморфный вариант с.392C>T Thr131Ile расположен в 4 экзоне гена, замещение цитозина тимином приводит к замене аминокислоты треонина на изолейцин в положении 131 белка, что может блокировать потенциальные сайты N-связанного гликозилирования. При наличии аллеля С в сайте Asn129-Gln-Thr131 происходит гликозилирование, тогда как при аллеле Т – нет. Нарушение процессинга, секреции и фолдинга белка SP-B в результате N-связанного гликозилирования может привести к изменению качественного и количественного уровней белка. По литературным данным генотип СС может быть связан с повышенным риском заболевания легких [10; 11]. В проведенном исследовании не выявлено ассоциации с развитием и тяжестью респираторных осложнений у недоношенных детей.

Литературные данные об участии полиморфных вариантов гена *SFTPC* в развитии и течении СДР и БЛД малочисленны и противоречивы. Полиморфный вариант с.413C>A p. T138N rs4715 в 4 экзоне гена *SFTPC* приводит к аминокислотной замене треонина на аспарагин. Замена гуанина на аденин в полиморфном варианте rs1124 в 5 экзоне гена приводит к замене аминокислоты серин на аспарагин. Механизм влияния этих полиморфных вариантов на риск развития различных заболеваний легкого до сих пор не ясен. Однако обе замены расположены в экзонах, кодирующих С-концевой BRICHOS-домен белка, который имеет решающее значение в процессинге proSP-C до зрелого сурфактантного белка С [14]. Известно, что обе несинонимичные замены ассоциированы с развитием СДР, муковисцидоза, интерстициальной болезни легких. В районе альтернативного сайта сплайсинга 4 интрона гена *SFTPC* расположен полиморфный вариант rs2070687 (436-8 C→G), замена нуклеотидов в котором может привести к образованию двух разных видов мРНК, за счет вставки или делеции 18 нуклеотидов [15].

Полиморфные варианты генов, кодирующих белки сурфактанта В и С, являются важными генетическими компонентами полиэтиологической структуры СДР и БЛД недоношенных новорожденных. Необходимы дальнейшие исследования для валидации полученных результатов с использованием большей популяции для выявления факторов, способствующих развитию БЛД с целью прогнозирования развития и степени тяжести этого заболевания.

Заключение. Микросателлитный маркер D2S388 гена *SFTPB* вносит вклад в этиологию СДР и может служить геном его предрасположенности. Аллель 256 п. н. увеличивает риск развития СДР тяжелой степени. В то же время генотип –18AA rs2077079 гена *SFTPB* ассоциирован с уменьшением риска развития СДР тяжелой степени.

Полиморфный вариант с.413C>A p. T138N (rs4715) гена *SFTPC* ассоциирован с БЛД: генотип 413СС повышает, а генотип 413СА понижает риск развития заболевания.

По микросателлитному маркеру D2S2232, инсерционно-делеционному полиморфному локусу, нуклеотидным заменам rs1130866 гена *SFTPB*, rs1124 и rs2070687 гена *SFTPC* не было выявлено ассоциаций со степенью тяжести СДР и риском развития БЛД.

Список использованных источников

1. Jackson, J. C. Respiratory distress in the preterm infant / J. C. Jackson // Avery's Diseases of the Newborn: 9th ed. / ed. C. A. Gleason, S. U. Devaskar. – 2012. – Ch. 46. – P. 633–646. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4377-0134-0.10046-0>
2. Bronchopulmonary dysplasia / B. Thébaud [et al.] // Nat. Rev. Dis. Primers. – 2019. – Vol. 5, N 1. – P. 1–23. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0127-7>
3. Sambrook, J. Isolation of highmolecular-weight DNA from mammalian cells / J. Sambrook, E. F. Fritsch, T. Maniatis // Molecular Cloning: a laboratory manual. – 2nd ed. – N. Y., 1989. – P. 9.14–9.23.
4. Surfactant protein B deficiency and gene mutations for neonatal respiratory distress syndrome in China Han ethnic population / X. Yin [et al.] // J. Clin. Exp. Pathol. – 2013. – Vol. 6, N 2. – P. 267–272.
5. Relationship between the microsatellite D2S388-5 and D2S2232 polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease in the Chinese Kazakh population / J. Gu [et al.] // Respirology. – 2013. – Vol. 18, N 2. – P. 303–307. <https://doi.org/10.1111/resp.12000>
6. Surfactant proteins A and B as interactive genetic determinants of neonatal respiratory distress syndrome / R. Haataja [et al.] // Hum. Mol. Gen. – 2000. – Vol. 9, N 18. – P. 2751–2760. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.18.2751>

7. Genetic association of pulmonary surfactant protein genes, *SFTPA1*, *SFTPA2*, *SFTPB*, *SFTPC*, and *SFTPD* with cystic fibrosis / Z. Lin [et al.] // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02256>
8. Two novel mutations in surfactant protein-C, lung function and obstructive lung disease / M. Bækvad-Hansen [et al.] // *Respiratory Medicine.* – 2010. – Vol. 104, N 3. – P. 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.10.012>
9. Moorsel, C. Genetic disorders of the surfactant system: focus on adult disease / C. Moorsel, J. Vis, J. Grutters // *Eur. Respir. Rev.* – 2021. – Vol. 30, N 159. – Art. 200085. <https://doi.org/10.1183/16000617.0085-2020>
10. Surfactant protein B gene polymorphisms is associated with risk of bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population / S. Zhang [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2015. – Vol. 8, N 3. – P. 2971–2978.
11. Association of surfactant protein B gene polymorphisms (C/A-18, C/T1580, intron 4 and A/G9306) and haplotypes with bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population / B. Cai [et al.] // *J. Huazhong Univ. Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 33, N 3. – P. 323–328. <https://doi.org/10.1007/s11596-013-1118-7>
12. Family-based association tests suggest linkage between surfactant protein B (SP-B) (and flanking region) and respiratory distress syndrome (RDS): SP-B haplotypes and alleles from SP-B-linked loci are risk factors for RDS / J. Floros [et al.] // *Pediatr. Research.* – 2006. – Vol. 59, N 4, part 1. – P. 616–621. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000203145.48585.2c>
13. Genetic variants of surfactant proteins A, B, C, and D in bronchopulmonary dysplasia / J. Pavlovic [et al.] // *Disease Markers.* – 2006. – Vol. 22, N 5–6. – P. 277–291. <https://doi.org/10.1155/2006/817805>
14. Association of SP-C gene codon 186 polymorphism (rs1124) and risk of RDS / N. Fatahi [et al.] // *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine.* – 2016. – Vol. 30, N 21. – P. 2585–2589. <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1256994>
15. Clinical biological and genetic heterogeneity of the inborn errors of pulmonary surfactant metabolism / M. Tredano [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2001. – Vol. 39, N 2. – P. 90–108. <https://doi.org/10.1515/cclm.2001.018>

References

1. Jackson J. C. Respiratory distress in the preterm infant. Gleason C. A., Devaskar S. U., ed. *Avery's Diseases of the Newborn: 9th ed.* 2012, ch. 46, pp. 633–646. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4377-0134-0.10046-0>
2. Thébaud B., Goss K. N., Laughon M., Whitsett J. A., Abman S. H., Steinhorn R. H., Aschner J. L., Davis P. G., McGrath-Morrow S. A., Soll R. F., Job A. H. Bronchopulmonary dysplasia. *Nature Reviews Disease Primers*, 2019, vol. 5, no. 1, pp. 1–23. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0127-7>
3. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Isolation of highmolecular-weight DNA from mammalian cells. *Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd ed.* N. Y., 1989, pp. 9.14–9.23.
4. Yin X., Meng F., Wang Y., Xie L., Kong X., Feng Z. Surfactant protein B deficiency and gene mutations for neonatal respiratory distress syndrome in China Han ethnic population. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2013, vol. 6, no. 2, pp. 267–272.
5. Gu J., Liu X.-S., Xu Y.-J., Xu X.-L., Yang Y.-S., Wang R. Relationship between the microsatellite D2S388-5 and D2S232 polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease in the Chinese Kazakh population. *Respirology*, 2013, vol. 18, no. 2, pp. 303–307. <https://doi.org/10.1111/resp.12000>
6. Haataja R., Ramet M., Marttila R., Hallman M. Surfactant proteins A and B as interactive genetic determinants of neonatal respiratory distress syndrome. *Human Molecular Genetics*, 2000, vol. 9, no. 18, pp. 2751–2760. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.18.2751>
7. Lin Z., Thorenoor N., Wu R., DiAngelo S. L., Ye M., Thomas N. J., Liao X., Lin T. R., Warren S., Floros J. Genetic association of pulmonary surfactant protein genes, *SFTPA1*, *SFTPA2*, *SFTPB*, *SFTPC*, and *SFTPD* with cystic fibrosis. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, pp. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02256>
8. Bækvad-Hansen M., Nordestgaard B. G., Tybjaerg-Hansen A., Dahl M. Two novel mutations in surfactant protein-C, lung function and obstructive lung disease. *Respiratory Medicine*, 2010, vol. 104, no. 3, pp. 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.10.012>
9. Moorsel C., Vis J., Grutters J. Genetic disorders of the surfactant system: focus on adult disease. *European Respiratory Review*, 2021, vol. 30, no. 159, art. 200085. <https://doi.org/10.1183/16000617.0085-2020>
10. Zhang S., Zhang X., Li Q., Kong X., Zhang Y., Wei X., Song J., Feng Z. Surfactant protein B gene polymorphisms is associated with risk of bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015, vol. 8, no. 3, pp. 2971–2978.
11. Cai B., Chang L., Li W., Liu W., Wang X., Mo L., Zhao L., Xu H., Yang H. Association of surfactant protein B gene polymorphisms (C/A-18, C/T1580, intron 4 and A/G9306) and haplotypes with bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population. *Journal Huazhong University of Science and Technology*, 2013, vol. 33, no. 3, pp. 323–328. <https://doi.org/10.1007/s11596-013-1118-7>
12. Floros J., Thomas N. J., Liu W., Papagaroufalos C., Xanthou M., Pereira S., Fan R., Guo X., DiAngelo S., Pavlovic J. Family-based association tests suggest linkage between surfactant protein B (SP-B) (and flanking region) and respiratory distress syndrome (RDS): SP-B haplotypes and alleles from SP-B-linked loci are risk factors for RDS. *Pediatric Research*, 2006, vol. 59, no. 4, part 1, pp. 616–621. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000203145.48585.2c>
13. Pavlovic J., Papagaroufalos C., Xanthou M., Liu W., Fan R., Thomas N. J., Apostolidou I., Papatoma E., Megaloyianni E., DiAngelo S., Floros J. Genetic variants of surfactant proteins A, B, C, and D in bronchopulmonary dysplasia. *Disease Markers*, 2006, vol. 22, no. 5–6, pp. 277–291. <https://doi.org/10.1155/2006/817805>
14. Fatahi N., Dalili H., Kalani M., Niknafs N., Shariat M., Tavakkoly-Bazzaz J., Amini E., Shirvani T. E., Hardani A., Taheritafti R., Ghasemi-Fakhr N., Ghadami M., Nayeri F., Rashidi-Nezhad A. Association of SP-C gene codon 186 polymor-

phism (rs1124) and risk of RDS. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 2016, vol. 30, no. 21, pp. 2585–2589. <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1256994>

15. Tredano M., Blic J., Griese M., Fournet J.-C., Elion J., Bahuau M. Clinical biological and genetic heterogeneity of the inborn errors of pulmonary surfactant metabolism. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2001, vol. 39, no. 2, pp. 90–108. <https://doi.org/10.1515/ccm.2001.018>

Информация об авторах

Мальшиева Ольга Михайловна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: O.Malysheva@igc.by.

Михаленко Елена Петровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: E.Michalenko@igc.by.

Сухарева Анастасия Павловна – аспирант. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь); врач-неонатолог. Клинический родильный дом Минской области (ул. Ф. Скорины, 16, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nstbor@tut.by.

Артюшевская Марина Владимировна – канд. мед. наук, ассистент кафедры. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: 6579542@bk.ru.

Гомолко Ксения Александровна – аспирант. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь); врач-неонатолог. Клинический родильный дом Минской области (ул. Ф. Скорины, 16, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kseniagomolko@tut.by.

Кильчевский Александр Владимирович – академик, д-р биол. наук, профессор, научный руководитель лаборатории. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

Information about the authors

Malyshava Volha M. – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: O.Malysheva@igc.by.

Mikhalenka Alena P. – Ph. D. (Biology), Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: E.Michalenko@igc.by.

Suharava Anastasiya P. – Postgraduate Student. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus); Neonatologist. Clinical Maternity Hospital of Minsk Region (16, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nstbor@tut.by.

Artsiusheuskaya Maryna V. – Ph. D. (Medicine), Assistant. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: 6579542@bk.ru.

Gomolko Kseniya A. – Postgraduate Student. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus); Neonatologist. Clinical Maternity Hospital of Minsk Region (16, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kseniagomolko@tut.by.

Kilchevsky Aleksandr V. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Scientific Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 574.5
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-195-198>

Поступило в редакцию 25.03.2022
Received 25.03.2022

Член-корреспондент В. П. Семенченко

Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам,
Минск, Республика Беларусь

СКОРОСТЬ ВОСПРОИЗВОДСТВА *CLADOCERA* И ЕЕ СВЯЗЬ С РАЗМЕРНОЙ СТРУКТУРОЙ ФИТОПЛАНКТОНА

Аннотация. Установлено, что наиболее важным источником пищи, который определяет динамику рождаемости и, соответственно, популяционных показателей у *Daphnia cucullata* и *Bosmina longirostris* является размерная фракция фитопланктона, находящаяся в пределах от 5 до 20 мкм. Оценка трофических условий по общей биомассе фитопланктона или сестона не отражает пищевую обеспеченность кладоцерного зоопланктона и их воздействие на динамику численности популяций.

Ключевые слова: рождаемость, *Cladocera*, фитопланктон

Для цитирования. Семенченко, В. П. Скорость воспроизводства *Cladocera* и ее связь с размерной структурой фитопланктона / В. П. Семенченко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 195–198. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-195-198>

Corresponding Member Vitaly P. Semenchenko

Scientific and Practical Centre for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

BIRTHRATE OF *CLADOCERA* AND ITS RELATIONSHIP WITH THE SIZE STRUCTURE OF PHYTOPLANKTON

Abstract. The relationship between the birthrate and biomass of different-group phytoplankton was analyzed during the summer for *Daphnia cucullata* and *Bosmina longirostris* in the mesotrophic Drysviaty Lake. The high cross-correlation coefficients were obtained for the birthrate and phytoplankton with a size from 5 to 20 μm . There is no correlation between the birthrate and seston with a size of $\leq 50 \mu\text{m}$. Our results suggest that the total biomass of phytoplankton and seston do not reflect the food availability of cladocerans.

Keywords: birthrate, Cladocera, phytoplankton

For citation. Semenchenko V. P. Birthrate of *Cladocera* and its relationship with the size structure of phytoplankton. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 195–198 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-195-198>

Введение. Вопрос об удельном влиянии различных источников пищи в водоеме на динамику численности зоопланктона достаточно давно дискутируется в литературе. Ряд авторов указывают, что нехватка фитопланктона, как основного вида корма, может быть покрыта за счет других видов пищи – бактерий и детрита [1; 2]. В частности, по мнению D. W. Schindler [1], в период летнего минимума развития фитопланктона, детрит может выступать как главный источник корма для кладоцер.

Высокие биомассы фитопланктона еще не говорят об избытке корма, который может быть представлен или слишком крупными видами водорослей, или мелкими, но малопригодными для питания видами. Это замечание справедливо и для частиц детрита [3].

По мнению ряда авторов, качество водорослевого корма и сестона может в сильной степени определять скорость роста и размножения кладоцер в естественных условиях [4; 5].

Таким образом, при обсуждении этого вопроса чрезвычайно важное значение приобретают сведения о размерном составе и качестве источников пищи.

Материалы и методы исследования. Исследования были проведены на мезотрофном озере Дрисвяты (Республика Беларусь) в июне–августе на станции с глубиной 6 м. Пробы фитопланктона отбирали с периодичностью 4–5 дней на различных горизонтах с шагом 2,0 м с помощью

батометра Рутнера, которые затем объединяли в интегральную пробу. Пробы зоопланктона – с помощью сети Джеди (диаметр ячеек 100 мкм), протягивая ее от дна до поверхности.

Величины прозрачности воды за исследуемый период изменялись в пределах от 3,5 до 5,7 м, температура воды – от 14,5 до 24,2 °С.

Расчет величин рождаемости проводили по формуле Палохеймо:

$$b = 1 / De(1 + E_0 / N_0), \quad (1)$$

где b – рождаемость, сут⁻¹; De – длительность эмбрионального развития, сутки; E_0 – общее число яиц в популяции; N_0 – общее число особей в популяции.

Учитывая, что реакция рождаемости на изменение трофических условий происходит с запаздыванием, был применен метод кросс-корреляционного анализа. Поскольку временные ряды были нестационарными, их преобразовывали в величины, которые представляют собой разность между значением показателя в момент времени $\log(t + 1)$ и его значением в момент времени $\log t$. Время запаздывания реакции рождаемости на изменение биомассы фитопланктона с учетом температурного фактора было принято равным 9–10 суток [6].

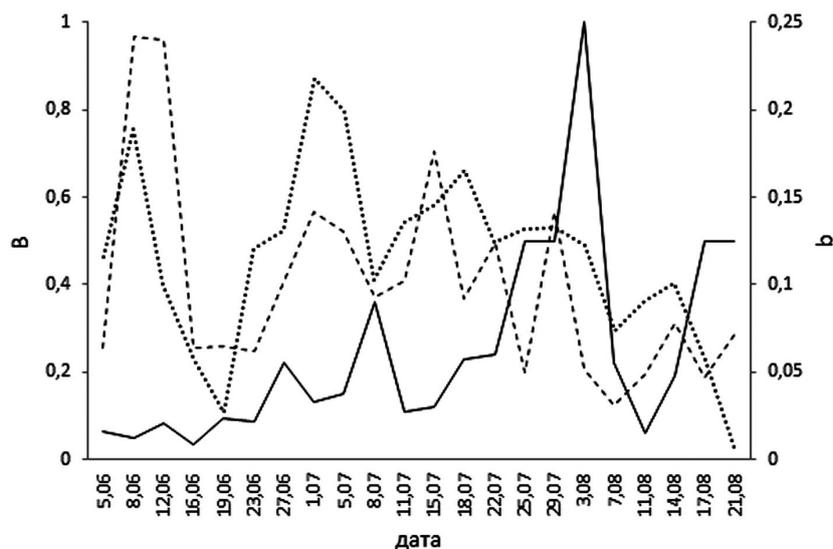
Результаты и их обсуждение. На рисунке представлены данные по динамике общей биомассы фитопланктона и величинам рождаемости у *Daphnia cucullata* и *Bosmina longirostris*.

Изменение величин рождаемости происходило фактически в противофазе по отношению к биомассе фитопланктона, т. е. с запаздыванием. При этом в августе, после массового развития сине-зеленых водорослей (*Microcystis aeruginosa*), наблюдалось значительное уменьшение величин рождаемости, что может свидетельствовать об ухудшении трофических условий.

На протяжении большей части периода исследований во фракции фитопланктона от 5 до 20 мкм доминировали *Rhodomonas pusilla* (в среднем 20 %) и *Cryptomonas* sp. (в отдельные периоды до 50–60 %). Крупноклеточные формы фитопланктона размером более 40 мкм были представлены *Anabaena flos aquae* и *Microcystis aeruginosa*.

Используя данные по биомассе размерных фракций фитопланктона, содержанию общего sestона с размером частиц менее 50 мкм, мы проанализировали корреляционную связь между различными источниками пищи и рождаемостью двух видов кладоцер – *Daphnia cucullata* и *Bosmina longirostris*.

В таблице приведены величины коэффициентов корреляции между рождаемостью и различными источниками пищи для дафнии и босмины.



Динамика изменения биомассы фитопланктона (B , мг · л⁻¹) и величин рождаемости (b , сут⁻¹) у *D. cucullata* и *B. longirostris* (— — фитопланктон, - - - - *D. cucullata*, •••• - *B. longirostris*) в озере Дрисвяты

Dynamic of phytoplankton biomass (mg · l⁻¹) and birthrate (day⁻¹) in *D. cucullata* and *B. longirostris* (— — phytoplankton, - - - - *D. cucullata*, •••• - *B. longirostris*) in Drysviaty Lake

**Корреляционная связь рождаемости *D. cucullata* и *B. longirostris*
с различными источниками пищи в оз. Дрисвяты**

**Coefficient correlation between birthrate *D. cucullata*, *B. longirostris*
and different type of food in Drysviaty Lake**

Источник пищи Food source	<i>D. cucullata</i>	<i>B. longirostris</i>
Сестон, <50 мкм	–0,121	–0,159
Общий фитопланктон	0,038	0,219
<i>Фракции фитопланктона</i>		
5–10 мкм	0,078	0,345*
10–20 мкм	0,487**	0,252
20–40 мкм	0,043	– 0,05
(5–10) + (10–20) мкм	0,352*	0,509**
(10–20) + (20–40) мкм	0,461**	0,368*
<40 мкм	0,382*	0,534**
>40 мкм	–0,097	–0,025

Примечание: * – коэффициенты корреляции достоверны при $p = 0,05$, ** – при $p = 0,01$.

Note: * – coefficient correlation is certainty under $p = 0.05$, ** – $p = 0.01$.

Корреляционная связь с величинами рождаемости для биомассы сестона и общей биомассы фитопланктона, а также фракции 20–40 мкм оказалась наиболее низкой и статистически недостоверной.

Иная картина отмечается для размерных фракций фитопланктона с размером менее 40 мкм. У дафнии достоверные коэффициенты корреляции получены для размерного класса 10–20 мкм, сумм отдельных фракций и общей биомассы водорослей с размером клеток менее 40 мкм. По данным Л. М. Сущени [7], максимальный размер потребляемого фитопланктона для *D. cucullata* составляет 30–40 мкм.

Для босмины статистически достоверная зависимость между рождаемостью и размерными фракциями фитопланктона отмечена для 5–10 мкм, сумм отдельных фракций и биомассы водорослей менее 40 мкм. Согласно данным W. R. DeMott [8], босмина более эффективно фильтрует как крупные, так и мелкие частицы по сравнению с дафнией.

Корреляционная связь величин рождаемости и размерной фракции фитопланктона более 40 мкм как для дафнии, так и босмины оказалась статистически недостоверной.

Доминирующие виды фитопланктона в оз. Дрисвяты с размером клеток до 30 мкм, в частности *Cryptomonas*, являются хорошим источником пищи для кладоцер [9].

Заключение. Полученные данные позволяют предполагать, что наиболее важным источником пищи, который и определяет динамику рождаемости и, соответственно, популяционных показателей изученных видов кладоцер, является размерная фракция фитопланктона, находящаяся в пределах от 5 до 20 мкм. Оценка трофических условий по общей биомассе фитопланктона или сестона не отражает пищевую обеспеченность кладоцерного зоопланктона и их воздействие на динамику численности популяций.

Список использованных источников

1. Schindler, D. W. Feeding, assimilation and respiration rate of *Daphnia magna* under various environmental conditions and their relation to production estimates / D. W. Schindler // J. Anim. Ecol. – 1968. – Vol. 37, N 2. – P. 369–385. <https://doi.org/10.2307/2954>
2. Павлютин, А. П. Рацион и усвояемость пищи *Daphnia magna* при питании детритом / А. П. Павлютин, А. П. Остапеня // Инф. бюлл. ИБВВ АН СССР. – 1976. – № 29. – С. 41–44.
3. Gulati, R. D. Zooplankton structure and grazing activities in relation to food quality and concentration in Dutch lakes / R. D. Gulati, K. Siewertsen, G. Postema // Archiv für Hydrobiologie Beihefte. – 1985. – Vol. 21. – P. 91–102.
4. Effects of climate variability on cladoceran zooplankton and cyanobacteria in a shallow subtropical lake / K. E. Havens [et al.] // Plankton Res. – 2016. – Vol. 38, N 3. – P. 418–430. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbw009>
5. Дифференцированное влияние качества сестона (содержания С, N, P и полиненасыщенных жирных кислот) на скорость соматического и генеративного роста *Daphnia* / А. П. Толмеев [и др.] // Сиб. эколог. журн. – 2012. – Т. 19, № 4. – С. 607–618.

6. Разлуцкий, В. И. Временная задержка в реакции воспроизводства Cladocera на изменение трофических условий / В. И. Разлуцкий // Докл. Акад. наук Беларуси. – 1995. – Т. 39, № 1. – С. 77–80.
7. Сушеня, Л. М. Количественные закономерности питания ракообразных / Л. М. Сушеня. – Минск, 1975. – 206 с.
8. DeMott, W. R. Feeding selectivities and relative ingestion rates of *Daphnia* and *Bosmina* / W. R. DeMott // *Limnol. Oceanogr.* – 1982. – Vol. 27, N 3. – P. 518–527.
9. Selective grazing on *Cryptomonas* by *Ceriodaphnia quadrangula* fed a natural phytoplankton assemblage / M. I. Gladyshev [et al.] // *Aquatic Ecology*. – 1999. – Vol. 33, N 4. – P. 347–353. <https://doi.org/10.1023/a:1009916209394>

References

1. Schindler D. W. Feeding, assimilation and respiration rate of *Daphnia magna* under various environmental conditions and their relation to production estimates. *Journal of Animal Ecology*, 1968, vol. 37, no. 2, pp. 369–385. <https://doi.org/10.2307/2954>
2. Pavlutin A. P., Ostapenya A. P. Diet and food assimilation in *Daphnia magna* under detrit consumption. *Informatsionnyi byulleten' Instituta biologii vnutrennikh vod AN SSSR* [Newsletter Institute of Biology Inland Water], 1976, vol. 29, pp. 41–44 (in Russian).
3. Gulati R. D., Siewertsen K., Postema G. Zooplankton structure and grazing activities in relation to food quality and concentration in Dutch lakes. *Archiv für Hydrobiologie Beihefte*, 1985, vol. 21, pp. 91–102.
4. Havens K. E., Fulton R. S., Beaver J. R., Samples E. E., Colee J. Effects of climate variability on cladoceran zooplankton and cyanobacteria in a shallow subtropical lake. *Plankton Research*, 2016, vol. 38, no. 3, pp. 418–430. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbw009>
5. Tolomeev A. P., Dubovskaya O. P., Sushchik N. N., Makhutova O. N., Kalacheva G. S. Differentiated influence of quality of seston (content OF C, N, P, and polyunsaturated fatty acids) on rate of somatic and generative growth of *Daphnia*. *Contemporary Problems of Ecology*, 2012, vol. 5, no. 4, pp. 450–458.
6. Razlutski V. I. Time lag in reaction of reproduction Cladocera on changing trophic condition. *Doklady Akademii nauk Belarusi = Doklady of the Academy of Sciences of Belarus*, 1995, vol. 39, no. 1, pp. 77–80 (in Russian).
7. Suschenya L. M. *Quantitative patterns of feeding in crustaceans*. Minsk, 1975. 206 p. (in Russian).
8. DeMott W. R. Feeding selectivities and relative ingestion rates of *Daphnia* and *Bosmina*. *Limnology and Oceanography*, 1982, vol. 27, no. 3, pp. 518–527.
9. Gladyshev M. I., Temerova T. A., Dubovskaya O. P., Kolmakov V. I., Ivanova E. A. Selective grazing on *Cryptomonas* by *Ceriodaphnia quadrangula* fed a natural phytoplankton assemblage. *Aquatic Ecology*, 1999, vol. 33, no. 4, pp. 347–353. <https://doi.org/10.1023/a:1009916209394>

Информация об авторе

Семенченко Виталий Павлович – член-корреспондент, д-р биол. наук, заведующий лабораторией. НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: semenchenko57@mail.ru.

Information about the author

Semenchenko Vitaliy P. – Corresponding Member, D. Sc. (Biology), Head of the Laboratory. Scientific and Practical Centre for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: semenchenko57@mail.ru.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 58.04; 58.084.1

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-199-205>

Поступило в редакцию 25.02.2022

Received 25.02.2022

Академик Н. А. Ламан¹, К. Р. Кем¹, В. И. Аникеев²,
член-корреспондент В. Н. Жабинский², Н. Б. Хрипач²

¹Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА РАСТЕНИЯ В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА

Аннотация. Исследована зависимость протекторного действия brassinosteroidов (БС) в широком диапазоне концентраций на рост корневой системы проростков льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) и ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в условиях солевого стресса. Выявлены узкие диапазоны концентраций БС ($6,9 \cdot 10^{-7}$ – $5,9 \cdot 10^{-8}$ М для льна-долгунца и $2,8 \cdot 10^{-7}$ – $2,4 \cdot 10^{-8}$ М для ярового ячменя), в которых они вызывают ослабление ингибирующего эффекта засоления на корневую систему проростков. Отмечено практически полное совпадение диапазонов концентраций БС, в которых наблюдалось максимальное стресс-протекторное действие фитогормонов для обеих культур. В опыте с озимой пшеницей (*Triticum aestivum* L.), длившемся 19 суток, уже на 6-е сутки, до помещения растений в стрессовые условия, было отмечено удлинение проростков, обработанных экзогенными brassinosteroidами, а к концу эксперимента (в фазу развертывания второго листа) все brassinosteroidы показали выраженный защитно-стимулирующий эффект в условиях засоления, зависящий от химической структуры гормона и изменяющийся в ряду brassinolide > homobrassinolide > homocastasterone > epibrassinolide.

Ключевые слова: ячмень, озимая пшеница, лен-долгунец, засоление, солевой стресс, brassinosteroidы, brassinolide, epibrassinolide, homobrassinolide, homocastasterone, инкрустация, ингибирование

Для цитирования. Особенности действия brassinosteroidов на растения в условиях солевого стресса / Н. А. Ламан [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 199–205. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-199-205>

Academician Nikolai A. Laman¹, Karina R. Kem¹, Vladimir I. Anikeev²,
Corresponding Member Vladimir N. Zhabinskii², Natalia B. Khripach²

¹V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Science of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

FEATURES OF THE BRASSINOSTEROID EFFECT ON PLANTS UNDER SALT STRESS

Abstract. The dependence of the protective effect of brassinosteroids (BS) in a wide range of concentrations on the growth of the root system of fiber flax (*Linum usitatissimum* L.) and spring barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings under salt stress was studied. A narrow range of BS concentrations was revealed, in which they cause a weakening of the inhibitory effect of salinity on the root system of seedlings. An almost complete coincidence of the BS concentration ranges was noted, in which the maximum stress-protective effect of phytohormones was observed for the both crops ($6,9 \cdot 10^{-7}$ – $5,9 \cdot 10^{-8}$ M for fiber flax and $2,8 \cdot 10^{-7}$ – $2,4 \cdot 10^{-8}$ M for spring barley). In the experiment with winter wheat (*Triticum aestivum* L.), which lasted 19 days, already on the 6th day before the seedlings were placed under stress conditions, the elongation of the seedlings treated with exogenous brassinosteroids was noted. By the end of the experiment (in the second leaf unfolding phase), all brassinosteroids showed a pronounced protective-stimulating effect under the salinity conditions that depended on the chemical structure of the hormone and changed in the brassinolide > homobrassinolide > homocastasterone > epibrassinolide series.

Keywords: barley, winter wheat, fiber flax, salinization, salt stress, brassinosteroids, brassinolide, epibrassinolide, homobrassinolide, homocastasterone, incrustation, inhibition

For citation. Laman N. A., Kem K. R., Anikeev V. I., Zhabinskii V. N., Khripach N. B. Features of the brassinosteroid effect on plants under salt stress. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 199–205 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-199-205>

Введение. Стероидные гормоны растений (brassinosteroidы, БС) хорошо известны как антистрессовые агенты, способные существенно ослаблять в растениях негативные эффекты всех видов абиотического и биотического стрессов (температурного, солевого, водного, фито-

патогенного и др.) [1–3]. Это свойство brassinостероидов является весьма универсальным и настолько ярко выражено в сравнении с другими характеристиками (в том числе принятыми в качестве критериев оценки биологической активности БС), что по праву может выступать в роли отличительного признака физиологической активности этой группы фитогормонов.

Несмотря на большое число работ по изучению brassinостероидов, опубликованных в последние два десятилетия [4–6], которые вносят значительный вклад в развитие представлений об этой исключительно важной группе природных биорегуляторов и частично раскрывают механизм их функционирования, многие вопросы, относящиеся к фундаментальным аспектам физиологической активности БС, до настоящего времени остаются без ответа. В их числе – труднопредсказуемый характер дозозависимости биоэффекта, включая возможное проявление разнонаправленности действия (стимуляция/угнетение) в зависимости от условий. Последнее было нами недавно показано с использованием новой чувствительной модели воздействия эпибрасинолида на рост растений в тщательно градуированном диапазоне концентраций в условиях ранее неизученного гербицидного стресса [7; 8].

В связи с нарастающим техногенным загрязнением природной среды и расширением засоленных территорий большой научный и практический интерес вызывает способность brassinостероидов ослаблять негативное влияние солей на растения. Избыточное поступление соли крайне неблагоприятно влияет на рост и развитие растений, приводя к масштабным нарушениям физиологических процессов, клеточного метаболизма, защитных и транспортных функций мембран, и в результате формирует у растений состояние солевого стресса, являясь причиной снижения их продуктивности [9]. Поскольку существующие методы очистки почв от загрязнителей затратны и малоэффективны, в качестве одного из путей решения проблемы использования засоленных почв в интересах растениеводства рассматривается возможность, связанная с разработкой приемов повышения солеустойчивости и адаптируемости растений к неблагоприятным условиям.

Известно, что значительную роль в определении статуса адаптивности играют фитогормоны, среди которых исключительное место, сравнимое с положением дирижера, в гормональном оркестре принадлежит brassinостероидам. Очевидно, по этой причине изучению адаптогенного действия фитогормонов этой группы, в частности в условиях солевого стресса, уделяли внимание многие ученые, начиная с самых ранних этапов исследований [10–12].

Несмотря на пристальное внимание к предмету и большое число публикаций в этой области, как было отмечено выше, практически отсутствуют работы, которые могут дать ответ на вопрос о тонкой настройке физиологической реакции растений на концентрацию гормона, а также о широте практически значимого диапазона активных доз. Такое знание не только позволит лучше понять природу и механизм защитного действия стероидных гормонов растений, но и даст возможность оптимизировать способы их практического применения, основанные сегодня на чисто эмпирическом выборе активных доз, что не всегда приводит к желаемому результату.

В настоящей работе предпринята попытка детального изучения концентрационной зависимости протекторного эффекта brassinостероидов в условиях солевого стресса и возможности использования полученных данных для создания специфического биотеста для этих фитогормонов.

Материалы и методы исследования. *Опыт № 1.* Объектами исследования были семена и проростки льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) сорта Грант, ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Мустанг и озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Каравай.

В работе использованы субстанции brassinостероидов производства Института биоорганической химии НАН Беларуси. Для получения набора экспериментальных концентраций типичного высокоактивного представителя БС – 24-эпибрасинолида, использовали водный раствор субстанции фитогормона. Его разбавление однопроцентным водным раствором пленкообразователя Гисинар (сополимер акриламида с акрилатом натрия) с пошаговым изменением концентрации в 1,25 раза привело к получению 40 вариантов рабочего раствора brassinостероида в диапазоне концентраций 10^{-5} – $1,7 \cdot 10^{-9}$ М. Полученные рабочие растворы в количестве 20 мкл на 1 г семян применяли при их инкрустации. Для каждой из культур наряду с вариантами

растений, обработанных брассиностероидом и выращенных в условиях солевого стресса (три повторности), также включали два контроля в четырехкратной повторности – контроль-1 (инкрустирован 1 %-ным р-ром Гисинара и выращен на воде без соли) и контроль-2 (инкрустирован 1 %-ным р-ром Гисинара и выращен в 0,5 %-ном растворе соли). В качестве модели солевого стресса использовали 0,5 %-ный раствор хлористого натрия, в который помещали опытные растения.

Семена проращивали в бумажных рулонах по методике [13] с модификацией [14]. Каждый рулон включал 20 семян исследуемой культуры. Продолжительность эксперимента составляла 9 суток.

Для определения биометрических показателей брали по 15 проростков из каждого варианта и по 30 проростков из контроля. Статистическая обработка проводилась с помощью стандартного пакета Excel. В качестве критерия для оценки антистрессовой активности фитогормона в каждой из исследуемых концентраций были выбраны параметры развития корневой системы у проростков 9-дневного возраста, выращенных в условиях солевого стресса из семян, которые были предварительно обработаны составом, содержащим активный брассиностероидный ингредиент. Как было показано нами ранее, аналогичный опыт, выполненный без наложения стресса, не позволяет обнаружить значимых изменений под действием брассиностероидов в показателях развития корневой системы проростков, в то время как в стрессовых условиях именно она является наиболее отзывчивой частью растения [7].

Опыт № 2. В качестве тест-объекта использовали озимую пшеницу (*Triticum aestivum* L.) сорта Каравай, которая обнаружила хорошую отзывчивость на воздействие экзогенных гормонов в концентрации 10^{-8} М. Избранная экспериментальная модель несколько отличалась от предыдущей в сторону ужесточения стрессовых условий в расчете на обнаружение максимально выраженных отличий опытных растений от необработанного гормонами контроля.

Как и в предыдущем случае, семена проращивали в бумажных рулонах. Предварительно их замачивали в течение трех часов в растворах БС или в воде (контроль). В качестве экспериментальных использовали водные растворы следующих брассиностероидов: гомобрассинолида (ГБ) – 10^{-8} М, эпибрассинолида (ЭБ) – 10^{-8} М, брассинолида (Б) – 10^{-8} М, гомокастастерона (ГКС) – 10^{-8} М. Контролем служила водопроводная вода (К). Стаканы с рулонами помещали в термостат, где в темноте при температуре 20 °С производилось проращивание. Спустя 3 суток учитывали энергию прорастания, удаляли непроросшие зерновки и на 5-е сутки растения выставили на свет. Дальнейшее выращивание производили при комнатной температуре на свету с естественной чередуемостью дня и ночи. На 6-е сутки рулоны с проростками поставили в 0,5 М (3 %) водный раствор хлористого натрия. Через 13 суток рулоны развернули, промыли растения на подложке водой и поставили в питательный раствор Кнопа до конца эксперимента (19 суток). Измеряли длину проростка (первый лист) на 6-е сутки до воздействия стресса и далее регулярно в условиях солевого стресса до конца эксперимента. Начиная с 9-х суток и до конца эксперимента, измеряли также длину второго листа.

Результаты и их обсуждение. Результаты эксперимента показали, что достоверное защитное действие эпибрассинолида на растения, выражающееся в частичном снятии ингибирующего влияния соли на развитие корневой системы, наблюдается в сравнительно узком диапазоне значений концентрации гормона. В случае льна-долгунца сорта Грант он составляет $6,9 \cdot 10^{-7}$ – $5,9 \cdot 10^{-8}$ М (рис. 1). Другие экспериментальные концентрации исследованного диапазона, выходящие за пределы указанной области, оказались неэффективными с точки зрения защиты от солевого стресса.

Подобная ситуация с небольшими отличиями наблюдалась при использовании в качестве модельного организма проростков ярового ячменя сорта Мустанг. В этом случае частичное снятие ингибирующего эффекта соли на растение также было отмечено в относительно узком диапазоне значений концентрации гормона: $2,8 \cdot 10^{-7}$ – $2,4 \cdot 10^{-8}$ М (рис. 2).

Обращает на себя внимание практически полное совпадение диапазонов концентраций фитогормона, для которых у двух различных культур – льна-долгунца и ярового ячменя, в условиях солевого стресса наблюдается максимальный физиологический отклик. Не менее интересен

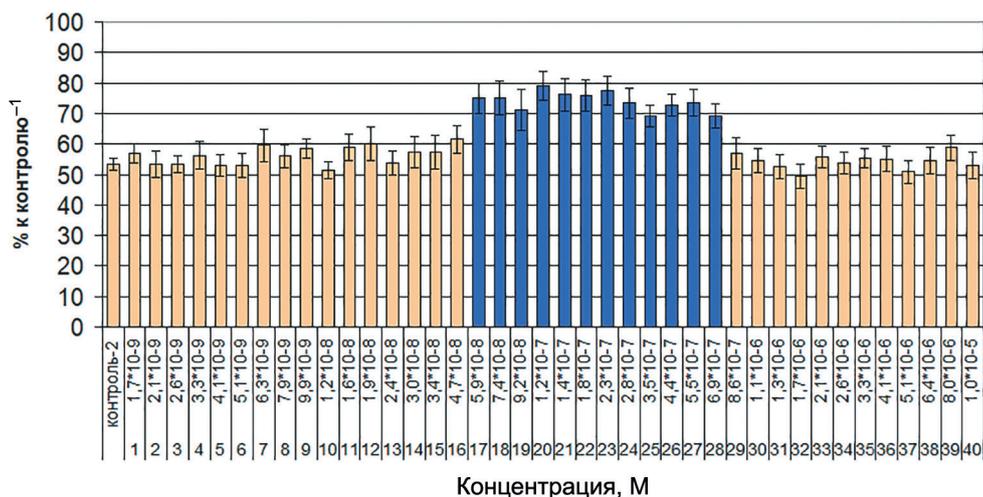


Рис. 1. Зависимость длины корня проростков льна-долгунца сорта Грант от концентрации эпибрасинолида при солевом стрессе (NaCl 0,5 %)

Fig. 1. The dependence of the root length of fiber flax seedlings of the variety Grant on the concentration of epibrassinolide under salt stress (NaCl 0.5 %)

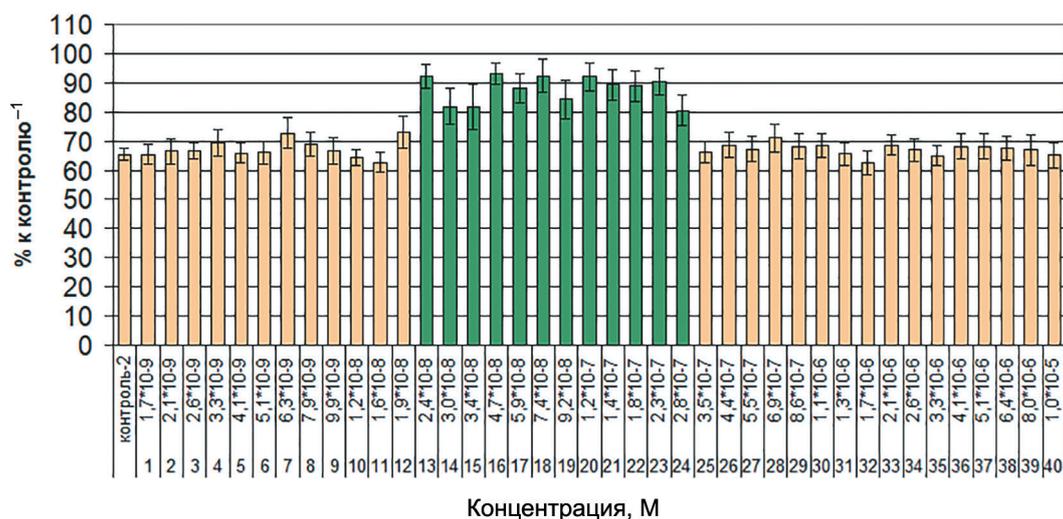


Рис. 2. Зависимость длины корня проростков ярового ячменя сорта Мустанг от концентрации эпибрасинолида при солевом стрессе (NaCl 0,5 %)

Fig. 2. The dependence of the root length of spring barley seedlings of the variety Mustang on the concentration of epibrassinolide under salt stress (NaCl 0.5 %)

также факт близости соответствующих значений концентраций в эксперименте с этими же культурами, но в условиях гербицидного стресса, изученного нами ранее: лен-долгунец – $6,9 \cdot 10^{-7}$ – $9,2 \cdot 10^{-8}$ М, ячмень – $2,8 \cdot 10^{-7}$ – $3,4 \cdot 10^{-8}$ М [7]. Интересно, что полученные нами близкие результаты определения диапазона активных концентраций гормона для различных культур коррелируют с известными из литературы случайным образом найденными эффективными дозами этого же гормона в других экспериментальных моделях. Например, в [15] с проростками рапса показано, что максимальный эффект в отношении корневой системы при засолении эпибрасинолид проявлял в концентрации 10^{-8} М. Можно предположить, что такое сходство эффективных концентраций связано с участием в гормональном сигналинге ионных каналов клеточных мембран, которые реагируют на действие гормона только в ограниченном узком диапазоне значений концентрации.

Обнаруженный факт заметного ослабления повреждающего действия соли на растение в присутствии экзогенного эпибрасинолида в определенной концентрации послужил основанием для постановки эксперимента по изучению влияния различных брасиностероидов в условиях жесткого солевого стресса. При этом мы полагали, что возможные различия эффектов гормонов могут быть использованы для создания тест-системы, характеризующей специфические (анти-стрессовые) свойства представителей ряда брасиностероидов.

В эксперименте с озимой пшеницей измерение длины проростка до воздействия стресса (6-е сутки) показало незначительное улучшение показателей развития экспериментальных растений по сравнению с контролем. Так, удлинение проростков, подвергнутых предварительной обработке экзогенными гормонами, составило (% к контролю): ГБ – 7,4, ЭБ – 8,4, Б – 8,4, ГКС – 12,6. Темпы роста в солевом растворе несколько снизились у всех опытных образцов за исключением варианта с гомобрасинолидом, но в целом этот показатель был недостаточно информативен. На 9–12-й день, т. е. до окончания периода действия соли, у растений появился второй лист. Развитие второго листа оказалось весьма чувствительным к обработке брасиностероидами, что нашло отражение в показателях его длины. Для развивающихся растений на 16-й день они составили (% к контролю): ГБ – 270, ЭБ – 150, Б – 340, ГКС – 200. При этом необходимо отметить, что к 19-м суткам наблюдения примененные условия жесткого солевого стресса привели к гибели 46 % контрольных растений, в то время как у 100 % экспериментальных растений рост продолжился.

Заключение. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что защитное действие на растения экзогенного стероидного фитогормона эпибрасинолида, приводящее к ослаблению ингибирующего действия стресса на рост корневой системы, проявляется в сравнительно узком диапазоне концентраций – от $6,9 \cdot 10^{-7}$ до $9,2 \cdot 10^{-8}$ М для льна-долгунца и от $2,8 \cdot 10^{-7}$ до $3,4 \cdot 10^{-8}$ М для ярового ячменя (в условиях мягкого солевого стресса). Также выявлено, что и другие БС, различающиеся по химической структуре, проявляют в условиях жесткого солевого стресса высокую антистрессовую активность в концентрации, близкой к 10^{-8} М. Полученные сведения могут быть использованы для совершенствования технологии практического применения брасиностероидов, а также при разработке методов эффективного тестирования специфической биоактивности у гормонов этого ряда и их производных.

Список использованных источников

1. Khripach, V. A. *Brassinosteroids – A New Class of Plant Hormones* / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, Ae. De Groot. – Academic Press, 1999. – 456 p. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-406360-0.x5000-x>
2. *Brassinosteroids: multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses* / T. M. Nolan [et al.] // *Plant Cell*. – 2020. – Vol. 32, N 2. – P. 295–318. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00335>
3. *The physiological and molecular mechanism of brassinosteroid in response to stress: a review* / A. Anwar [et al.] // *Biological Research*. – 2018. – Vol. 51, N 1. – Art. 46. <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0195-2>
4. *Ability of lactone- and ketone-containing brassinosteroids to induce priming in rapeseed plants to salt stress* / L. V. Komeichuk [et al.] // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2021. – Vol. 68, N 3. – P. 499–509. <https://doi.org/10.1134/s1021443721020084>
5. Nolan, T. *Cross-talk of brassinosteroid signaling in controlling growth and stress responses* / T. Nolan, J. Chen, Y. Yin // *Biochemical Journal*. – 2017. – Vol. 474, N 16. – P. 2641–2661. <https://doi.org/10.1042/bcj20160633>
6. *Understanding brassinosteroid-regulated mechanisms to improve stress tolerance in plants: a critical review* / F. Nawaz [et al.] // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2017. – Vol. 24, N 19. – P. 15959–15975. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9163-6>
7. *Влияние инкрустации семян смесями N-фосфонометилглицина и эпибрасинолида на рост растений* / Н. А. Ламан [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2016. – Т. 60, № 6. – С. 84–90.
8. Ламан, Н. А. *Ростовые реакции проростков отдельных видов и сортов сельскохозяйственных растений на обработку семян глифосатом (N-фосфонометилглицином)* / Н. А. Ламан, К. Р. Кем, А. Ф. Судник // *Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. біял. навук*. – 2016. – № 4. – С. 7–13.
9. Hasanuzzaman, M. *Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages* / M. Hasanuzzaman, K. Nahar, M. Fujita // *Ecophysiology and Responses of Plants Under Salt Stress*. – New York, 2013. – P. 25–87. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4747-4_2

10. Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell ultrastructure under stress conditions / O. N. Kulaeva [et al.] // ACS Symposium Series. – 1999. – Vol. 474 (Brassinosteroids). – P. 141–155. <https://doi.org/10.1021/bk-1991-0474.ch012>
11. Role of nitric oxide in hydrogen peroxide-dependent induction of abiotic stress tolerance by brassinosteroids in cucumber / J.-X. Cui [et al.] // Plant, Cell and Environment. – 2011. – Vol. 34, N 2. – P. 347–358. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02248.x>
12. Влияние лактон- и кетонсодержащих брассиностероидов на фотосинтетическую активность листьев ячменя при старении / И. С. Ковтун [и др.] // Физиология растений. – 2021. – Т. 68, № 3. – С. 268–278.
13. Laman, N. A. The sprouting of small, flat and long germinating seeds by roll method using a synthetic ventilation grid / N. A. Laman, S. I. Budai, O. E. Barnatovich // Proceedings of the Academy Agrarian Sciences of Republic of Belarus. – 2000. – Vol. 4. – P. 57–61.
14. Особенности действия брассиностероидов в составе инсекто-фунгицидных композиций на рост проростков рапса (*Brassica napus* L.) в условиях низкотемпературного стресса / А. Ф. Судник [и др.] // Ботаника (исследования). – Минск, 2011. – Вып. 40. – С. 560–574.
15. Альмиклафи, Ж. А. К. Х. Исследование стресс-протекторного действия брассиностероидов на растения рапса: дис. ... канд. биол. наук / Ж. А. К. Х. Альмиклафи. – М., 2014. – 108 с.

References

1. Khripach V. A., Zhabinskii, V. N., De Groot Ae. *Brassinosteroids – A New Class of Plant Hormones*. Academic Press, 1999. 456 p. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-406360-0.x5000-x>
2. Nolan T. M., Vukasinovic N., Liu D., Russinova E., Yin Y. Brassinosteroids: multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. *Plant Cell*, 2020, vol. 32, no. 2, pp. 295–318. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00335>
3. Anwar A., Liu Y., Dong R., Bai L., Yu X., Li Y. The physiological and molecular mechanism of brassinosteroid in response to stress: a review. *Biological Research*, 2018, vol. 51, no. 1, art. 46. <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0195-2>
4. Kolomeichuk L. V., Danilova E. D., Khripach V. A., Zhabinskyi V. N., Kuznetsov V. V., Efimova M. V. Ability of lactone- and ketone-containing brassinosteroids to induce priming in rapeseed plants to salt stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2021, vol. 68, no. 3, pp. 499–509. <https://doi.org/10.1134/s1021443721020084>
5. Nolan T., Chen J., Yin Y. Cross-talk of brassinosteroid signaling in controlling growth and stress responses. *Biochemical Journal*, 2017, vol. 474, no. 16, pp. 2641–2661. <https://doi.org/10.1042/bcj20160633>
6. Nawaz F., Naeem M., Zulfiqar B., Akram A., Ashraf M. Y., Raheel M., Shabbir R. N., Hussain R. A., Anwar I., Aurangzaib M. Understanding brassinosteroid-regulated mechanisms to improve stress tolerance in plants: a critical review. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, vol. 24, no. 19, pp. 15959–15975. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9163-6>
7. Laman N. A., Kem K. R., Khripach V. A., Sudnik A. F. Influence of seeds incrustation by N-phosphonomethylglycine and epibrassinolide mixtures on the plant growth. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 6, pp. 84–90 (in Russian).
8. Laman N. A., Kem K. R., Sudnik A. F. Growth responses of seedlings of certain species and varieties of agricultural plants for seeds incrustation by glyphosate (N-phosphonomethylglycine). *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2016, no. 4, pp. 7–13 (in Russian).
9. Hasanuzzaman M., Nahar K., Fujita M. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. *Ecophysiology and Responses of Plants Under Salt Stress*. New York, 2013, pp. 25–87. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4747-4_2
10. Kulaeva O. N., Burkhanova E. A., Fedina A. B., Khokhlova V. A., Bokebayeva G. A., Vorbrodt H. M., Adam G. Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell ultrastructure under stress conditions. *ACS Symposium Series*, 1991, no. 474 (Brassinosteroids), pp. 141–155. <https://doi.org/10.1021/bk-1991-0474.ch012>
11. Cui J.-X., Zhou Y.-H., Ding J.-G., Xia X.-J., Shi K., Chen S.-C., Asami T., Chen Z., Yu J.-Q. Role of nitric oxide in hydrogen peroxide-dependent induction of abiotic stress tolerance by brassinosteroids in cucumber. *Plant, Cell and Environment*, 2011, vol. 34, no. 2, pp. 347–358. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02248.x>
12. Kovtun I. S., Kukharensko N. E., Kusnetsov V. V., Khripach V. A., Efimova M. V. Effect of lactone- and ketone-containing brassinosteroids on photosynthetic activity of barley leaves during aging. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2021, vol. 68, no. 3, pp. 440–450. <https://doi.org/10.1134/s1021443721030080>
13. Laman N. A., Budai S. I., Barnatovich O. E. The sprouting of small, flat and long germinating seeds by roll method using a synthetic ventilation grid. *Izvestiya Akademii agrarnykh nauk Respubliki Belarus = Proceedings of the Academy Agrarian Sciences of Republic of Belarus*, 2000, no. 4, pp. 57–61 (in Russian).
14. Sudnik A. F., Laman N. A., Doroshchuk O. V., Kukanego L. B. Features of the action of brassinosteroids in the composition of insecto-fungicidal compositions on the growth of seedlings of rapeseed (*Brassica napus* L.) under conditions of low-temperature stress. *Botanika (issledovaniya) = Botany (research)*. Minsk, 2011, vol. 40, pp. 560–574 (in Russian).
15. Almiklafi Zh. A. K. Kh. *Study of the stress-protective effect of brassinosteroids on rapeseed plants*. Moscow, 2014. 108 p. (in Russian).

Информация об авторах

Ламан Николай Афанасьевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nikolai.laman@gmail.com.

Кем Карина Робертовна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kem-666@mail.ru.

Аникеев Владимир Иванович – ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vz@iboch.by.

Жабинский Владимир Николаевич – член-корреспондент, д-р хим. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vz@iboch.by.

Хрипач Наталья Борисовна – канд. хим. наук, вед. специалист. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nkhrpach@iboch.by.

Information about the authors

Laman Nikolai A. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikolai.laman@gmail.com.

Kem Karina R. – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kem-666@mail.ru.

Anikeev Vladimir I. – Senior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vz@iboch.by.

Zhabinskii Vladimir N. – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Assistant Professor, Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vz@iboch.by.

Khripach Natalia B. – Ph. D. (Chemistry), Leading Specialist. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nkhrpach@iboch.by.

МЕДИЦИНА**MEDICINE**

УДК 616.127-005.4-005.8-092.9:547.472.3:546.172.6
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-206-216>

Поступило в редакцию 11.02.2022
Received 11.02.2022

Член-корреспондент Ф. И. Висмонт¹, С. Н. Чепелев¹, член-корреспондент С. В. Губкин²

¹*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

²*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

**ОБ УЧАСТИИ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ РЕАЛИЗАЦИИ
ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ
С ПОМОЩЬЮ ЛАКТАТА ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА
У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС**

Аннотация. Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности и инвалидизации населения в экономически развитых странах мира. Принимая во внимание высокую медицинскую, социальную и экономическую значимость проблемы лечения пациентов с ишемической болезнью сердца и острым инфарктом миокарда, поиск новых эффективных методов предупреждения или ослабления неблагоприятных последствий ишемического и реперфузионного повреждения миокарда и выяснение механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины. Целью исследования было выяснить участие монооксида азота (NO) в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта посткондиционирования (ПостК) с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс. В результате проведенного исследования установлено, что ПостК с помощью лактата (10 мг/кг), осуществляемое на 25-й минуте реперфузии миокарда после 30-минутной острой коронароокклюзии оказывает инфаркт-лимитирующий эффект как у молодых, так и у старых крыс. Однако в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина в дозе 25 мг/кг (внутривенное введение за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до ПостК) кардиопротекторный эффект ПостК с помощью лактата сохранялся у молодых крыс только частично. Инфаркт-лимитирующий эффект ПостК с помощью лактата у старых крыс сохранялся полностью. Полученные данные дают основание полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO в крови имеют значимость в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата у молодых, но не у старых крыс.

Ключевые слова: посткондиционирование миокарда, лактат, монооксид азота, инфаркт-лимитирующий эффект, кардиопротекция, ишемия, реперфузия, зона риска, зона некроза, пожилой возраст

Для цитирования. Висмонт, Ф. И. Об участии монооксида азота в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта посткондиционирования с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, С. В. Губкин // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 206–216. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-206-216>

Corresponding Member Frantishek I. Vismont¹, Sergey N. Chepelev¹, Corresponding Member Sergey V. Goubkin²

¹*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

²*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**NITROGEN MONOXIDE PARTICIPATION IN THE MECHANISMS OF REALIZATION
OF THE INFARCTION-LIMITING EFFECT OF POST-CONDITIONING USING LACTATE DURING
MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION IN YOUNG AND OLD RATS**

Abstract. Cardiovascular diseases are the main cause of death and disability in the economically developed countries of the world. Taking into account the high medical, social, and economic importance of the problem of treating patients with coronary heart disease and acute myocardial infarction, the search for new effective methods how to prevent or weaken the

unfavorable effects of ischemic and reperfusion myocardial injury and to find out the mechanisms of their implementation is an urgent task of modern experimental and clinical medicine. The aim of the study was to elucidate the participation of nitric oxide (NO) in the mechanisms of realization of the infarct-limiting effect of post-conditioning (PostC) with lactate during myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. According to the study results, it was found that PostC with lactate (10 mg/kg), carried out at the 25th minute of myocardial reperfusion after 30-minute acute coronary occlusion, has an infarction-limiting effect in both young and old rats. However, in the animals under the conditions of systemic action of an inhibitor of NO-synthase of N^G-nitro-L-arginine methyl ester at a dose of 25 mg/kg (intravenous administration 5 minutes before the start of reperfusion and 30 minutes before PostC), the cardioprotective effect of PostC with lactate was preserved only partially in young rats. The infarction-limiting effect of PostC with lactate was fully preserved in old rats. The data obtained suggest that the activity of NO-synthase and the NO level in the blood are significant in the mechanisms of implementation of the infarct-limiting effect of PostC with lactate in young, but not in old rats.

Keywords: myocardial postconditioning, lactate, nitric monoxide, infarction-limiting effect, cardioprotection, ischemia, reperfusion, area at risk, zone of infarction, elderly age

For citation. Vismont F. I., Chepelev S. N., Goubkin S. V. Nitrogen monoxide participation in the mechanisms of realization of the infarction-limiting effect of post-conditioning using lactate during myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 206–216 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-206-216>

Введение. Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). В настоящее время ССЗ занимают первое место среди причин смертности населения в развитых странах мира. Самым распространенным ССЗ и основной причиной смертности является ишемическая болезнь сердца (ИБС). Одним из опаснейших осложнений данного заболевания является развитие инфаркта миокарда (ИМ), в основе которого лежит ишемическое и реперфузионное повреждение сердца. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с ИМ, ИБС представляет собой не только значимую медицинскую, но и важную государственную проблему. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического и реперфузионного повреждения миокарда и выяснение механизмов их реализации остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины.

Особое значение в процессах повреждения миокарда при его ишемии-реперфузии, а собственно, при ИБС, имеет реперфузия. Она может привести к парадоксальной дисфункции кардиомиоцитов, известной как ишемически-реперфузионное повреждение. Для улучшения результатов ранней реперфузии разработаны два основных способа кардиопротекции: ишемическое посткондиционирование (ПостК) и фармакологическое ПостК [1].

В последние десятилетия объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (инфаркт-лимитирующий и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- и ПостК, которые воспроизводятся кратковременной ишемией конечностей, осуществляемой до или после острой коронароокклюзии соответственно [1–3].

Так как для эффективного применения любого варианта преко́ндиционирования как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда, а это практически невозможно, то мощный кардиопротекторный потенциал преко́ндиционирования, как правило, клинически не используется. В то же время ишемическое ПостК, особенно дистантное ишемическое посткондиционирование (ДИПостК), имеющее несомненное преимущество перед различными вариантами преко́ндиционирования, может быть успешно применено в клинической практике наряду с другими рекомендациями. Во-первых, это чрезвычайно безопасно и дешево, а также малоинвазивно; во-вторых, его можно применять при оказании скорой медицинской помощи и ко всем пациентам с ишемией миокарда, получающим реперфузионную терапию.

Впервые ишемическое ПостК было описано Z.-Q. Zhao с соавт. в 2003 г., которые в своей работе на собаках показали, что в раннем реперфузионном периоде ишемическое ПостК, состоящее из трех коротких прерывистых циклов ишемии по 30 с, чередующихся с реперфузией, после длительной ишемии миокарда улучшает эндотелиальную функцию и уменьшает размер зоны инфаркта [4].

Несколько позже М. Basalay с соавт. в 2012 г. продемонстрировали в экспериментах на крысах, что кратковременная (15-минутная) ишемия задних конечностей оказывает выраженное инфаркт-лимитирующее действие на миокард не только в первые минуты реперфузии, но и при ее осуществлении на 10-й минуте после восстановления коронарного кровотока [5]. В последующие годы целым рядом экспериментальных и клинических исследований было показано, что ДИПостК является эффективным методом снижения реперфузионного повреждения [1–3], однако широкого применения в клинике оно не нашло из-за противоречивых данных эффективности в клинических условиях в связи с влиянием множества факторов риска, проводимой терапии и другими особенностями организма [3].

Необходимо констатировать, что эффективные методы профилактики реперфузионных повреждений миокарда пока не разработаны, а клинические исследования в этой сфере носят немногочисленный характер. Одним из наиболее перспективных направлений в профилактике вышеуказанных повреждений считается фармакологическая защита миокарда с использованием различных фармакологических агентов, в основе которых лежат феномены фармакологического пре- и ПостК сердца [6].

К настоящему времени накоплен достаточно большой объем знаний о феномене ишемического кондиционирования и его защитном влиянии на миокард. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта ишемического кондиционирования и, особенно, ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда, все еще остаются малоизученными.

Принимая во внимание известные факты о том, что гипоперфузия, ишемия органов и тканей приводит к повышению уровня молочной кислоты (лактата) в крови, а лактат, в свою очередь, оказывает коронарное сосудорасширяющее действие за счет выделения эндотелием сосудов монооксида азота (NO) [7], а также способен ингибировать перекисное окисление липидов и свободнорадикальные процессы [8], выраженность которых при реперфузии возрастает, и что лактат может использоваться тканями и, особенно, миокардом, после гипоксии в большей степени, чем глюкоза [9], были основания полагать, что повышенный уровень лактата в крови (гиперлактатемия) сможет уменьшить реперфузионное повреждение миокарда.

Есть мнение, что во время покоя или физической нагрузки лактат является основным энергетическим субстратом для здорового сердца [10] и в качестве энергетического субстрата для сердца L-лактат предпочтительнее глюкозы и свободных жирных кислот [11].

В клинической практике необходимость защиты миокарда от повреждения, вызванного ишемией и реперфузией, чаще всего необходима пациентам с различными факторами риска ССЗ, к числу которых относится пожилой возраст. Принимая во внимание тот факт, что доля пожилых людей в общей численности населения постоянно увеличивается и с возрастом в организме происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, были основания полагать, что возрастные изменения органов и тканей могут оказывать существенное влияние на инфаркт-лимитирующую эффективность лактата у старых крыс.

На сегодняшний день имеется ряд исследований, посвященных вопросу влияния пожилого возраста на воспроизводимость инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК у экспериментальных животных, однако выводы, сделанные на их основании, неоднозначны и во многом являются противоречивыми. Так, результаты одних исследований свидетельствуют об отсутствии инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК у старых животных [12], а данные других исследований наоборот указывают о наличии противоишемического эффекта ПостК у пожилых животных [13].

Как известно, большинство заболеваний сердца связаны с ишемией миокарда. А одной из причин ишемии является дефицит монооксида азота (NO). В миокарде NO может регулировать функции органа как непосредственно, так и через влияние на сосуды. По современным представлениям, дефицит NO является ключевым звеном эндотелиальной дисфункции и развития сердечной недостаточности. Результаты ряда исследований свидетельствуют о значимости NO в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ишемического пре- и ПостК [14; 15]. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта кондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда, несмотря на их интенсивное изучение, исследованы недостаточно и во многом не ясны.

Учитывая имеющиеся в научной литературе сведения о том, что с возрастом в организме происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, а также о том, что уровень NO оказывает влияние на процессы эндотелиальной дисфункции и реперфузионного повреждения миокарда, были основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO в органах и тканях будут иметь значение в реализации кардиопротекторных эффектов ПостК с помощью лактата, а их выраженность зависит от возраста животных.

Цель исследования – выяснить значимость NO в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.

Материалы и методы исследования. Исследование инфаркт-лимитирующей эффективности ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс и выяснение значимости NO в механизмах его реализации проведено на 101 наркотизированной нелинейной белой крысе-самце, которые были разделены на 2 возрастные группы: 43 молодых (молод) крысы массой 200–250 г возрастом 4 ± 1 мес. и 58 старых (стар) крыс массой 400–450 г возрастом 24 ± 1 мес. Все животные в начале эксперимента перед 30-минутной ишемией и последующей 120-минутной реперфузией миокарда были разделены на 8 групп: 1-я – Контроль_{молод} – группа молодых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда ($n = 14$); 2-я – Контроль_{стар} – группа старых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда ($n = 22$); 3-я – Лактат_{молод} – группа молодых крыс, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену лактат (Sigma-Aldrich, США) в дозе 10 мг/кг ($n = 14$); 4-я – Лактат_{стар} – группа старых крыс, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену лактат в дозе 10 мг/кг ($n = 17$); 5-я – L-NAME + Лактат_{молод} – группа молодых крыс, которым осуществлялось внутривенное введение ингибитора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME, Acros Organics, США) в дозе 25 мг/кг за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до ПостК с помощью лактата ($n = 15$); 6-я – L-NAME + Лактат_{стар} – группа старых крыс, которым осуществлялось внутривенное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до ПостК с помощью лактата ($n = 19$). Из указанных групп с учетом выживаемости животных после острой ишемии миокарда (ОИМ) и последующей реперфузии для обработки и анализа результатов исследования было отобрано 72 крысы (по 12 крыс в каждой экспериментальной группе).

Эксперименты проводились в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также руководствуясь требованиями директив Европарламента и Совета Европейского союза (2010/63/EU), регулирующих использование животных в научных целях.

Животные содержались в условиях вивария научно-исследовательской части Белорусского государственного медицинского университета в соответствии с нормативами индивидуального размещения. Рацион крыс состоял из комбикорма КК-92 / ПХЧ-5, количество которого определялось нормами кормления лабораторных животных. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*. Световой режим соответствовал естественному уровню освещенности в течение суток. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20–25 °С, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс. Относительная влажность воздуха составляла 50–70 %. При выполнении работы особое внимание уделялось шумовому режиму содержания животных, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс. Все манипуляции с животными проводились в течение дня с 8.00 до 18.00. Формирование экспериментальных групп животных осуществлялось методом случайной выборки.

Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией в левую общую яремную вену поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч с помощью инъекционного насоса В. Braun (Германия). Адекватность выполненной общей анестезии оценивалась по отсутствию рефлекторного отдергивания задней конечности животного на укол. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом через трахеостому при помощи аппарата искусственной вентиляции легких (Harvard, Великобритания) с частотой дыхания 56–60 в мин и дыхательным объемом 1,0–1,2 мл / 100 г массы тела животного. Наличие проходимости дыхательных путей контролировалось по давлению в трахее,

нормальным значением которого на вдохе считалось 10–15 мм рт. ст. В ходе экспериментов непрерывно регистрировались ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД, полученные при этом данные обрабатывались с помощью компьютерной программы Spike 4 (Великобритания). Для измерения АД прямым методом крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Температура тела измерялась в прямой кишке с помощью электротермометра (Harvard, Великобритания) и поддерживалась электрогрелкой на уровне $37,0 \pm 0,5$ °С. Грудную клетку наркотизированного животного вскрывали в IV межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию передней нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи микроартериального зажима. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением (на 10–20 мм рт. ст.) артериального давления (АД) и подъемом сегмента ST на электрокардиограмме (ЭКГ). Реперфузия миокарда достигалась снятием микроартериального зажима и сопровождалась исчезновением цианоза и возвращением сегмента ST к изолинии. Длительность реперфузии составляла 120 мин.

На протяжении эксперимента у животных изучались следующие показатели гемодинамики: среднее АД (AD_{cp}), частоту сердечных сокращений (ЧСС) и двойное произведение (ДП). AD_{cp} рассчитывали как АД диастолическое +1/3 (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как ЧСС·АД систолическое/100. Показатели гемодинамики регистрировались непрерывно в течение эксперимента и оценивались в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной окклюзии ЛКА, в начале реперфузии миокарда, а также каждые 30 мин в течение периода реперфузии. Значения гемодинамических показателей в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки принимались в качестве исходных значений данных показателей.

Критериями исключения животных из эксперимента являлись ЧСС < 300 уд/мин до начала эксперимента и AD_{cp} < 60 мм рт. ст., а также наличие у животных желудочковых экстрасистол до начала острой ишемии миокарда.

Для оценки антиаритмического эффекта подсчитывали общую длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной острой коронарной окклюзии – фибрилляции желудочков (ФЖ), пароксизмальной желудочковой тахикардии (ПЖТ), парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии, также определяли наличие реперфузионных нарушений сердечного ритма.

Изучение инфаркт-лимитирующей эффективности ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс в условиях депрессии NO-синтазы проводилось у животных, которым за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до воспроизведения ПостК с помощью лактата внутривенно вводили в левую общую яремную вену водный раствор метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME, Acros Organics, США) в дозе 25 мг/кг.

Зону риска определяли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma-Aldrich, США) в конце реперфузии при повторном кратковременном пережатии зажимом ЛКА. Для идентификации зоны риска в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ. Зону риска определяли как зону, не окрашенную в синий цвет. Сердце извлекали и отделяли от него левый желудочек. После замораживания в морозильной камере (при –20 °С в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов, которые в последующем взвешивали и сканировали с обеих сторон.

При помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2017 для каждого среза определяли отношение средней площади зоны риска в каждом срезе к средней площади всего среза. Массу зоны риска ($m_{\text{риска}}$) в каждом срезе вычисляли по формуле

$$m_{\text{риска}} = \frac{\bar{s}_{\text{риска}} m_{\text{среза}}}{\bar{s}_{\text{среза}}},$$

где $\bar{s}_{\text{риска}}$ – средняя площадь зоны риска в каждом срезе; $m_{\text{среза}}$ – масса всего среза; $\bar{s}_{\text{среза}}$ – средняя площадь всего среза.

Для расчета общей зоны риска (Зона_{риска} (%)) использовали следующую формулу:

$$\text{Зона}_{\text{риска}} (\%) = \frac{\sum m_{\text{риска}}}{m_{\text{ЛЖ}}} 100,$$

где $\sum m_{\text{риска}}$ – арифметическая сумма значений масс зон риска всех срезов левого желудочка; $m_{\text{ЛЖ}}$ – масса левого желудочка.

После этого для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1 %-ный раствор 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре 37,0 °С. Жизнеспособный миокард (клетки, сохранившие дегидрогеназную активность) окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была бледно-желтой. После 24-часовой инкубации срезов в 10 %-ном растворе формалина в термостате при температуре 37,0 °С срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии для каждого среза миокарда левого желудочка определяли отношение средней площади зоны некроза в каждом срезе ($\bar{s}_{\text{некроза}}$) к средней площади всего среза ($\bar{s}_{\text{среза}}$). Массу зоны некроза в каждом срезе ($m_{\text{некроза}}$) для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{некроза}} = \frac{\bar{s}_{\text{некроза}} m_{\text{среза}}}{\bar{s}_{\text{среза}}},$$

где $\bar{s}_{\text{некроза}}$ – средняя площадь зоны некроза в каждом срезе; $m_{\text{среза}}$ – масса всего среза; $\bar{s}_{\text{среза}}$ – средняя площадь всего среза.

Для расчета общей зоны некроза (Зона_{некроза} (%)) в миокарде левого желудочка крыс использовали формулу

$$\text{Зона}_{\text{некроза}} (\%) = \frac{\sum m_{\text{некроза}}}{\sum m_{\text{риска}}} 100,$$

где $\sum m_{\text{некроза}}$ – арифметическая сумма значений масс зон некроза всех срезов левого желудочка.

Изучение кардиопротекторной эффективности лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс проводилось у животных, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 мМоль нейтрализованного раствора молочной кислоты (L-(+)-Lactic acid, ≥98 % (Sigma-Aldrich, США)), т. е. в дозе 10 мг/кг. Нейтрализованный лактат готовили растворением молочной кислоты в 0,9 %-ном растворе NaCl для инъекций с последующим доведением pH до 7,4 с помощью NaOH (10 N).

Доза лактата (10 мг/кг) была выбрана нами с целью обеспечить уровень лактата в крови близкий к тому, что имел место во время ДИПостК после 15-минутного наложения микроартериальных зажимов на обеих бедренных артериях.

Уровень лактата в цельной крови, взятой из левой общей яремной вены, определяли при помощи анализатора Lactate Pro 2 (Arkray, Япония) малообъемным методом с использованием тест-полосок Lactate Pro 2 Test Strip для биохимических исследований (Arkray, Япония).

Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных в случае их параметрического распределения оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представляли в виде среднего ± стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Для оценки статистической значимости различий данных в случае их непараметрического распределения использовали критерий Краскала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. При непараметрическом распределении результаты исследования были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Уровень $p < 0,05$ рассматривали как статистически значимый.

Результаты и их обсуждение. Выживаемость крыс после острой коронарной окклюзии составила 71,3 % (29 крыс из 101 погибли в период острой ишемии миокарда и последующей репер-

фузии). При этом в группе Контроль_{молод} выживаемость животных составила 85,7 %, в группе Контроль_{стар} – 54,5 %, в группе Лактат_{молод} – 85,7 %, в группе Лактат_{стар} – 70,6 %, в группе L-NAME + Лактат_{молод} – 80,0 % и в группе L-NAME + Лактат_{стар} – 63,2 %. Так, у старых крыс за время 30-минутной ишемии миокарда и последующей 120-минутной реперфузии имело место значительное снижение выживаемости по сравнению с молодыми крысами (погибло 27 старых и 11 молодых крыс), что свидетельствует о более чем 2-кратном снижении устойчивости миокарда старых крыс к повреждению, вызванному его длительной ишемией и реперфузией. В итоге, количество животных в экспериментальных группах с учетом их выживаемости стало по 12 крыс в каждой.

Во всех анализируемых группах старых и молодых крыс ЧСС на протяжении эксперимента статистически значимо не изменялась по сравнению с их исходными значениями. Установлено, что в группах Контроль_{молод}, Контроль_{стар}, Лактат_{молод}, Лактат_{стар}, L-NAME + Лактат_{молод} и L-NAME + Лактат_{стар} во время ОИМ имело место статистически значимое снижение показателя АД_{ср} ($p < 0,05$) по сравнению с его исходными значениями. В начале реперфузии в группах Контроль_{стар} и Лактат_{стар} также имело место статистически значимое снижение показателя АД_{ср} ($p < 0,05$) по сравнению с его исходными значениями. Изменение показателей гемодинамики на протяжении эксперимента у старых и молодых крыс представлено в таблице.

Изменение показателей гемодинамики на протяжении эксперимента у крыс в исследуемых группах

Changes in hemodynamic parameters during the experiment in rats in the study groups

Показатели гемодинамики Hemodynamic parameters		Контроль Control		Лактат Lactate		L-NAME + Лактат L-NAME + Lactate	
		Молод, n = 12	Стар, n = 12	Молод, n = 12	Стар, n = 12	Молод, n = 12	Стар, n = 12
До начала ОИМ	АД _{ср}	81 ± 5	88 ± 5	82 ± 3	87 ± 5	83 ± 4	89 ± 4
	ЧСС	415 ± 16	448 ± 17	410 ± 15	439 ± 18	417 ± 13	440 ± 17
Начало ОИМ	АД _{ср}	68 ± 4*	70 ± 5*	69 ± 4*	71 ± 4*	68 ± 4*	72 ± 5*
	ЧСС	430 ± 14	408 ± 24	434 ± 16	404 ± 17	441 ± 21	413 ± 22
Начало реперфузии	АД _{ср}	75 ± 5	73 ± 4*	76 ± 4	74 ± 5*	78 ± 5	81 ± 4
	ЧСС	433 ± 23	407 ± 31	420 ± 23	399 ± 35	422 ± 19	403 ± 23
30' реперфузии	АД _{ср}	77 ± 4	76 ± 5	75 ± 4	77 ± 5	80 ± 4	84 ± 4
	ЧСС	439 ± 19	404 ± 24	424 ± 21	403 ± 29	428 ± 18	406 ± 26
60' реперфузии	АД _{ср}	76 ± 5	78 ± 6	78 ± 5	78 ± 4	81 ± 3	86 ± 4
	ЧСС	432 ± 16	398 ± 23	415 ± 21	406 ± 21	418 ± 20	409 ± 21
90' реперфузии	АД _{ср}	78 ± 4	78 ± 5	78 ± 4	80 ± 4	82 ± 4	88 ± 4
	ЧСС	420 ± 16	393 ± 25	417 ± 18	416 ± 24	414 ± 19	414 ± 19
120' реперфузии	АД _{ср}	80 ± 5	79 ± 5	80 ± 3	81 ± 5	81 ± 4	86 ± 5
	ЧСС	413 ± 17	387 ± 25	420 ± 17	421 ± 21	412 ± 21	418 ± 22

Примечание: * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) показателей гемодинамики по сравнению с их исходными значениями.

Note: * – statistically significant differences ($p < 0.05$) of hemodynamic parameters compared to the initial values.

При проведении исследования установлено, что величина ДП в анализируемых группах крыс до начала острой коронарной окклюзии статистически значимо не различалась. Кроме того, на протяжении эксперимента во всех экспериментальных группах крыс отличий ДП от своих исходных значений также не выявлено ($p > 0,05$). Следовательно, были основания полагать, что животные всех анализируемых групп до начала эксперимента характеризовались сходной потребностью миокарда в кислороде.

При изучении длительности нарушений сердечного ритма в исследуемых группах молодых и старых крыс при ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда в условиях системного действия в организме животных L-NAME (25 мг/кг), были получены следующие

результаты продолжительности аритмий в исследуемых группах: Контроль_{молод} – 167 (49; 233) с; Контроль_{стар} – 237 (128; 331) с; Лактат_{молод} – 145 (27; 192) с; Лактат_{стар} – 97 (66; 154) с; L-NAME + Лактат_{молод} – 158 (56; 221) с; L-NAME + Лактат_{стар} – 208 (115; 303) с (рис. 1).

В ходе исследования также установлено, что в группе Контроль_{молод} у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а у 11 животных данной группы была выявлена ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 10 крыс данной группы. В группе Контроль_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечались ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались также у 11 животных данной группы. В группе Лактат_{молод} в период острой коронарной окклюзии у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 7 животных данной группы. В группе Лактат_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 10 крыс. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 11 животных данной группы. В группе L-NAME + Лактат_{молод} в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ и ПЖТ были выявлены у 11 из 12 животных. Реперфузионные аритмии имели место у 11 животных данной группы. В группе L-NAME + Лактат_{стар} в период коронарнокклюзии у 11 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 10 крыс. Во время реперфузии миокарда аритмии наблюдались у 10 животных данной группы.

Таким образом, длительность ишемических нарушений сердечного ритма в исследуемых группах старых и молодых крыс, подвергнутых ПостК с помощью лактата, сопоставима с таковой в группах контроля, что вполне объяснимо, учитывая то, что введение животным через 25 мин от начала реперфузии лактата не могло оказывать влияние на выраженность нарушений сердечного ритма во время ОИМ. Тем не менее, в группах ПостК с помощью лактата имеет место тенденция к снижению частоты встречаемости реперфузионных нарушений ритма и общей длительности нарушений сердечного ритма по сравнению с аналогичными контрольными группами без применения лактата. В группах молодых и старых крыс, которым осуществляли внутривенное введение ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг, а также выполняли ПостК с помощью лактата в дозе 10 мг/кг, длительность нарушений сердечного ритма была сопоставима с другими соответствующими возрастными группами животных.

При изучении инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях депрессии NO-синтазы путем введения

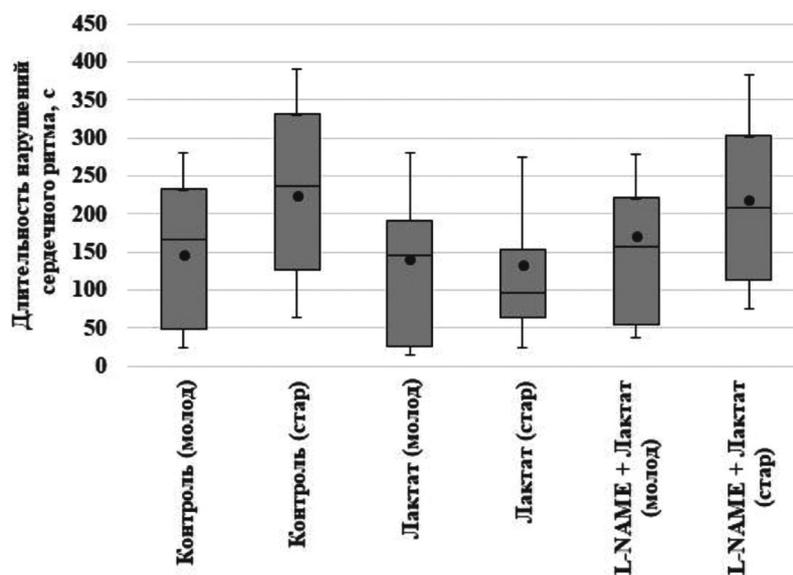


Рис. 1. Длительность нарушений сердечного ритма после 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у крыс в исследуемых группах

Fig. 1. Duration of cardiac arrhythmias after 30-minute ischemia and 120-minute myocardial reperfusion in rats in the study groups

в кровотоков L-NAME (25 мг/кг) статистически значимых различий между анализируемыми группами по показателю размера зоны риска в миокарде левого желудочка не выявлено. Так, зона ишемии в группе Контроль_{молод} составила $54 \pm 3\%$, в группе Контроль_{стар} – $55 \pm 3\%$, в группе Лактат_{молод} – $52 \pm 4\%$, в группе Лактат_{стар} – $53 \pm 3\%$, в группе L-NAME + Лактат_{молод} – $56 \pm 5\%$ и в группе L-NAME + Лактат_{стар} – $55 \pm 5\%$. Таким образом во всех анализируемых группах крыс размеры зоны риска в миокарде левого желудочка были сопоставимы.

Размер инфаркта является важным показателем повреждения миокарда из-за его влияния на сократимость сердца. Установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка у животных в группе Контроль_{молод} составил $45 \pm 4\%$, а в группе Контроль_{стар} – $47 \pm 5\%$. После внутривенного введения животным лактата (10 мг/кг), которое осуществлялось через 25 мин после начала реперфузии, у крыс при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались следующие размеры зон некроза: в группе Лактат_{молод} – $33 \pm 3\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группами Контроль_{молод}), а в группе Лактат_{стар} – $35 \pm 4\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{стар}). Полученные данные свидетельствуют о наличии инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата как у молодых, так и у старых крыс.

Размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в группах молодых и старых животных, которым выполнялось внутривенное введение ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг за 5 мин до начала реперфузии, а затем через 25 мин от начала реперфузии внутривенно вводился лактат в дозе 10 мг/кг, был следующим: в группе L-NAME + Лактат_{молод} – $44 \pm 4\%$ ($p > 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{молод}), а в группе L-NAME + Лактат_{стар} – $37 \pm 3\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{стар}) (рис. 2).

Таким образом выявлено, что в условиях системного действия в организме молодых животных ингибитора NO-синтазы L-NAME (25 мг/кг), введение которого в кровотоки осуществлялось за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до выполнения ПостК с помощью лактата, ослабляется инфаркт-лимитирующий эффект ПостК с помощью лактата (10 мг/кг), так как в левом желудочке сердца имела место более обширная (на 33,3 %, $p < 0,05$, $n = 12$) зона некроза по сравнению с группой Лактат_{молод}. У старых крыс после воспроизведения ПостК с помощью лактата (10 мг/кг) в условиях угнетения активности NO-синтазы L-NAME (25 мг/кг) при ишемии-реперфузии миокарда инфаркт-лимитирующий эффект лактата сохранялся.

Следовательно, результаты исследования дают основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO имеют значимость в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата у молодых, но не у старых крыс.

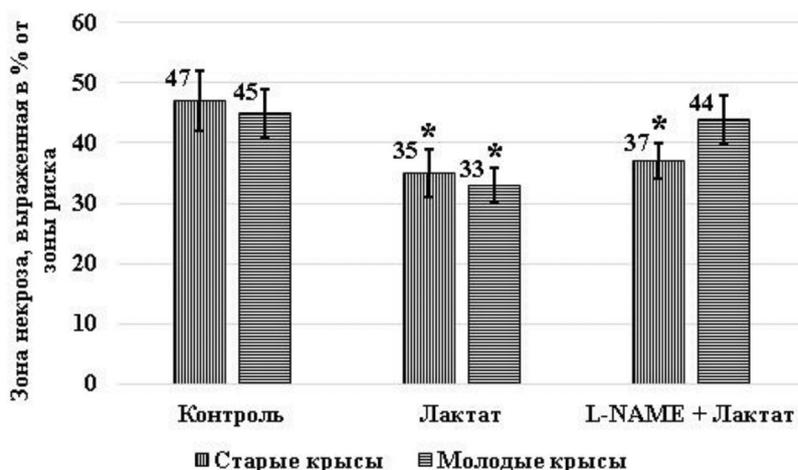


Рис. 2. Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах. * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) размеров зоны некроза по сравнению с соответствующими возрастными группами контроля

Fig. 2. Zone of infarction sizes in the left ventricular myocardium in the study groups. * – statistically significant differences ($p < 0.05$) in the zone of infarction size compared with the corresponding age control groups

Закключение. Опыты показали, что ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда, которое осуществляется через 25 мин от начала реперфузии, путем его введения в кровоток в дозе 10 мг/кг приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 26,7 и 25,5 % у молодых и старых крыс соответственно. Индуцированная ПостК с помощью лактата защита миокарда ослаблялась у молодых крыс в условиях действия в организме ингибитора NO-синтазы L-NAME, который вводился в дозе 25 мг/кг за 5 мин до начала 120-минутной реперфузии. В аналогичных условиях у старых крыс инфаркт-лимитирующий эффект ПостК с помощью лактата не изменялся. Таким образом, результаты исследования дают основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO имеют значимость в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата у молодых, но не у старых крыс.

Полученные знания о биохимических механизмах кардиопротекторного эффекта ПостК с помощью лактата послужат научным обоснованием разработки новых подходов к профилактике и лечению ССЗ, патогенез которых связан с недостаточным кровоснабжением миокарда и тканевой гипоксии.

Список использованных источников

1. Кардиопротективные эффекты ишемического кондиционирования: современные представления о механизмах, экспериментальные подтверждения, клиническая реализация / А. Е. Баутин [и др.] // Трансляционная медицина. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 50–62. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2016-3-1-50-62>
2. Donato, M. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning / M. Donato, P. Evelson, R. J. Gelpi // *Curr Opin Cardiol.* – 2017. – Vol. 32, N 6. – P. 784–790. <https://doi.org/10.1097/hco.0000000000000447>
3. Маслов, Л. Н. Феномен ишемического посткондиционирования сердца. Анализ клинических данных / Л. Н. Маслов, А. Ю. Подоксёнов, И. Г. Халиулин // *Ангиология и сосудистая хирургия.* – 2017. – Т. 23, № 1. – С. 21–28.
4. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z.-Q. Zhao [et al.] // *Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 285, N 2. – P. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>
5. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et al.] // *Experimental Physiology.* – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
6. Pharmacological Conditioning of the Heart: An Update on Experimental Developments and Clinical Implications / S. Roth [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, N 5. – Art. 2519. <https://doi.org/10.3390/ijms22052519>
7. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart / J. J. Montoya [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 58, N 4. – P. 392–398. <https://doi.org/10.1097/fjc.0b013e318226bcf7>
8. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an *in vitro* study / C. Groussard [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2000. – Vol. 89, N 1. – P. 169–175. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.169>
9. Клинические аспекты динамики лактата крови во время операций на сердце и аорте в условиях искусственного кровообращения / Н. А. Трекова [и др.] // *Анестезиология и реанимация.* – 2016. – Т. 61, № 5. – С. 324–329.
10. Brooks, G. A. The science and translation of lactate shuttle theory / G. A. Brooks // *Cell Metabolism.* – 2018. – Vol. 27, N 4. – P. 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
11. Myocardial glucose and lactate metabolism during rest and atrial pacing in humans / B. C. Bergman [et al.] // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 587, N 9. – P. 2087–2099. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.168286>
12. Failure to protect against myocardial ischemia-reperfusion injury with sevoflurane postconditioning in old rats *in vivo* / H. Li [et al.] // *Acta Anaesthesiol Scand.* – 2013. – Vol. 57, N 8. – P. 1024–1031. <https://doi.org/10.1111/aas.12156>
13. Юшкевич, П. Ф. Противоишемический и антиаритмический эффекты феноменов дистантного ишемического пре- и посткондиционирования у старых крыс / П. Ф. Юшкевич, Ф. И. Висмонт, А. Г. Мрочек // *Кардиология в Беларуси.* – 2013. – № 5. – С. 96–106.
14. Чепелев, С. Н. О значимости монооксида азота в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук.* – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 353–363. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>
15. NO в сигнальном каскаде фармакологического прекодиционирования при ишемии-реперфузии миокарда / Л. М. Даниленко [и др.] // *Ведомости Науч. центра экспертизы средств мед. применения.* – 2015. – № 2. – С. 40–44.

References

1. Bautin A. E., Karpova L. I., Marichev A. O., Tashkhanov D. M., Naumenko V. S., Galagudza M. M. Cardioprotective effects of ischemic conditioning. Up-to-date information in physiology, experimental evidences and clinical applications. *Translyatsionnaya Meditsina = Translational Medicine*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 50–62 (in Russian). <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2016-3-1-50-62>

2. Donato M., Evelson P., Gelpi R. J. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning. *Current Opinion in Cardiology*, 2017, vol. 32, no. 6, pp. 784–790. <https://doi.org/10.1097/hco.0000000000000447>
3. Maslov L. N., Podoksenov A. Yu., Khaliulin I. G. The phenomenon of ischaemic postconditioning of the heart. Analysis of clinical data. *Angiologiya i Sosudistaya Khirurgiya = Angiology and Vascular Surgery*, 2017, vol. 23, no. 1, pp. 21–28 (in Russian).
4. Zhao Z.-Q., Corvera J. S., Halkos M. E., Kerendi F., Wang N. P., Guyton R. A., Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 2003, vol. 285, no. 2, pp. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>
5. Basalay M., Barsukevich V., Mastitskaya S., Mrochek A., Pernow J., Sjöquist P. O., Ackland G. L., Gourine A. V., Gourine A. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms. *Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
6. Roth S., Torregroza C., Feige K., Preckel B., Hollmann M. W., Weber N. C., Huhn R. Pharmacological Conditioning of the Heart: An Update on Experimental Developments and Clinical Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 5, art. 2519. <https://doi.org/10.3390/ijms22052519>
7. Montoya J. J., Fernández N., Monge L., Diéguez G., Villalón A. L. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2011, vol. 58, no. 4, pp. 392–398. <https://doi.org/10.1097/fjc.0b013e318226bcf7>
8. Groussard C., Morel I., Chevanne M., Monnier M., Cillard J., Delamarche A. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an *in vitro* study. *Journal of Applied Physiology*, 2000, vol. 89, no. 1, pp. 169–175. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.169>
9. Trekova N. A., Akselrod B. A., Yudichev I. I., Gus'kov D. A., Markin A. V., Popov A. M. Clinical aspects of the blood lactate dynamics during operations on the heart and the aorta in conditions of cardiopulmonary bypass. *Anestziologiya i Reanimatologiya = Anesthesia and Resuscitation*, 2016, vol. 61, no. 5, pp. 324–329 (in Russian).
10. Brooks G. A. The science and translation of lactate shuttle theory. *Cell Metabolism*, 2018, vol. 27, no. 4, pp. 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
11. Bergman B. C., Tsvetkova T., Lowes B., Wolfel E. E. Myocardial glucose and lactate metabolism during rest and atrial pacing in humans. *Journal of Physiology*, 2009, vol. 587, no. 9, pp. 2087–2099. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.168286>
12. Li H., Zhou C., Chen D., Fang N., Yao Y., Li L. Failure to protect against myocardial ischemia-reperfusion injury with sevoflurane postconditioning in old rats *in vivo*. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 2013, vol. 57, no. 8, pp. 1024–1031. <https://doi.org/10.1111/aas.12156>
13. Jushkevich P. F., Vismont F. I., Mrochek A. G. Antiischemic and antiarrhythmic effects of remote ischemic pre- and postconditioning phenomena in old rats. *Kardiologiya v Belarusi = Cardiology in Belarus*, 2013, no. 5, pp. 96–106 (in Russian).
14. Chepelev S. N., Vismont F. I. Significance of nitrogen monoxide in the implementation of the infarct-limiting effect of remote ischemic postconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 353–363 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>
15. Danilenko L. M., Pokrovskiy M. V., Denysyuk T. A., Kolesnik I. M., Alekhin S. A. The role of NO in signaling pathway in cardiac ischemic preconditioning against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya [Vedomosti Scientific Center for Expertise in Medical Applications]*, 2015, no. 2, pp. 40–44 (in Russian).

Информация об авторах

Висмонт Франтишек Иванович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by.

Чепелев Сергей Николаевич – ст. преподаватель. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: drserge1991@gmail.com.

Губкин Сергей Владимирович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: goubkin@yandex.ru.

Information about the authors

Vismont Frantisek I. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by.

Chepelev Sergey N. – Senior Lecturer. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: drserge1991@gmail.com.

Goubkin Sergey V. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor, Director. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: goubkin@yandex.ru.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 61.616-006.6-091
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-217-222>

Поступило в редакцию 31.03.2022
Received 31.03.2022

М. А. Корнеева, И. А. Семёник, С. Н. Рябцева

Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ ЭЛАСТОГЕНЕЗА В ТКАНИ ИНВАЗИВНОГО ПРОТОКОВОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДО И ПОСЛЕ КУРСОВ ХИМИОТЕРАПИИ

(Представлено членом-корреспондентом С. В. Губкиным)

Аннотация. Целью исследования было изучить изменения компонентов эластического каркаса и особенности экспрессии эластин-связывающего белка-1, лизилоксидазы-1 и тетраспанина CD151 в ткани инвазивного протокового рака молочной железы до и после курсов химиотерапии. Исследование выполнено на архивном гистологическом материале от 34 пациентов с подтвержденным морфологическим диагнозом «инфильтрирующая протоковая карцинома молочной железы». Было сформировано две группы: первой группе пациентов выполнялась резекция опухоли до назначения химиотерапии, второй группе хирургическое удаление опухоли осуществлялось после проведения неoadъювантной химиотерапии. У пациентов без химиотерапии частота выраженных скоплений эластических волокон вокруг протоков была достоверно выше (61,1 %), чем у пациентов, получавших неoadъювантную химиотерапию (25 %). После проведения химиотерапии изменяется характер экспрессии эластин-связывающего белка-1: на долю пациентов с выраженной экспрессией данного белка приходится 62,5 % наблюдений, против 16,8 % случаев у пациентов без химиотерапии. При этом у первых преобладает сочетанная цитоплазматическая и/или мембранная экспрессия данного маркера опухолевыми клетками, а у вторых около 55 % приходится на диффузную равномерную цитоплазматическую экспрессию.

Ключевые слова: рак молочной железы, химиотерапия, эластические волокна, эластин-связывающий белок

Для цитирования. Корнеева, М. А. Особенности экспрессии маркеров эластогенеза в ткани инвазивного протокового рака молочной железы до и после курсов химиотерапии / М. А. Корнеева, И. А. Семёник, С. Н. Рябцева // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 217–222. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-217-222>

Marina A. Korneeva, Irina A. Siamionik, Svetlana N. Rjabceva

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

EXPRESSION FEATURES OF THE ELASTOGENESIS MARKERS IN THE INVASIVE DUCTAL BREAST CANCER TISSUE BEFORE AND AFTER CHEMOTHERAPY

(Communicated by Corresponding Member Sergey V. Goubkin)

Abstract. The aim of the study is to analyze the changes in the elastic fibers and the expression features of elastin-binding protein-1, lysyl oxidase-1, and tetraspanin CD151 in the invasive ductal breast cancer tissues before and after chemotherapy courses. The study included 34 patients with invasive ductal breast cancer. The patients were divided into two groups: the first group had surgical resection of the tumor before chemotherapy, and the second group had surgical resection of the residual tumor after neoadjuvant chemotherapy. The frequency of elastic fibers accumulations around the ducts in patients without chemotherapy was significantly higher (61.1 %) than that in patients after neoadjuvant chemotherapy (25.0 %). After chemotherapy, the expression of elastin-binding protein-1 changed: the proportion of patients with a strong expression of this protein in tumor cells after chemotherapy increased (62.5 %) in comparison to patients without chemotherapy (16.8 %). The combined cytoplasmic and/or membrane expression of elastin-binding protein-1 in the tumor cells predominated in the second group compared with diffuse cytoplasmic expression (55.0 %) in tumor cells of patients of the first group.

Keywords: breast cancer, chemotherapy, elastic fibers, elastin-binding protein

For citation. Korneeva M. A., Siamionik I. A., Rjabceva S. N. Expression features of the elastogenesis markers in the invasive ductal breast cancer tissue before and after chemotherapy. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 217–222 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-217-222>

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости и смертности женского населения [1]. Основной причиной летального исхода у таких пациентов является метастазирование первичной опухоли. Установлено, что стромальные клетки и внеклеточный матрикс создают «благоприятные условия» для роста, инвазии и метастазирования опухоли [2]. Основным компонентом внеклеточного матрикса являются коллагеновые волокна [3]. Было показано, что увеличение количества коллагеновых волокон I типа может способствовать образованию, инвазии и метастазированию РМЖ [4; 5]. Мало информации относительно роли эластического компонента внеклеточного матрикса стромы опухоли в онкогенезе. Современные литературные данные свидетельствуют о способности раковых клеток синтезировать эластин и экспрессировать белки, участвующие в формировании эластических волокон, а именно лизилоксидазу, эластин-связывающий белок, тетраспанины, что объясняет частое появление эластических волокон в опухоли [6]. Поскольку эластические волокна могут быть значительным резервуаром ангиостатических молекул, эти данные предполагают важную роль взаимодействия раковых клеток с эластином при прогрессировании опухолевого процесса и развитии химиорезистентности.

Цель исследования – изучить изменения компонентов эластического каркаса и особенности экспрессии эластин-связывающего белка-1 (ЭСБ-1), лизилоксидазы-1 (ЛО-1) и тетраспанина CD151 в ткани инвазивного протокового рака молочной железы до и после курсов химиотерапии.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на архивном гистологическом материале – парафиновые блоки с опухолью молочной железы, полученные от 34 пациентов с подтвержденным морфологическим диагнозом «инфильтрирующая протоковая карцинома молочной железы». Было сформировано две группы исследования. В первую группу вошли пациенты с инвазивным протоковым РМЖ, которым выполнена резекция опухоли до назначения химиотерапии ($n = 18$). Во вторую группу включены пациенты с инвазивным протоковым РМЖ, проходившие неоадьювантную химиотерапию до хирургического лечения ($n = 16$).

Для выявления и оценки характера распределения эластических волокон в ткани РМЖ, гистологические срезы окрашивались пентахромной окраской по Мовату–Расселу. Исследование микропрепаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью светового микроскопа OptecBK 5000 с цифровой камерой (Optec, Китай). Степень выраженности эластических образований оценивалась полуколичественным способом: «0» – отсутствие эластических волокон или единичные разрозненные волокна, «1+» – слабо выраженные образования (на малом увеличении микроскопа ($\times 40$) не прослеживаются, на большом увеличении ($\times 200$, $\times 400$) представлены тонкими обособленными эластическими волокнами), «2+» – умеренно выраженные образования (на малом увеличении микроскопа заметны скопления эластических волокон, которые на большом увеличении представлены четко прослеживающимися тонкими и толстыми эластическими волокнами), «3+» – выраженные образования (на малом увеличении видны утолщенные плотные скопления эластических волокон, которые при большем увеличении представлены четкими выраженными тонкими и толстыми эластическими волокнами, а также обособленными пучками эластических волокон).

Для иммуногистохимического исследования в качестве первичных антител использовали поликлональные антитела к ЭСБ-1 (PA5-81530, Invitrogen, США) в рабочем разведении 1 : 5000, моноклональные антитела к ЛО-1 (9E12.1, Millipore, США) в рабочем разведении 1 : 50 и моноклональные антитела anti-CD151 (1A12, FineTest, Китай) в разведении 1 : 600. Экспрессия иммуногистохимических маркеров была оценена полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания и интерпретировалась как: 0 – отрицательная реакция, «1+» – слабая экспрессия, «2+» – умеренно выраженная, «3+» – выраженная экспрессия.

Также были проанализированы биопсийные карты пациентов, проведена оценка экспрессии рецепторов к половым гормонам (эстрогены и прогестерон), рецептора человеческого эпидермального фактора роста HER2/neu и индекса пролиферативной активности Ki67. Экспрессию рецепторов к половым гормонам и Ki-67 оценивали по наличию или отсутствию ядерной экспрессии в образце, без учета процентного соотношения (данные из биопсийной карты пациента). Экспрессия Her2/neu была оценена полуколичественным методом с учетом интенсивности мем-

бранного окрашивания и интерпретировалась как: «1+» – слабая, «2+» – умеренно выраженная и «3+» – выраженная экспрессия (данные из биопсийной карты пациентов).

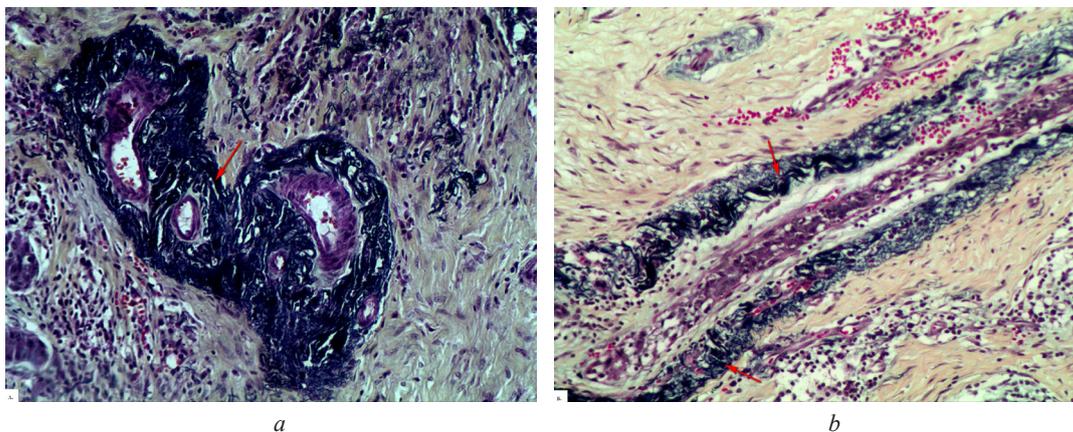
С целью проверки статистической нулевой гипотезы об однородности групп исследования использовались непараметрические методы: *U*-критерий Манна–Уитни. Взаимосвязь между показателями оценивали при помощи непараметрического двустороннего коэффициента корреляции Спирмена (r_s) ($p < 0,05$). Данные описательной статистики указаны в виде медианы (Me) и квартилей (процентиль 25 % – q1, процентиль 75 % – q3).

Результаты и их обсуждение. Первую группу исследования, пациенты которой не получали химиотерапию до выполнения хирургической резекции опухоли, составили 18 человек. Медиана возраста – 68,5 (63,00–74,00) лет. Опухоль локализовалась с одинаковой частотой как в правой, так и в левой молочной железе. В группе отмечали следующие размеры опухолевого узла: в 55,6 % случаев (10/18) диаметр опухолевого узла не превышал 2 см, у 38,9 % (7/18) был 2–5 см, в одном случае (1/18 – 5,5 %) опухоль имела прямое распространение на грудную клетку и/или кожу. В 8 (44,4 %) наблюдениях опухоль характеризовалась низкой степенью злокачественности, в 10 (55,6 %) – умеренной. Лимфогенное метастазирование отмечено у 11 (61,1 %) пациентов: среди них pN1 наблюдалось в 8 (72,7 %), pN2 – в трех (18,2 %) и pN3 – в одном (9,1 %) случае.

При оценке экспрессии маркеров рецепторов к половым гормонам в преобладающем числе случаев отмечалась положительная реакция как к эстрогену (16 – 88,9 %), так и прогестерону (15 – 83,3 %). Экспрессия Her2/neu в преобладающем количестве случаев (14 – 77,8 %) была отрицательной. В оставшихся 22,2 % (4/18) – выраженность экспрессии Her2/neu составила «1+». Положительная экспрессия маркера пролиферативной активности Ki-67 выявлена в 14 (77,8 %) случаях.

При морфологическом исследовании с применением пентахромной окраски по Мовату–Расселу выявлены скопления эластических волокон различной степени выраженности, которые локализовались в строме новообразования и в прилежащей ткани молочной железы (вблизи опухолевого роста). В строме новообразования эластические волокна формировали как обособленные плотные скопления, так и компактные скопления вокруг сосудов с формированием периваскулярных «муфт» и вокруг протоков (рисунок).

Скопления эластических волокон в строме новообразования выявлены в 16 (88,9 %) наблюдениях: слабой (3/16, 18,8 %), умеренной (8/16, 50,0 %) и выраженной (5/16, 31,3 %) степени. В 13 (72,2 %) наблюдениях выявлено компактное расположение эластических волокон вокруг сосудов опухоли с формированием периваскулярных «муфт»: слабой степени выраженности в 5/13 (38,5 %) случаях, умеренной – в 7/13 (53,8 %) случаях и выраженной – в 1/13 (7,7 %) случае. В 16 (88,9 %) наблюдениях эластические волокна выявлены вокруг протоков: из них 68,8 % (11/16) приходится на выраженные скопления и 31,2 % (5/16) – на умеренной степени выраженности.



Скопления эластических волокон в ткани инвазивного протокового рака молочной железы:
a – вокруг сосудов; b – вокруг протоков (пентахромная окраска по Мовату–Расселу, $\times 200$)

Accumulations of elastic fibers in the tissue of invasive ductal breast cancer:
a – around the vessels; b – around the ducts (pentachrome color according to Movat–Russell, $\times 200$)

При иммуногистохимическом исследовании в 10 (55,5 %) наблюдениях выявлена слабая, в 4 (22,2 %) случаях – умеренно выраженная и в 3 (16,8 %) – выраженная экспрессия ЭСБ-1. В одном (5,5 %) случае экспрессия ЭСБ-1 была оценена как отрицательная. В 10 (55,5 %) образцах наблюдалась диффузная однородная цитоплазматическая экспрессия ЭСБ-1 в опухолевых клетках, в пяти (27,8 %) – сочетанное цитоплазматическое и мембранное окрашивание, у одного (5,5 %) пациента – сочетанная экспрессия белка в цитоплазме, на мембране и перинуклеарное точечное окрашивание опухолевых клеток, еще у одного (5,5 %) пациента – перинуклеарное точечное окрашивание. В 7 (38,9 %) наблюдениях отмечалась ядерная экспрессия ЭСБ-1.

Экспрессия ЛО-1 в преобладающем количестве случаев (12 – 66,7 %) оценена как отрицательная. В 2/6 (33,3 %) образцах экспрессия ЛО-1 выявлена исключительно в стромальном компоненте опухоли, в 1/6 (16,7 %) образце – только в опухолевых клетках и еще в 3/6 (50 %) случаях наблюдалась сочетанная локализация маркера в стромальном и паренхиматозном компонентах карциномы. Экспрессия CD151 была оценена как выраженная в 4 (22,2 %) случаях, умеренная в 5 (27,8 %) и слабая в 6 (33,3 %). В трех (16,7 %) случаях экспрессия маркера была оценена как отрицательная.

Вторую группу исследования составили пациенты, у которых выявлена остаточная опухоль в молочной железе после проведения стандартных курсов химиотерапии ($n = 16$). Медиана возраста была 51,0 (47,00–57,00) год. В 62,5 % случаев опухолевый процесс выявлен в правой молочной железе, у 37,5 % – в левой. В группе отмечали следующие размеры опухолевого узла: в 50,0 % случаев (8/16) диаметр не превышал 2 см, у 37,5 % (6/16) – 2–5 см, в одном случае (6,3 %) опухолевый узел превышал 5 см и еще в одном случае (6,3 %) опухоль имела прямое распространение на грудную клетку и/или кожу. В четырех (25,0 %) наблюдениях опухоль характеризовалась низкой степенью злокачественности, в 10 (62,5 %) – умеренной, в двух (12,5 %) случаях – высокой. В данной группе у преобладающего числа женщин (13/16, 81,25 %) выявлены метастазы в регионарных лимфатических узлах: из них у пяти (38,5 %) – pN1, у трех (23,0 %) – pN2 и еще у пяти (38,5 %) – pN3.

При оценке экспрессии маркеров рецепторов к половым гормонам в преобладающем числе случаев отмечалась отрицательная реакция как к эстрогену (10 – 62,5 %), так и прогестерону (12 – 75 %). Выраженность экспрессии Her2/neu в одном (6,3 %) случае была слабой, еще в одном (6,3 %) – умеренной, в трех (37,5 %) наблюдениях – сильной. В 8 (50,0 %) случаях экспрессия Her2/neu была отрицательной. Положительная экспрессия маркера пролиферативной активности Ki-67 выявлена в 12 (75,0 %) случаях.

В 10 (62,5 %) наблюдениях отмечались плотные скопления эластических волокон в строме новообразования: слабой степени в одном (10,0 %), умеренной – в двух (20,0 %) и выраженные – в семи (70,0 %) образцах. В половине случаев (8 – 50,0 %) выявлено компактное расположение эластических волокон вокруг сосудов опухоли с формированием периваскулярных «муфт»: слабой степени в двух (25,0 %), умеренной – в двух (25,0 %) случаях и выраженные – в четырех (50,0 %) образцах. В 11 (68,8 %) наблюдениях эластические волокна с разной степенью выраженности выявлены вокруг протоков: из них 36,4 % (4/11) приходится на выраженные скопления, 45,4 % (5/11) – умеренные скопления и 18,2 % (2/11) – скопления слабой степени выраженности.

При иммуногистохимическом исследовании в трех (18,8 %) наблюдениях выявлена слабая, еще в трех (18,8 %) случаях – умеренно выраженная и в 10 (62,5 %) – выраженная экспрессия маркера ЭСБ-1. В четырех (25,0 %) образцах наблюдалась диффузная однородная цитоплазматическая экспрессия ЭСБ-1 в опухолевых клетках, в 5 (31,3 %) – сочетанное цитоплазматическое и мембранное окрашивание, у 6 (37,5 %) пациентов – сочетанная экспрессия белка в цитоплазме, на мембране и перинуклеарное точечное окрашивание опухолевых клеток. В одном (6,3 %) наблюдении выявлено мембранное окрашивание. В трех (18,7 %) образцах выявлена ядерная экспрессия ЭСБ-1 в опухолевых клетках в сочетании с различными вариантами цитоплазматического окрашивания.

Экспрессия ЛО-1 была оценена как отрицательная в 14 (87,5 %) случаях, положительная реакция выявлена в 2 (12,5 %) наблюдениях. Экспрессия CD151 в одном (6,3 %) случае была оценена как отрицательная, положительная реакция выявлена в 15 (93,7 %) наблюдениях: из них

в 13,3 % (2/15) – со слабой, в 40,0 % (6/15) – с умеренной и в 46,7 % (7/15) – с выраженной экспрессией маркера.

Таким образом, скопления эластических волокон присутствуют как в опухолевой ткани пациентов без химиотерапии, так и у пациентов, получавших химиотерапию до хирургического удаления новообразования. Достоверные различия выявлены по частоте формирования конгломератов эластических волокон и степени выраженности их скоплений вокруг протоков ($p = 0,03$). Установлено, что в группе пациентов, у которых опухоль удалена до назначения химиотерапии, частота выявления выраженных скоплений эластических волокон вокруг протоков выше, чем в группе после проведения химиотерапии (61,1 и 25 % соответственно). При этом в группе последних отмечена обратная корреляционная зависимость между выраженностью скоплений эластических волокон вокруг протоков со степенью распространенности опухолевого процесса (показатель N , $r_s = -0,59$) и размером опухолевого узла (показатель T , $r_s = -0,52$): у пациентов с распространенными лимфогенными метастазами и размером опухоли более 2 см наблюдалась слабая выраженность скоплений или полное отсутствие эластических волокон вокруг протоков. Отсутствие эластических скоплений вокруг протоков может расцениваться как признак формирования новых атипичных протоков.

У всех пациентов с РМЖ отмечается положительная иммуногистохимическая реакция к эластин-связывающему белку, однако во второй группе (после химиотерапии) частота выраженной экспрессии ЭСБ-1 существенно выше, чем в первой (62,5 и 16,8 % соответственно, $p = 0,006$). Достоверные различия в группах исследования установлены и по локализации ЭСБ-1 в опухолевых клетках ($p = 0,02$). В группе после химиотерапии преобладает сочетанная экспрессия ЭСБ-1: 31,3 % наблюдений приходится на «цитоплазма + мембрана», в 37,5 % – «цитоплазма + мембрана + перинуклеарная зона». В группе без химиотерапевтического воздействия преобладает цитоплазматическая экспрессия ЭСБ-1 в опухолевых клетках (55,5 %). В данной группе выявлена обратная корреляционная связь между локализацией ЭСБ-1 и экспрессией рецепторов к эстрогену ($r_s = -0,53$). Несмотря на то что в группе преобладала положительная экспрессия рецепторов эстрогена (в то время как у пациентов с химиотерапией – отрицательная экспрессия), у всех пациентов с отрицательной экспрессией локализация ЭСБ-1 носила исключительно сочетанный характер «мембрана + цитоплазма + перинуклеарное пространство». Наличие в опухолевых клетках сочетанной экспрессии ЭСБ-1 может свидетельствовать об активном протекании в них процессов синтеза, сборки и транспортировки (секреции) данного белка. В группе пациентов, не получавших химиотерапию, цитоплазматическая экспрессия маркера, возможно, свидетельствует о накоплении белка в цитоплазме клеток и «выключении» их секреции.

Экспрессия маркера тетраспанина CD151 выявлена в 83,3 % случаев в группе до выполнения химиотерапии и в 93,7 % – после химиотерапии. В первой группе преобладала слабая экспрессия маркера, а во второй – выраженная, однако достоверных отличий в группах не установлено ($p = 0,08$). Не установлено достоверных отличий и по экспрессии ЛО-1 ($p = 0,3$) в группах исследования. В большинстве случаев РМЖ выявлена отрицательная экспрессия маркера. Отсутствие ЛО-1 в компонентах инвазивного протокового рака молочной железы вероятно можно рассматривать как один из признаков агрессивного биологического поведения опухоли, поскольку ЛО-1 обеспечивает поперечную сшивку коллагенов и эластина, тем самым формируя «физический барьер».

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о различиях в формировании эластического каркаса и продукции ферментов, участвующих в эластогенезе между пациентами с остаточной опухолью после химиотерапии и пациентами без химиотерапии.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках договора БРФФИ (проект M19M-034).

Acknowledgments. The research is carried out within the framework of the BRFF agreement (Project M19M-034).

Список использованных источников

1. National institutes of health consensus development conference statement: adjuvant therapy for breast cancer // Journal of the National Cancer Institute. – 2001. – Vol. 93, N 13. – P. 979–989. <https://doi.org/10.1093/jnci/93.13.979>
2. Novel stromal biomarkers in human breast cancer tissues provide evidence for the more malignant phenotype of estrogen receptor negative tumors / Z. I. Khamis [et al.] // Journal of Biomedicine and Biotechnology. – 2011. – Vol. 2011. – Art. 723650. <https://doi.org/10.1155/2011/723650>

3. Biochemical and biophysical aspects of collagen nanostructure in the extracellular matrix / L. Koláčná [et al.] // *Physiol. Res.* – 2007. – Vol. 56, N 1. – P. 51–60. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931302>
4. Mammographic density is related to stroma and stromal proteoglycan expression / S. Alowami [et al.] // *Breast Cancer Res.* – 2003. – Vol. 5, N 5. – P. 129–135. <https://doi.org/10.1186/bcr622>
5. The association of measured breast tissue characteristics with mammographic density and other risk factors for breast cancer / T. Li [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2005. – Vol. 14, N 2. – P. 343–349. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-04-0490>
6. Lapis, K. Role of elastin–matrix interactions in tumor progression / K. Lapis, J. Timar // *Cancer Biology.* – 2002. – Vol. 12, N 3. – P. 209–217. [https://doi.org/10.1016/s1044-579x\(02\)00024-x](https://doi.org/10.1016/s1044-579x(02)00024-x)

References

1. National institutes of health consensus development conference statement: adjuvant therapy for breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 2001, vol. 93, no. 13, pp. 979–989. <https://doi.org/10.1093/jnci/93.13.979>
2. Khamis Z. I., Sahab Z. J., Byers S. W., Sang Q. X. A. Novel stromal biomarkers in human breast cancer tissues provide evidence for the more malignant phenotype of estrogen receptor-negative tumors. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, vol. 2011, art. 723650. <https://doi.org/10.1155/2011/723650>
3. Koláčná L., Bakešová J., Varga F., Košťáková E., Lukáš D., Amler E., Pelouch V. Biochemical and biophysical aspects of collagen nanostructure in the extracellular matrix. *Physiological Research*, 2007, vol. 56, no. 1, pp. 51–60. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931302>
4. Alowami S., Troup S., Al-Haddad S., Kirkpatrick I., Watson P. H. Mammographic density is related to stroma and stromal proteoglycan expression. *Breast Cancer Research*, 2003, vol. 5, no. 5, pp. 129–135. <https://doi.org/10.1186/bcr622>
5. Li T., Sun L., Miller N., Nicklee T., Woo J., Hulse-Smith L., Tsao M.-S., Khokha R., Martin L., Boyd N. The association of measured breast tissue characteristics with mammographic density and other risk factors for breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 2005, vol. 14, no. 2, pp. 343–349. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-04-0490>
6. Lapis K., Timar J. Role of elastin-matrix interactions in tumor progression. *Seminars in Cancer Biology*, 2002, vol. 12, no. 3, pp. 209–217. [https://doi.org/10.1016/s1044-579x\(02\)00024-x](https://doi.org/10.1016/s1044-579x(02)00024-x)

Информация об авторах

Корнеева Марина Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mari.derewianko@mail.ru.

Семёник Ирина Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: irina.derewianko@yandex.by.

Рябцева Светлана Николаевна – канд. мед. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sveta.rjabceva@tut.by.

Information about the author

Korneeva Marina A. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mari.derewianko@mail.ru.

Siamionik Irina A. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irina.derewianko@yandex.by.

Rjabceva Svetlana N. – Ph. D. (Medicine), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sveta.rjabceva@tut.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

НАУКИ О ЗЕМЛЕ
EARTH SCIENCES

УДК 551.79:[550.42](476)
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-223-228>

Поступило в редакцию 09.12.2021
Received 09.12.2021

Академик А. В. Матвеев¹, М. И. Автушко², С. А. Исаченко²

¹*Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь*

**О ВЛИЯНИИ АТМОСФЕРНЫХ ОСАДКОВ
И ЛУННО-СОЛНЕЧНОГО ГРАВИТАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
НА КОНЦЕНТРАЦИЮ РАДОНА В ПОРОВОМ ВОЗДУХЕ ДИСПЕРСНЫХ ГРУНТОВ**

Аннотация. Получены экспериментально обоснованные данные, характеризующие ранее неизвестные особенности миграционного поведения радона в приземной атмосфере и приповерхностных слоях грунтов. Показано, что уровень концентрации радона в поровом воздухе дисперсного (песчаного) приповерхностного грунта формируется за счет двух земных источников – интргенного и глубинного, при существенном вкладе атмосферного источника, обусловленного поступлением радона с жидкими атмосферными осадками, вымывающими его из атмосферы и доставляющими к земной поверхности. Определена форма математической зависимости между количеством выпадающих осадков и количеством атмосферного радона, и дана оценка относительного вклада атмосферного источника и земных источников радона в его суммарное содержание в поровом воздухе грунтов. Показано, что вклад атмосферного источника радона спорадически, в зависимости от количества выпадающих осадков и концентрации радона в них, может превышать вклад земных источников. Установлена тесная корреляционная связь между количеством грунтового радона и силой гравитационного лунно-солнечного воздействия на земную кору. Использование этой информации в практических целях представляется необходимым для обеспечения достоверности оценок радоноопасности окружающей среды, одним из критериев которых является уровень концентрации радона в грунтах.

Ключевые слова: приповерхностные грунты, радон, концентрации радона в грунтах, земные источники радона, лунно-солнечный гравитационный фактор, жидкие атмосферные осадки, атмосферный источник радона

Для цитирования. Матвеев, А. В. О влиянии атмосферных осадков и лунно-солнечного гравитационного воздействия на концентрацию радона в поровом воздухе дисперсных грунтов / А. В. Матвеев, М. И. Автушко, С. А. Исаченко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 223–228. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-223-228>

Academician Aleksey V. Matveyev¹, Mikhail I. Autushka², Sergey A. Isachenko²

¹*Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus*

**INFLUENCE OF ATMOSPHERIC PRECIPITATION AND LUNISOLAR GRAVITATIONAL FORCES ON
RADON CONCENTRATIONS IN THE AIR IN THE DISPERSIVE SOIL PORES**

Abstract. In the present study, the obtained data on the previously unknown behaviors of radon migration in the near-surface atmospheric and soil layers were validated experimentally. The experiment finds two earth origins of radon concentrations occurred in the air in the pores of the near-surface dispersive soil, intragenic and hypogenic, with a considerable atmospheric impact of the liquid forms of precipitation transporting radon from the atmosphere to the ground. The equations were used to establish the mathematical relation between the amounts of precipitation and atmospheric radon. We also assessed a relative contribution of the atmospheric and earth sources to the total radon concentration in the air in the soil pores. The atmospheric source was found to have a sporadically higher impact on the radon levels in the air in the soil pores as against the earth source, depending on the amounts of precipitation and radon concentrations in them. A close correlation was established between the radon concentrations in the soil and the effect of lunisolar gravitational forces on the earth's crust. The

findings of the radon levels in near-surface soils are expected to be applied as one of the criteria for environmental assessment of radon concentrations and associated threats.

Keywords: near-surface soils, radon, radon concentrations in soils, earth radon, lunisolar gravitational factor, liquid precipitation, atmospheric radon

For citation. Matveyev A. V., Autushka M. I., Isachenko S. A. Influence of atmospheric precipitation and lunisolar gravitational forces on radon concentrations in the air in the dispersive soil pores. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 223–228 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-223-228>

Введение. Практически все современные объекты радонометрии сосредоточены в области сопряжения двух смежных геосфер – атмосферы и литосферы. Для этой пограничной области (англ. *border area*), представленной со стороны литосферы приповерхностными грунтами, со стороны атмосферы – приземными слоями воздуха, радонометрические исследования имеют особое значение, поскольку в ее пределах находится преимущественная часть среды обитания и производственной деятельности человека. Принято считать, что источником поступления радона в эту среду являются земные источники, и при оценке радоноопасности территории жилищного строительства основным критерием является уровень концентрации радона в приповерхностных грунтах.

Ранее нами показано [1–3], что количество грунтового радона, проистекающего из земных источников и фиксируемое при полевых измерениях (Rn_{sum}), формируется за счет двух составляющих. Одна составляющая характеризует то количество радона, которое продуцируется непосредственно в грунтах за счет радиоактивного распада содержащегося в них ^{226}Ra . Это количество – собственно грунтовой или *интрагенный* радон (Rn_{in}) – зависит только от вещественного состава грунтов и для каждой точки измерения является постоянной величиной ($Rn_{in} = const$). Другая составляющая представлена радоном, избыточным по отношению к количеству, равновесному с содержащимся в грунтах радием, и имеет глубинный источник (Rn_{bat}). Этот источник обусловлен влиянием закономерно варьирующего лунно-солнечного гравитационного воздействия на земную кору, вызывающего земные приливы-отливы и способствующего адвекции радона из глубины к земной поверхности, и его интенсивность может значительно изменяться под влиянием локальных особенностей геологического строения и состава пород, подстилающих приповерхностный слой грунтов [4].

Вместе с тем результаты наших предшествующих исследований [5; 6] показывают, что значительное количество радона (до 1 кБк/л) поступает к земной поверхности с жидкими атмосферными (дождевыми) осадками (ЖАО). Эти данные послужили основанием для предположения о том, что избыточное (по сравнению с интрагенным количеством) содержание радона в приповерхностных грунтах может формироваться не только за счет глубинного земного источника, но и за счет поступления из атмосферы.

Задача исследований, предпринимаемых авторами настоящего сообщения, заключается в выяснении миграционных свойств радона, определяющих условия, количественные параметры и закономерности его поступления в среду обитания человека, обусловленные природными геодинамическими процессами, протекающими в приземных слоях атмосферы и в приповерхностных грунтах. В сообщении представлены результаты экспериментального определения и сравнительной оценки количеств радона, поступающего в приповерхностные грунты из земных источников и принесенного на земную поверхность дождевыми осадками. В мировой радонологической литературе нет данных о том, что упомянутые аспекты миграции радона исследованы или хотя бы обсуждаются.

Экспериментальная часть. Эксперимент выполняли на наблюдательной радонометрической площадке Института радиобиологии НАН Беларуси (г. Гомель). Эта территория находится в пределах задровской равнины времени отступления сожского ледника. Приповерхностные грунты здесь представлены однородной толщей флювиогляциальных мелко-тонкозернистых кварц-полевошпатовых песков мощностью более 6 м.

Эксперимент заключался в периодическом измерении количества радона, сорбированного активированным углем, в скважине диаметром 80 мм, вскрывающей приповерхностный грунт

на глубину 1,5 м, с сопутствующей фиксацией значений количества ЖАО (Q , мм), выпадавших в течение времени экспозиции. В основу оценки значений гравитационного параметра G , который используется в работе для сравнительной характеристики силы лунно-солнечного воздействия на земную кору, положено представление, что его величина максимальна ($G = 3$) для фазы новолуния, когда гравитационные воздействия Луны и Солнца на земную кору суммируются; минимальна ($G = 1$) для полнолуния, когда Луна и Солнце расположены по разные стороны от земного шара, причем на земную кору в точке наблюдения воздействует только Солнце; имеет промежуточные значения в квадратурах.

Картридж с угольным сорбентом устанавливали на дно скважины, устье скважины закрывали поролоновым тампоном и засыпали слоем грунта, ранее изъятых из скважины. Количество радона, сорбированного активированным углем, отражает суммарную концентрацию радона в свободном поровом пространстве грунтов (Rn_{sum})¹. Оценивалось количество по удельной активности радионуклида ²¹⁴Bi, γ -излучающего дочернего продукта распада радона. Периодичность измерений (время экспозиции угольного сорбента в скважинах) составляла 3,5 сут., т. е. в течение каждой четверти лунного месяца выполнялось по 2 измерения. Каждому измерению концентрации радона в угольном сорбенте Rn_{sum} соответствуют усредненные по периодам экспозиции значения G и Q . Эксперимент выполнялся в течение 4,5 недель (31,5 сут или $1_{1/6}$ периода обращения Луны вокруг Земли), при колебаниях температуры атмосферного воздуха от -3 до $+10$ °C и преимущественно пасмурной погоде.

Результаты и их обсуждение. Полученные в ходе эксперимента результаты измерений, иллюстрирующие динамику концентрации радона в грунтах и значений геодинамических параметров G и Q , показаны в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Динамика значений геодинамических параметров G и Q и концентрации радона в грунтах в ходе эксперимента

Table 1. Dynamics of geodynamical parameters G and Q and radon concentrations in soils

№ измерений Measurement No.	Фазы Луны Lunar phases	G , усл. ед. G , c. u.	Q , мм Q , mm	Rn_{sum} , Бк Rn_{sum} , Bq
1	Полнолуние	1,00	8,5	54
2	Убывающая Луна	1,33	3,1	44
3	4-я четверть	2,00	1,3	45
4	Убывающая луна	2,67	0,0	52
5	Новолуние	3,00	0,0	56
6	Растущая Луна	2,67	7,1	66
7	1-я четверть	2,00	24,6	82
8	Растущая Луна	1,33	37,8	91
9	Полнолуние	1,00	8,8	52

Анализ приведенных данных позволяет заключить, что значимая корреляция величины Rn_{sum} с параметром G отсутствует, поскольку она затуманена поступлением атмосферного радона, однако влияние лунно-солнечного гравитационного процесса на концентрацию радона в грунтах проявляется и в этом случае. Так, в измерениях 2–5 поступление осадков к земной поверхности снижалось от 3,1 мм до нулевого уровня, тогда как величина Rn_{sum} возрастала, что объясняется, очевидно, ростом адвекционного поступления глубинного радона в связи с приближением к фазе новолуния, когда колебания земной коры, обусловленные лунно-солнечным гравитационным воздействием, закономерно увеличиваются.

Количество ЖАО, выпадающих в течение эксперимента, оказывало существенное влияние на концентрацию радона в грунтах: ход величин Rn_{sum} практически идентичен ходу Q . Корреляционная связь между величинами Q и Rn_{sum} характеризуется коэффициентом $R^2 = 0,89$ (рис. 1).

¹ Устройство для измерения содержания радона в поровом воздухе грунтов с использованием угольного сорбента: пат. Респ. Беларусь ВУ 12322, МПК G 01N 1/22 / М. И. Автушко, Л. В. Жукова, А. И. Жуковский, С. А. Исаченко; заяв. Гос. науч. учрежд. «Ин-т радиобиологии Нац. акад. наук Беларуси». – и 20190277; заявл. 11.11.19; опубл. 30.06.20 // Офиц. бюлл. / Нац. центр интеллектуал. собственности. – 2020. – № 3. – С. 137.

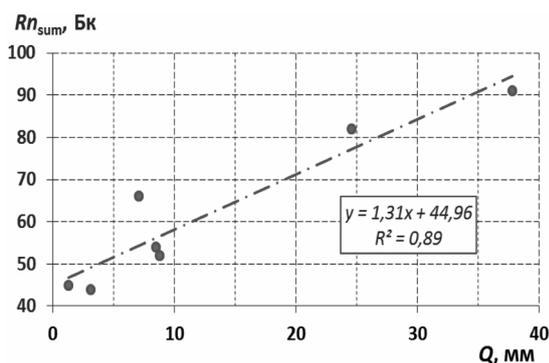


Рис. 1. Форма корреляционной зависимости между величинами Rn_{sum} и Q

Fig. 1. Correlation between Rn_{sum} and Q variables

Уравнение линейной регрессии, характеризующее форму зависимости и Rn_{sum} от Q , имеет вид

$$Rn_{sum} = 1,31Q + 44,96. \quad (1)$$

Из уравнения (1) следует, что с каждым миллиметром дождевых осадков в грунт поступает количество радона, повышающее его поглощение угольным сорбентом из грунтового воздуха в среднем на $\sim 1,31$ Бк.

На основе полученных данных представляется возможным вычлнить из суммарной оценки (Rn_{sum}) количество атмосферного радона (Rn_{atm}), поступавшего в грунт с осадками в течение каждого периода экспозиции. Количественная зависимость Rn_{atm} от величины Q аппроксимируется уравнением

$$Rn_{atm} = 1,31Q + 5E - 15, \quad (2)$$

в котором коэффициент при первом члене уравнения сохраняет ту же величину, что и в уравнении (1), свободный член уравнения практически равен нулю, а коэффициент корреляции равен единице (рис. 2).

Оценку количества радона, поступающего в поровое пространство грунта из двух земных источников – интрагенного и глубинного, получаем путем вычитания величины Rn_{atm} из значения Rn_{sum} :

$$Rn_{earth} = (Rn_{in} + Rn_{bat}) = Rn_{sum} - Rn_{atm}. \quad (3)$$

Расчетные значения Rn_{atm} и Rn_{earth} приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Содержание атмосферного и земного радона в грунтах

Table 2. Atmospheric and earth radon concentrations in soils

№ измерений Measurement No.	Rn_{atm} , Бк Rn_{atm} , Bq	Rn_{earth} , Бк Rn_{earth} , Bq	Rn_{atm} / Rn_{sum}
1	11,1	42,9	0,21
2	4,1	39,9	0,09
3	1,7	43,3	0,04
4	0,0	52,0	0,00
5	0,0	57,0	0,00
6	9,3	56,7	0,14
7	32,2	49,8	0,39
8	49,5	41,5	0,54
9	11,5	40,5	0,22

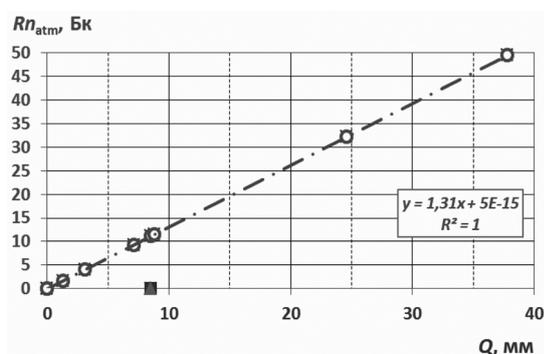


Рис. 2. Форма корреляционной зависимости между величинами Q и Rn_{atm}

Fig. 2. Correlation between Q and Rn_{atm} variables

Поскольку $Rn_{in} = \text{const}$, то все вариации поступления радона из земных источников, характеризуемого значениями Rn_{earth} , определяются только вариациями величины Rn_{bat} , которые обусловлены закономерными изменениями силы лунно-солнечного гравитационного воздействия на земную кору, регулируемыми интенсивность потока глубинного радона к земной поверхности. Следовательно, значения Rn_{earth} должны соответствовать ходу гравитационного параметра G и иметь тесную корреляционную связь с величиной этого параметра, что и подтверждается данными рис. 3 и 4.

Сравнительная оценка вклада разных источников радона в его суммарную концентрацию в грун-

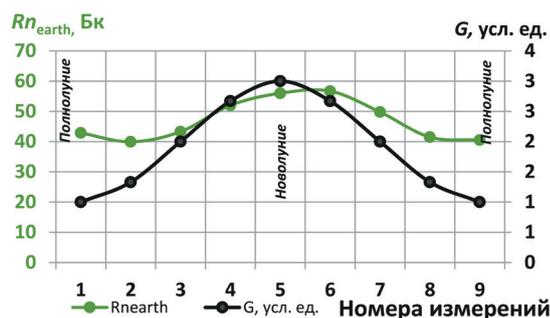


Рис. 3. Лунно-месячный ход концентрации земного радона в грунтах

Fig. 3. Lunar-monthly movement of ground radon concentrations in soils

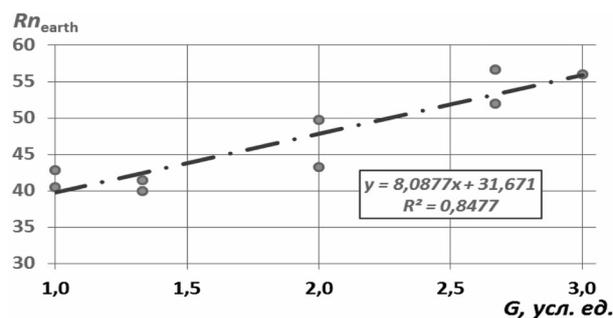


Рис. 4. Форма корреляционной зависимости между величинами Rn_{earth} и G

Fig. 4. Correlation between Rn_{earth} and G variables

тах показывает (табл. 1), что вклад атмосферного источника, оцениваемый по соотношению Rn_{atm} / Rn_{sum} , колеблется в зависимости от количества выпадающих ЖАО, от нулевого уровня в бездождевые периоды (измерения 4 и 5) до 0,54 (т. е. больше вклада земных источников) в периоды, когда величина Q превышает 10 мм/сут (измерение 8). Эти данные не имеют обобщающего значения, поскольку концентрация радона в ЖАО, по данным [4], может изменяться в широких пределах – от $n \cdot 10^{-2}$ до $n \cdot 10^{-3}$ Бк/л. Кроме того, остается неизвестной и подлежит исследованию временная динамика концентрации радона в ЖАО в случае продолжительных выпадений. Тем не менее, представляется очевидным, что учет вариаций концентрации радона, обусловленных как поступлением его из атмосферного источника, так и из глубинного земного источника, необходим для обеспечения достоверности радонометрических работ, направленных на оценку радиэкологического качества окружающей среды.

Закключение. В результате исследования получены экспериментально обоснованные данные, характеризующие ранее неизвестные особенности миграционного поведения радона в приземной атмосфере и приповерхностных слоях грунтов. Показано, что уровень концентрации радона в поровом воздухе дисперсного (песчаного) приповерхностного грунта формируется за счет двух земных источников – интрагенного и глубинного – при существенном вкладе атмосферного источника, обусловленного поступлением радона с жидкими атмосферными осадками, вымывающими его из атмосферы и доставляющими к земной поверхности. Определена форма математической зависимости между количеством выпадающих осадков и количеством атмосферного радона, и дана оценка относительного вклада атмосферного источника и земных источников радона в его суммарное содержание в поровом воздухе грунтов. Показано, что вклад атмосферного источника радона спорадически, в зависимости от количества выпадающих осадков и концентрации радона в них, может превышать вклад земных источников. Установлена тесная корреляционная связь между количеством грунтового радона и силой гравитационного лунно-солнечного воздействия на земную кору. Использование этой информации в практических целях представляется необходимым для обеспечения достоверности оценки радоноопасности окружающей среды, одним из критериев которой является уровень концентрации радона в грунтах.

На основании полученных данных представляется возможным рассматривать устойчивые и закономерные проявления вариабельности концентрации радона в грунтах, обусловленные влиянием гравитационного геодинамического фактора, как характеристический параметр геохимического поля радона в грунтах, свойственный, по-видимому, для полей любых газообразных флюидов в земной коре. Особое значение этого результата состоит в том, что он приводит к необходимости объяснения механизма, определяющего движение газообразных флюидов в земной коре и поступление их к земной поверхности. Исследования продолжаются.

Список использованных источников

1. Автушко, М. И. Проявление линейных нарушений в концентрациях радона в покровных отложениях на территории Воложинского грабена / М. И. Автушко, А. В. Матвеев, Л. А. Нечипоренко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 1996. – Т. 40, № 6. – С. 92–94.

2. Автушко, М. И. Об источниках радона в поровом воздухе грунтов / М. И. Автушко, В. Э. Ковдерко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2001. – Т. 45, № 4. – С. 91–93.
3. Автушко, М. И. Концентрация радона в приповерхностных грунтах на территории Солигорского геодинамического полигона (Беларусь) / М. И. Автушко, А. В. Матвеев // Літасфера. – 2010. – № 2 (33). – С. 98–105.
4. Рынский, М. А. О влиянии динамики земной коры на поступление радона к земной поверхности / М. А. Рынский, М. И. Автушко // Літасфера. – 2008. – № 1 (28). – С. 162–165.
5. Автушко, М. И. О содержании ДПР радона в дождевой воде / М. И. Автушко, Л. В. Жукова // АНРИ. – 2007. – № 4. – С. 14–16.
6. Автушко, М. И. Новые данные о поступлении радона в среду обитания человека / М. И. Автушко, А. В. Матвеев, С. А. Исаченко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т. 65, № 3. – С. 355–360. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-355-360>

References

1. Autushka M. I., Matveyev A. V., Nechiporenko L. A. Linear disturbances of radon concentrations in the Volozhin graben's mantle deposits. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 1996, vol. 40, no. 6, pp. 92–94 (in Russian).
2. Autushka M. I., Kovderko V. E. On the sources of radon in the air of soil pore spaces. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2001, vol. 45, no. 4, pp. 91–93 (in Russian).
3. Avtushko M. I., Matveyev A. V. Radon concentrations in the near-surface grounds within the Soligorsk geodynamic testing area (Belarus). *Litasfera = Lithosphere*, 2010, no. 2 (33), pp. 98–105 (in Russian).
4. Rynsky M. A., Avtushko M. I. Referring to the influence of the earth crust dynamics on the transport of radon to the ground surface. *Litasfera = Lithosphere*, 2008, no. 1 (28), pp. 162–165 (in Russian).
5. Autushka M. I., Zhukava L. V. On the concentrations of radon and its daughters in rainwater. *ANRI*, 2007, no. 4, pp. 14–16 (in Russian).
6. Autushka M. I., Matveyev A. V., Isachenko S. A. Recent data on radon entry into the human environment. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2021, vol. 65, no. 3, pp. 355–360. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-355-360>

Информация об авторах

Матвеев Алексей Васильевич – академик, д-р геол.-минер. наук, гл. науч. сотрудник. Институт природопользования НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 10, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: matveyev@nature-nas.by.

Автушко Михаил Иванович – канд. геол.-минер. наук, вед. науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: awtushka@tut.by.

Исаченко Сергей Александрович – ст. науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: s.a.isachenko@gmail.com.

Information about the authors

Matveyev Aleksey V. – Academician, D. Sc. (Geology and Mineralogy), Chief Researcher. Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus (10, F. Skoryna Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: matveyev@nature-nas.by.

Autushka Mikhail I. – Ph. D. (Geology and Mineralogy), Leading Researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninsky Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: awtushka@tut.by.

Isachenko Sergey A. – Senior Researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninsky Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: s.a.isachenko@gmail.com.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ
TECHNICAL SCIENCES

УДК 621.91.01
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-229-236>

Поступило в редакцию 18.02.2022
Received 18.02.2022

Б. М. Базров¹, М. Л. Хейфец²

¹*Институт машиноведения им. А. А. Благонравова Российской академии наук,
Москва, Российская Федерация*

²*Институт прикладной физики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

**КОМПОНОВочный синтез на основе модульного принципа
элементной базы мехатронных технологических комплексов**

(Представлено академиком П. А. Витязем)

Аннотация. Показаны основные недостатки современных технологических станочных комплексов, к которым относятся: отсутствие учета индивидуальных запросов потребителей и их недостаточная гибкость, не учитывающих тенденцию быстрого изменения производственной программы. Предложена концепция развития металлорежущих станков, базирующаяся на принципах модульной технологии. Создаваемые станочные комплексы призваны удовлетворить индивидуальные запросы потребителей, при этом гибкость производственного оборудования должна обеспечивать переход на изготовление новых деталей и смену технологической схемы обработки посредством изменения режимов обработки, переналадки и переконфигурации станков, а развитие станочного оборудования должно осуществляться одновременно с совершенствованием технологии обработки деталей. Технологические комплексы следует создавать компоновочным синтезом с помощью элементной базы, которая должна содержать две группы функциональных модулей технологических и обслуживающих, а служебное назначение станка должно включать номенклатуру изготавливаемых модулей поверхностей с их характеристиками и модулями средств технологического обеспечения.

Ключевые слова: проектирование комплексов, технологическое оборудование, служебное назначение, конструкция, деталь, модуль, инструмент, элементная база

Для цитирования. Базров, Б. М. Компоновочный синтез на основе модульного принципа элементной базы мехатронных технологических комплексов / Б. М. Базров, М. Л. Хейфец // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 229–236. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-229-236>

Boris M. Bazrov¹, Mikhail L. Kheifetz²

¹*Institute of Machine Science of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

²*Institute of Applied Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**LAYOUT SYNTHESIS BASED ON THE MODULAR PRINCIPLE OF THE ELEMENT BASE
OF MECHATRONIC TECHNOLOGICAL COMPLEXES**

(Communicated by Academician Petr A. Vityaz)

Abstract. The main shortcomings of modern technological machine-tool complexes are shown. They are: the lack of consideration of individual consumer needs and their insufficient flexibility that do not take into account the trend of rapid changes in the production program. A concept for the development of metal-cutting machine tools based on the principles of the modular technology is proposed. The created machine tool complexes are designed to satisfy the individual needs of consumers, while the flexibility of production equipment should ensure the transition to the manufacture of new parts and the replacement of the technological processing scheme by changing the processing modes, readjustment and reconfiguration of machines; the development of machine tools should be carried out simultaneously with the improvement of the technology of processing parts. Technological complexes should be created by the layout synthesis using the element base that should

contain two groups of functional modules, technological and service, and the service purpose of the machine should include the range of both the manufactured surface modules with their characteristics and the modules of technological support.

Keywords: design of complexes, technological equipment, service use, construction, detail, module, tool, element base

For citation. Bazrov B. M., Kheifetz M. L. Layout synthesis based on the modular principle of the element base of mechatronic technological complexes. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 229–236 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-229-236>

Введение. В связи с развитием производства и широким применением комплексов технологического оборудования [1], особенно традиционных станкоинструментальных обрабатывающих систем [2], актуальным становится определение понятия «конкурентоспособный станок».

Анализ перспектив развития комплексов технологического оборудования, в частности металлорежущих станков, показывает [3], что они в основном направлены на техническое совершенствование оборудования, создание станков под новые технологические методы обработки и их комбинации, которые имеют локальные области применения [4]. Недостатком отмеченных тенденций развития станкостроения является слабый учет индивидуальных запросов потребителя. Поэтому для того, чтобы станок стал конкурентоспособным, он должен отвечать быстроизменяющимся запросам потребителей оборудования.

На производстве потребитель под станком понимает технологический комплекс или обрабатывающую систему, включающую собственно станок, приспособление, инструмент и заготовку [5]. К характеристикам станка, которые в первую очередь интересуют потребителя, относятся: *служебное назначение* (включающее данные об исходных материалах и готовых изделиях); *производительность* оборудования; тип (серийность) и характер производства (включающий *точность* и другие параметры качества); *гибкость* (определяемую уровнем *автоматизации* и встраиваемостью в современное производство) [6; 7].

По уровню технологических и технических возможностей станки делятся на: универсальные (токарные, сверлильные, фрезерные и др.); специализированные (резьбонарезные, зубообрабатывающие и др.) и специальные (операционные) [5; 6].

Принципиальным отличием универсальных, специализированных и операционных станков является различие в реализуемых на них технологических схемах обработки поверхностей деталей, которые делятся на последовательную, последовательно-параллельную и параллельную обработку и применяются соответственно в такой же последовательности на универсальных, специализированных и операционных станках [8]. Самой низкой по производительности является последовательная схема обработки, применяемая на универсальных станках.

Таким образом, главной характеристикой станка для потребителя является его служебное назначение, показывающее какие поверхности детали, с какой производительностью и точностью или другими параметрами качества можно на нем обрабатывать, а также какими методами осуществляется обработка и на какой уровень автоматизации переналаживаемого гибкого производства рассчитан этот станок.

Анализ потребительских характеристик мехатронных технологических комплексов. Станок предназначен для изготовления определенных поверхностей деталей с диапазонами значений их характеристик качества при соответствующих методах обработки [7; 9].

Анализ *служебного назначения* универсальных, специализированных и операционных станков показывает, что наиболее полно в формулировках служебного назначения отражается назначение операционных станков, где указываются изготавливаемые поверхности со значениями их характеристик и технология их обработки.

Наибольшая неопределенность описания назначения станка отмечается в формулировках служебного назначения универсальных станков.

Например, формулировка назначения вертикального консольно-фрезерного станка 6ДМ12 имеет следующий вид [10] – «станок обеспечивает возможность обширного предела регулирования фрезерных и сверлильных операций: фрезерования плоскостей горизонтальных, наклонных и вертикальных; фрезерования криволинейных поверхностей линейчатого типа профилированными и концевыми фрезами; обработка отверстий и шпоночных пазов; фрезерная обработка с делительными и поворотными столами; с подключением механических подач и вручную».

Как следует из приведенной формулировки [10] служебного назначения, сначала указываются методы обработки, реализуемые станком, и только потом поверхности, которые можно изготовить на станке, а затем указываются некоторые конструктивные особенности станка, используемые инструменты и средства автоматизации. В формулировке не показаны все поверхности, которые можно изготовить на станке.

Неопределенность служебного назначения универсальных станков объясняется тем, что они применяются в единичном и мелкосерийном производствах, отличающихся широкой номенклатурой изготавливаемых деталей, низкой их повторяемостью и непредсказуемостью последовательности их изготовления.

В результате на универсальных станках изготавливаются наборы поверхностей, обеспечивающие наибольшую *производительность* обработки. Такие наборы поверхностей носят зачастую случайный характер, так как зависят от субъективного мнения технолога и отличаются большим разнообразием. Это и является причиной неопределенности служебного назначения универсальных станков.

Если в условиях единичного и мелкосерийного производств применять специализированные или операционные станки с более производительными технологическими схемами обработки, то они будут длительное время простаивать в ожидании поступления деталей с поверхностями, для изготовления которых они предназначены. Кроме того, они разрабатывались для изготовления узкой номенклатуры поверхностей, что при освоении новой продукции потребует расширения станочного парка.

В этих условиях эффективно применение универсальных станков, несмотря на их самую низкую по производительности технологическую схему обработки. При этом неопределенность служебного назначения универсальных станков создает проблемы как у потребителя, так и у производителя.

Для своего производства потребителю не нужны станки с такими широкими техническими и технологическими возможностями, которые имеются у выпускаемых универсальных станков и обрабатывающих центров. В результате потребитель вынужден приобретать станки с избыточными технологическими и техническими возможностями, в том числе и по обеспечению не требуемых параметров качества и *точности*, а следовательно более дорогие и сложные в эксплуатации.

Проблема у производителя заключается в отсутствии научного обоснования рациональной номенклатуры выпускаемых универсальных станков. Не ясно, под какие методы обработки или их комбинации надо создавать станки и какие станкостроительные производства организовывать.

На практике можно наблюдать создание станков для отдельных технологических операций, например, создание токарно-фрезерного станка или технологического комплекса для послейного синтеза заготовки с ее последующей обработкой [1; 2]. К недостаткам таких решений относится узкая область применения оборудования и отсутствие потребности в нем при изменении производственной программы выпуска деталей. Эти недостатки приводят к большому снижению эффективности производства деталей.

Важнейшей характеристикой станков является их *гибкость*, которая должна обеспечиваться по-разному, в зависимости от серийности производства и уровня его *автоматизации* [11; 12].

Гибкость станочного оборудования – способность к быстрому переналаживанию при переходе на изготовление других (новых) деталей. Чем чаще происходит смена изготавливаемых деталей и чем большее число различных деталей требует обработки, тем большей гибкостью должен обладать станок. Гибкость характеризуют двумя показателями – универсальностью и переналаживаемостью. В таком понимании гибкости станков не учитывается изменяющийся объем выпуска деталей, который тоже предъявляет требования к гибкости станков.

В условиях единичного, мелкосерийного и частично среднесерийного производства происходит значительное изменение номенклатуры изготавливаемых деталей и объемов их выпуска. Гибкость станка в этих условиях должна обеспечиваться за счет широких диапазонов изменения элементов режима обработки, возможностей переналадки и перекомпоновки станков. В условиях массового и крупносерийного производства гибкость станка должна обеспечиваться его компоновкой или перекомпоновкой.

Проблема обеспечения гибкости станков в этих условиях возникает, когда в конструкциях изготавливаемых деталей вносятся изменения, требующие замены станков на некоторых технологических операциях, а так же, когда создаются новые крупносерийные и массовые производства других изделий. Тогда гибкость станка в первом случае должна обеспечиваться посредством перекомпоновки станков, а во втором случае посредством их компоновки.

Формирование элементной базы для компоновочного синтеза технологических комплексов. Применение метода компоновки используется при создании агрегатных станков [13]. Реализация такого синтеза требует наличия их элементной базы.

Недостаток элементной базы агрегатных станков, тормозящий развитие их конструкций, заключается в том, что в качестве элементов выступают типовые узлы, определяемые по результатам *статистических исследований их повторяемости* [14].

Статистика использования узлов анализируется как с позиций стандартизации для составления ограничительных перечней на их типоразмеры и исполнения, так и с позиций унификации с оценками возможностей перехода на новые типовые технологические процессы для формирования регламентов обработки отобранных типов деталей.

Процедуры формирования ограничительных перечней элементной базы станков, а также создания регламентов технологических и метрологических операций в наибольшей степени зависят от специфики конкретного производства. Для ряда предприятий, выпускающих большую номенклатуру продукции и оказывающих широкий спектр услуг по запросам заказчиков, использовались различные методы формирования ограничительных перечней [14; 15].

При наличии обширной информации об унифицируемых объектах (обычно для большой номенклатуры изделий) анализировались все моды – локальные максимумы на кривых распределения вероятностных характеристик.

Рассматривалась характеризующая статистические данные выборки частота p_i (или продолжительность) использования элемента i , соответствующая одному из параметров x_i (размеру, точности и т. д.) элемента.

По частоте p_i вычислялись [14]:

$$x_B = \frac{\sum_{i=1}^n x_i p_i}{\sum_{i=1}^n p_i} - \text{выборочная средняя характеристика;}$$

$\Delta_B = x_i - x_B$ – отклонение от общей средней;

$$\sigma_B^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_B)^2 p_i}{\sum_{i=1}^n p_i} - \text{выборочная дисперсия;}$$

$\sigma_B = \sqrt{\sigma_B^2}$ – выборочное среднее квадратичное отклонение.

Изучение рассеяния параметров в окрестностях моды проводилось в сопоставлении с нормальным законом распределения, а при нестабильности рассматриваемых параметров законом распределения случайных величин Лапласа.

Плотность распределения вероятности на рассматриваемом интервале f^*

$$\text{для нормального закона: } f^*(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp[-t^2 / 2] \Delta t;$$

$$\text{для закона Лапласа: } f^*(t) = \frac{1}{\sqrt{2}} \exp[-\sqrt{2}|t|] \Delta t;$$

в которых:

$$t = \frac{x - x_B}{\sigma_B} - \text{нормированное отклонение;}$$

$$\Delta t = \frac{x_{i+1} - x_i}{\sigma_B} - \text{приращение нормированного отклонения на рассматриваемом интервале.}$$

В соответствии с плотностью вероятности пересчитывались частотные характеристики на каждом интервале:

$$p_i^* = f^* \sum_{i=1}^n p_i.$$

По частотным характеристикам рассчитывался критерий Пирсона:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(p_i - p_i^*)^2}{p_i^*},$$

по которому определялась степень соответствия распределения на интервале принятому закону. Степень соответствия распределения случайных величин принятому закону определялась по соотношению Романовского [14]:

$$Q = \frac{\chi^2 - f}{\sqrt{2f}},$$

где f – число степеней свободы, т. е. число групп в изучаемом ряду рассчитанных статистических характеристик и используемых при вычислении теоретического распределения.

Для принятых законов распределения существует две характеристики – это x_B и σ_B . Тогда число степеней свободы $f = N - 2$, где N – число интервалов разбиения рассматриваемого участка распределения случайных величин. При отношении Романовского $Q \leq 3$ был сделан вывод о соответствии рассматриваемых участков принятому закону распределения.

При удовлетворительном, согласно соотношению Романовского, соответствии полученного распределения теоретическому, моду на изученном интервале принимали в качестве позиции для ограничительного перечня, а все остальные позиции в ее окрестности убрали по возможности для того, чтобы пользоваться единой.

В случае, когда при описании объектов (чаще всего типовых) имеются сведения о предпочтительных интервалах использования параметров (элементов), эти интервалы на полигоне распределения разбиваются на участки размером меньше, чем другие. На каждом участке определяются моды распределения вероятностных характеристик, причем шаг разбиения участка для поиска абсолютного максимума также может быть уменьшен.

Когда отсутствует достаточная информация об унифицируемых объектах, рационально использовать наиболее простой метод разбиения статистического распределения параметров на равные интервалы в соответствии с числом позиций, которые целесообразно оставить после унификации. Последующий поиск абсолютных максимумов распределения на всех интервалах разбиения позволяет предложить позиции для начального варианта ограничительного перечня.

Наивысшим приоритетом обладают наиболее часто встречающиеся объекты производства, а также объекты, длительность использования которых в производственных процессах максимальна. В первую очередь сокращается номенклатура объектов и устраняются процессы, редко используемые в производстве и которым может быть достаточно эффективно предоставлена замена.

Проведенные статистические исследования показали [14; 15]: проблема создания элементной базы станков заключается в том, что в их конструкциях содержится значительное число оригинальных элементов, которые не удастся унифицировать. Это приводит в результате к значительному увеличению материальных, трудовых и временных затрат при изготовлении станков.

Таким образом, чтобы станки были конкурентоспособны, они должны удовлетворять индивидуальным запросам потребителя по своему назначению, реализовывать наиболее производительную технологическую схему обработки и быть способными быстро и надежно перестраиваться при изменении производственной программы выпуска деталей. Эффективное решение поставленной проблемы будет только в том случае, если она будет решаться одновременно с совершенствованием технологии изготовления деталей [4].

Функциональные модули и элементная база технологических комплексов. Традиционная технология изготовления деталей предполагает представление детали совокупностями поверхностей при отсутствии указаний на их функциональные связи. В результате с целью достижения наибольшей эффективности на технологических операциях изготавливаются совокупности поверхностей без учета их функциональных связей.

Например, поверхности, образующие комплект баз – торец, отверстие, шпоночный паз могут изготавливаться на разных операциях, что приводит к накоплению погрешностей их относительного положения. В результате потребуется дополнительная технологическая операция для устранения погрешностей.

Принимая во внимание эти недостатки традиционной технологии, предлагается воспользоваться модульной технологией, развивающей подходы, используемые как в единичной, так и в типовой, а также групповой технологии [15].

В основе модульной технологии лежит представление детали не совокупностью отдельных поверхностей, как это делается на традиционных чертежах деталей, а совокупностью модулей поверхностей (МП), где под МП понимается сочетание поверхностей, объединенных по функциональному признаку.

Все разновидности МП содержат 26 видов, которые можно свести к трем классам: базирующие, рабочие и связующие [15; 16]. В свою очередь, каждый вид МП различается несколькими конструктивными решениями, которые характеризуются набором поверхностей, их относительным расположением, размерами и характеристиками качества.

Главное преимущество МП заключается в их конечном числе, что позволяет представлять любую деталь совокупностью МП из этого ограниченного множества. Поэтому станочное оборудование и технологические комплексы в целом надо создавать не под методы обработки или случайные наборы поверхностей, а под изготовление МП.

Под каждый МП разрабатываются средства их технологического обеспечения, включающие модули технологического процесса (МТО) изготовления МП и соответственно: станочного оборудования (МО), инструментальной наладки (МИ), приспособления (МПр) и контрольно-измерительного устройства (МКИ).

Наличие элементной базы данных на модульном уровне позволяет включать в служебное назначение станка не только перечень изготавливаемых МП, но и модули средств составляющих их технологического обеспечения: МТО, МО, МИ, МПр и МКИ.

Таким образом, служебное назначение станка должно включать, в первую очередь, перечень наименований МП с их характеристиками, а также технологии их изготовления.

В итоге потребитель приобретает станок с технологическим сопровождением, что существенно снижает трудоемкость технологической подготовки производства. В результате он может заказывать станок под изготовление требуемой номенклатуры МП. Такие станки должны создаваться методом компоновочного синтеза и иметь возможность переконфигурации в процессе их эксплуатации.

Для решения этой проблемы должна быть сформирована элементная база технологических комплексов.

Общая элементная база станков в настоящее время практически отсутствует, но каждое станкостроительное предприятие имеет свою локальную элементную базу.

Элементная база станков должна строиться с использованием принципов модульной технологии.

Любое машиностроительное изделие, в том числе и станки, можно представить совокупностью модулей *функциональных технологических* (МФТ) и *функциональных обслуживающих* (МФО). МФТ – модуль, с помощью которого изделие как объект эксплуатации выполняет непосредственно свое служебное назначение. Для того чтобы МФТ могли выполнять свои функции, необходимы функциональные обслуживающие модули – МФО.

Например, у токарного винторезного станка в качестве МФТ выступают трехкулачковый патрон для установки заготовки и резцедержатель для установки инструмента, а в качестве МФО выступают коробка скоростей со шпинделем, служащая для установки патрона и придания ему

вращательного движения, суппорт для установки резцедержателя и коробка подач с ходовым винтом, служащая для передачи поступательного движения резцедержателю с инструментом и др.

Отсюда элементная база станков должна состоять из двух частей: элементной базы МФТ и элементной базы МФО.

В результате применение модульного принципа при создании технологических комплексов позволит более эффективно организовать производство станков и средств их оснащения, создавая специализированные производства МФТ и МФО и сборочные производства в станкоинструментальной отрасли.

Заключение. Таким образом, предложена концепция развития металлорежущих станков, базирующаяся на основных положениях:

1. Создаваемые технологические станочные комплексы призваны удовлетворить индивидуальные запросы потребителей, при этом гибкость производственного оборудования должна обеспечивать переход на изготовление новых деталей и смену технологической схемы обработки посредством изменения режимов обработки, переналадки и перекомпоновки станков, а развитие станочного оборудования должно осуществляться одновременно с совершенствованием технологии обработки деталей.

2. Технологические станочные комплексы следует создавать компоновочным синтезом с помощью элементной базы, которая должна содержать две группы модулей функциональных технологических (МФТ) и функциональных обслуживающих (МФО), а служебное назначение станка должно включать номенклатуру изготавливаемых модулей поверхностей (МП) с их характеристиками и модулями средств технологического обеспечения: технологического процесса (МТО), станочного оборудования (МО), инструментальной наладки (МИ), приспособления (МПр) и контрольно-измерительного устройства (МКИ).

Благодарности. Авторы выражают признательность сотрудникам институтов Министерства промышленности Республики Беларусь ОАО «ЦНИИТУ» (генеральный директор С. С. Соколовский) и ОАО «Белоргстанкинпром» (директор П. И. Бычик), а также генеральному директору ОАО «МЗОР» Л. В. Иванько за участие в обсуждении и поддержке предложенной концепции развития металлорежущих станков.

Acknowledgements. The authors express their gratitude to the employees of the institutes of the Ministry of Industry of the Republic of Belarus JSC “TsNIITU” (General Director S. S. Sokolovsky) and JSC “Belorgstankinprom” (Director P. I. Bychik), as well as the General Director of JSC “MZOR” L. V. Ivanko for participation in the discussion and support of the proposed concept for the development of metal-cutting machine tools.

Список использованных источников

1. Теоретические основы проектирования технологических комплексов / А. М. Русецкий [и др.]; под общ. ред. А. М. Русецкого. – Минск, 2012. – 239 с.
2. Конструирование и оснащение технологических комплексов / А. М. Русецкий [и др.]; под общ. ред. А. М. Русецкого. – Минск, 2014. – 316 с.
3. Витязь, П. А. «Индустрия 4.0»: от информационно-коммуникационных и аддитивных технологий к самовоспроизведению машин и организмов / П. А. Витязь, М. Л. Хейфец, С. А. Чижик // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. фіз.-тэхн. навук. – 2017. – № 2. – С. 54–72.
4. Хейфец, М. Л. Проектирование процессов комбинированной обработки / М. Л. Хейфец. – М., 2005. – 272 с.
5. Проектирование металлорежущих станков и станочных систем: справочник-учебник / А. С. Проников [и др.]; под ред. А. С. Проникова. – М., 1994. – Т. I: Проектирование станков. – 444 с.
6. Машиностроение: энцикл. / ред. совет: К. В. Фролов (пред.). – М., 2002. – Т. IV-7: Металлорежущие станки и деревообрабатывающее оборудование / Б. И. Черпаков [и др.]; под ред. Б. И. Черпакова. – 864 с.
7. Хейфец, М. Л. Проектирование мехатронных технологических комплексов для традиционного и аддитивного производства / М. Л. Хейфец // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 6. – С. 739–746. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-6-739-746>
8. Базров, Б. М. Основы технологии машиностроения / Б. М. Базров. – М., 2005. – 736 с.
9. Хейфец, М. Л. Проектирование технологических процессов и оборудования, использующих поля и потоки энергии на основе анализа критериев подобия / М. Л. Хейфец, В. С. Крутько, Н. Л. Грецкий // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т. 65, № 5. – С. 628–635. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-5-628-635>
10. Сахаров, А. В. Определение технологических возможностей токарного станка 16A20Ф3 / А. В. Сахаров, Э. З. Насиров // Инженерный журнал. – 2013. – № 12. – С. 29–35.
11. Базров, Б. М. Гибкость технологической обрабатывающей системы / Б. М. Базров // Вестн. машиностроения. – 2021. – № 5. – С. 81–84.

12. Чуб, О. П. Концепция бережливого производства для гибких производственных систем, понятие гибкости / О. П. Чуб // Евразийское Научное Объединение. – 2019. – № 3-2 (49). – С. 135–141.
13. Врагов, Ю. Д. Анализ компоновок металлорежущих станков: Основы компонетики / Ю. Д. Врагов. – М., 1978. – 208 с.
14. Кусакин, Н. А. Менеджмент качества автотракторного ремонтного предприятия / Н. А. Кусакин, В. С. Точило, М. Л. Хейфец. – Новополоцк, 2009. – 180 с.
15. Базров, Б. М. Модульная технология в машиностроении / Б. М. Базров. – М., 2001. – 368 с.
16. Базров, Б. М. Метод представления изделия как объекта цифровизации производства структурированным множеством модулей / Б. М. Базров, М. Л. Хейфец // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 3. – С. 377–384. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-3-377-384>

References

1. Rusetsky A. M., ed. *Theoretical bases of technological systems designing*. Minsk, 2012. 239 p. (in Russian).
2. Rusetsky A. M., ed. *Design and equipment of technological systems*. Minsk, 2014. 316 p. (in Russian).
3. Vityaz P. A., Kheifetz M. L., Chizhik S. A. «Industry 4.0»: from information and communication and additive technologies to self-reproduction of machines and organisms. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya fizika-technichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physical-technical series*, 2017, no. 2, pp. 54–72 (in Russian).
4. Kheifetz M. L. *Design process of combined processing*. Moscow, 2005. 272 p. (in Russian).
5. Pronikov A. S., ed. *Design of metal-cutting machine tools and machine-tool systems: Handbook-textbook. Vol. 1. Machine tools design*. Moscow, 1994. 444 p. (in Russian).
6. Cherpakov B. I., ed. *Mechanical engineering: Encyclopedia*. Moscow, 2002. 864 p. (in Russian).
7. Kheifetz M. L. Design of mechatronic technological complexes for traditional and additive manufacturing. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 6, pp. 739–746 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-6-739-746>
8. Bazrov B. M. *Fundamentals of Engineering Technique*. Moscow, 2005. 736 p. (in Russian).
9. Kheifetz M. L., Krutko V. S., Gretskiy N. L. Design of technological process and equipment using fields and energy flows based on analysis of similarity criteria. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2021, vol. 65, no. 5, pp. 628–635 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-5-628-635>
10. Sakharov A. V., Nasirov E. Z. Determination of the technological capabilities of the lathe 16A20F3. *Inzhenernyi zhurnal [Engineering Journal]*, 2013, no. 12, pp. 29–35 (in Russian).
11. Bazrov B. M. Flexibility of the technological processing system. *Vestnik mashinostroeniya [Bulletin of mechanical engineering]*, 2021, no. 5, pp. 81–84 (in Russian). <https://doi.org/10.36652/0042-4633-2021-5-81-84>
12. Chub O. P. The concept of lean production for flexible production systems, the concept of flexibility. *Evrasiiskoe Nauchnoe Ob'edinenie [Eurasian Scientific Association]*, 2019, no. 3–2 (49), pp. 135–141 (in Russian).
13. Vragov Yu. D. *Analysis of configurations of metal-cutting machines: Komponetika bases*. Moscow, 1978. 208 p. (in Russian).
14. Kusakina N. A., Tochilo V. S., Kheifetz M. L. *Quality management of an autotractor repair enterprise*. Novopolotsk, 2009. 180 p. (in Russian).
15. Bazrov B. M. *Modular technology in mechanical engineering*. Moscow, 2001. 368 p. (in Russian).
16. Bazrov B. M., Kheifetz M. L. Method of presenting a product as an object of digitalization of manufacturing by a structured set of modules. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2019, vol. 63, no. 3, pp. 377–384 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-3-377-384>

Информация об авторах

Базров Борис Мухтарбекович – д-р техн. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт машиноведения им. А. А. Благонравова РАН (Малый Харитоньевский пер., 4, 101990, Москва, Российская Федерация). E-mail: modul_lab@mail.ru.

Хейфец Михаил Львович – д-р техн. наук, профессор, директор. Институт прикладной физики НАН Беларуси (ул. Академическая, 16, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mlk-z@mail.ru.

Information about the authors

Bazrov Boris M. – D. Sc. (Engineering), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Machine Science of the Russian Academy of Sciences (4, M. Kharitonievsky Per., 101990, Moscow, Russian Federation). E-mail: modul_lab@mail.ru.

Kheifetz Mikhail L. – D. Sc. (Engineering), Professor, Director. Institute of Applied Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (16, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic Belarus). E-mail: mlk-z@mail.ru.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 004.94; 621.373
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-237-246>

Поступило в редакцию 11.03.2022
Received 11.03.2022

В. В. Малеронок¹, Д. А. Ционенко², А. В. Алифанов³

¹Белорусская государственная академия авиации, Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники,
Минск, Республика Беларусь

³Барановичский государственный университет, Барановичи, Республика Беларусь

ЧИСЛЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА МАГНИТНО-ИМПУЛЬСНОЙ ОБРАБОТКИ ОСЕВОГО РЕЖУЩЕГО ИНСТРУМЕНТА В ANSYS

(Представлено академиком А. П. Ласковневым)

Аннотация. Целью данного исследования является анализ результатов численного моделирования процесса магнитно-импульсной обработки (МИО) осевого режущего инструмента в среде ANSYS и выработка на их основе практических рекомендаций, связанных с выбором режимов МИО. С использованием модуля Ansys Electronics Desktop (Maxwell) получено распределение индукционных токов на поверхности сверла, помещенного в индуктор. Временная реализация импульса тока в индукторе соответствует форме экспериментально измеренного импульса, который генерируется установкой МИУ-2. Рассчитана напряженность магнитного поля, которая на глубине 0,1 мм от поверхности сверла достигает $h_{0,1} = 1,247 \cdot 10^7$ [А/м]. Рассмотрены два случая позиционирования сверла в индукторе: полная загрузка сверла (сверло устанавливается на всю длину индуктора) и половинная загрузка сверла (режущие кромки находятся в центре). Анализ показал, что плотность индукционного тока имеет наибольшую величину в канавке сверла при полной загрузке и в области режущих кромок при половинной загрузке. С использованием модуля Ansys Transient Thermal: выполнено моделирование тепловых процессов для двух основных временных интервалов (нагрев сверла в процессе разряда в индукторе при МИО и остывание сверла во время заряда конденсаторной батареи для повторного цикла МИО). Получено распределение температуры для обоих вариантов расположения сверла внутри индуктора и сделан вывод, что для обработки боковой поверхности режущего инструмента (режущей ленточки) необходимо использовать вариант с полной загрузкой, а для обработки режущих кромок, более эффективной является половинная загрузка.

Ключевые слова: магнитно-импульсная обработка, сверло, 3D моделирование, режущий инструмент, программное обеспечение ANSYS

Для цитирования. Малеронок, В. В. Численное моделирование процесса магнитно-импульсной обработки осевого режущего инструмента в ANSYS / В. В. Малеронок, Д. А. Ционенко, А. В. Алифанов // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 237–246. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-237-246>

Vladimir V. Maleronok¹, Dmitry A. Tsionenko², Alexander V. Alifanov³

¹Belarusian State Aviation Academy, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics, Minsk, Republic of Belarus

³Baranovichi State University, Baranovichi, Republic of Belarus

NUMERICAL SIMULATION OF THE MAGNETIC-PULSED PROCESSING OF AXIS CUTTING TOOLS USING ANSYS

(Communicated by Alexander P. Laskovnev)

Abstract. The purpose of this study is an analysis of the numerical simulation results of the magnetic-pulsed processing (MPP) of axis cutting tools using ANSYS. Practical recommendations for the choice of optimal MPP modes are developed on the basis of this analysis. The induction current distribution on the surface of a drill placed in an inductor was obtained using the Ansys Electronics Desktop (Maxwell) module. The time realization of the current pulse in the inductor corresponds to the shape of the experimentally measured pulse waveform. The magnetic pulse is generated by the unit MIU-2. According to the calculation, the magnetic field strength reaches the value $h_{0,1} = 1.247 \cdot 10^7$ [A/m] at a depth of 0.1 mm from the drill surface. Two cases of drill positioning in the inductor are considered: full loading of the drill (the drill is installed on the inductor entire length) and half loading of the drill (the cutting edges are situated in the inductor center). The analysis results show that the density of the induction current has the highest value in the groove of the drill at full loading and in the region of cutting edges at half loading. The numerical simulation of thermal processes was performed for two main time intervals (drill heating

during the discharging in the inductor for the MPP cycle and drill cooling during the charging of the capacitor bank for the repeated MPP cycle) using the Ansys Transient Thermal module. The temperature distribution was obtained for the both options for the location of the drill inside the inductor. The result is that for reinforcing the side surface of the cutting tool (cutting band) the full loading option must be used. For reinforcing the cutting edges the half loading option is more efficient.

Keywords: magnetic pulse technology, drill, 3D modeling, cutting tool, ANSYS software

For citation. Maleronok V. V., Tsionenko D. A., Alifanov A. V. Numerical simulation of the magnetic-pulsed processing of axis cutting tools using ANSYS. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 237–246 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-237-246>

Введение. Магнитно-импульсная обработка (далее – МИО) реализована и широко применяется по двум основным направлениям: формообразование и улучшение физико-механических характеристик изделий. Постоянно ведется усовершенствование установок МИО [1–3]. Одной из основных проблем является подбор оптимальных режимов для проведения обработок различных изделий, поскольку он связан с проведением множества испытаний, при которых варьируются различные параметры процесса МИО: энергия импульса, ток разряда, размеры индуктора и т. д. Это приводит к росту трудозатрат и задействованию производственных мощностей при проведении масштабного эксперимента. Экономически выгодным и научно обоснованным решением является использование имитационного моделирования для оценки конструкторских решений и анализа результатов процессов обработки.

Использование программного обеспечения ANSYS для технического анализа и численного моделирования позволяет получать количественные результаты изучаемых процессов, обеспечивает понимание физики моделируемых процессов и высокий уровень наглядности [4].

Так, в [5; 6] выполнено моделирование и проведен анализ в среде ANSYS (модуль LS-DYNA) процесса формообразования изделий импульсным магнитным полем. Эффект МИО (в данных работах) ограничивается оценкой влияния давления, создаваемого магнитным полем во время разряда в индукторе.

Однако токи, индуцируемые магнитным полем в изделии, не только создают в ней внутреннее магнитное поле, но и нагревают поверхность. Наиболее близкий к реальным условиям подход к моделированию рассмотрен в [7], где помимо формовки давлением отражен тепловой эффект. Анализ выполнен в модуле LS-DYNA, который ограничен в возможностях оценки электромагнитных и тепловых явлений.

Следовательно, основная цель моделирования – расширить понимание процесса МИО осевого режущего инструмента (сверл, фрез, метчиков) с переменным профилем поверхности, осуществить вариацию параметров моделирования и разработать методику выбора оптимальных режимов обработки осевого режущего инструмента.

Исходные данные и условия для моделирования. Для моделирования выбрана установка МИУ-2 (МИП-18), работающая с цилиндрическим индуктором, обеспечивающая максимальную запасаемую энергию 15 кДж (возможность заряда конденсаторных батарей до 11,2 кВ при энергии 9,9 кДж). Установка сконструирована в Физико-техническом институте НАН Беларуси для проведения МИО [8].

Используется индуктор с внутренним диаметром 13 мм (13,5 мм без изоляции) и длиной рабочей зоны 60 мм. Для намотки использовалась прямоугольная медная шина сечением 3×6 мм (3 мм – ширина, 6 мм – высота) с изолирующим слоем 0,25 мм (при моделировании изолирующий слой был представлен воздушным промежутком); число витков индуктора $N = 16$.

Произведем расчет и измерение основных электрических параметров (активное сопротивление R и индуктивность L), необходимых для дальнейшего моделирования в среде ANSYS для шины индуктора с указанными выше параметрами.

Активное сопротивление R определим по формуле

$$R = \rho \Sigma l / S, \quad (1)$$

где ρ – удельное сопротивление материала индуктора; S – площадь поперечного сечения шины индуктора; $\Sigma l = l + \langle l \rangle$ – сумма длин подводящих проводов (имеющих то же сечение, что и шина индуктора) и длины средней линии индуктора; $\langle l \rangle = 2 \pi r N$ – длина средней линии индуктора с $N = 16$ витков; r – радиус индуктора до средней линии (без учета изоляции она равна $9,75 \cdot 10^{-3}$ м).

Подставив табличные значения ($\rho_{\text{медн}} = 1,7 \cdot 10^{-8}$ Ом·м) и конструкторско-технические данные ($S = 3 \cdot 6 = 18 \text{ мм}^2 = 18 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2$; $l = 2 \cdot 300 = 600 \text{ мм} = 0,6 \text{ м}$; $\langle l \rangle = 2 \cdot 3,14 \cdot 9,75 \cdot 10^{-3} \cdot 16 = 0,9797 \text{ м}$) в (1), получим значение активного сопротивления $R = 1,5 \text{ мОм}$.

Индуктивность катушки определяется формулой, полученной в [9]:

$$L = \mu \mu_0 \pi r^2 N^2 / l_0, \quad (2)$$

где μ – магнитная проницаемость материала заготовки (для больших значений напряженности порядка 3); $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7} \text{ Гн/м}$ – магнитная постоянная в системе СИ; r – внутренний радиус индуктора (без изоляции $6,75 \text{ мм} = 6,75 \cdot 10^{-3} \text{ м}$); $N = 16$ – число витков индуктора; $l_0 = 60 \text{ мм} = 0,06 \text{ м}$ – длина рабочей зоны индуктора.

Подставив в (2) табличные и конструкторско-технические данные, получим расчетную величину индуктивности $L = 2,3 \text{ мкГн}$.

Для обеспечения точности моделирования, расчет индуктивности L необходимо заменить измерением, так как при расчетах трудно учесть все потери энергии магнитного потока и влияние, которое оказывает внесение режущего инструмента (сверла) в качестве сердечника индуктора.

Измерение выполним с помощью измерителя L, C, R цифрового E7-12 с устройством присоединительным E7-12. Измерение показало, что индуктивность индуктора с загруженным сверлом диаметром 10 мм равна $L = 1,454 \text{ мкГн}$.

Сравнивая значения индуктивности, полученные на основе измерений и расчетов, приходим к выводу, что рассеяние магнитного потока и присутствие сердечника сложной формы существенно влияют на параметры процесса МИО.

В качестве обрабатываемого инструмента выбрано сверло диаметром 10 мм из стали P6M5 и выполнено его 3D сканирование. После сканирования выполнено построение 3D модели с созданием сетки поверхности (автоповерхности). В качестве окружающей среды при моделировании был выбран атмосферный воздух при нормальных условиях.

Сталь P6M5 (аналог HSS) отсутствует в библиотеке материалов программных модулей ANSYS. В качестве подходящего материала для моделирования и последующего анализа выбрана сталь 1010 (аналог Ст. 10), в связи с наиболее полным описанием ее свойств, в частности, наличием зависимости изменения магнитной проницаемости от напряженности магнитного поля.

Моделирование выполнялось с использованием двух основных блоков ANSYS: Ansys Electronics Desktop (Maxwell) [10] – модуль для электромагнитного анализа (моделирование разряда при МИО и индукционных токов в изделии) и Ansys Transient Thermal [11] – модуль для расчета тепловых процессов (нагрев сверла при разряде конденсатора установки МИО через индуктор и остывание между повторными разрядами).

Исходными данными для моделирования являются основные электрические параметры индуктора (активное сопротивление R и индуктивность L), рассчитанные по (1) и измеренные выше. Также задан закон изменения напряжения при разряде конденсаторной батареи на индуктор:

$$U = U_0 e^{-\beta t} \cos(\omega t), \quad (3)$$

где U_0 – начальное амплитудное значение напряжения; β – коэффициент затухания; t – время моделирования; $\omega = 2\pi f$ – угловая частота; f – частота затухающих колебаний.

Начальное амплитудное значение напряжения $U_0 = 11200 \text{ В}$, согласно конструкторской документации для энергии $9,9 \text{ кДж}$ (энергия обработки), является напряжением заряда конденсаторной батареи. Теоретическое значение коэффициента затухания β принимается равным отношению $R / 2L$. Но это значение не учитывает потери энергии, связанные с рассеиванием магнитного потока и нагревом заготовки. Поэтому в данном случае значение β определено экспериментально и равно 11000 , чтобы получить до 3 периодов (T) затухающих колебаний, как в реальных установках МИО. На рис. 1, а представлена измеренная осциллограмма разрядного импульса, содержащая 2 периода затухающих колебаний.

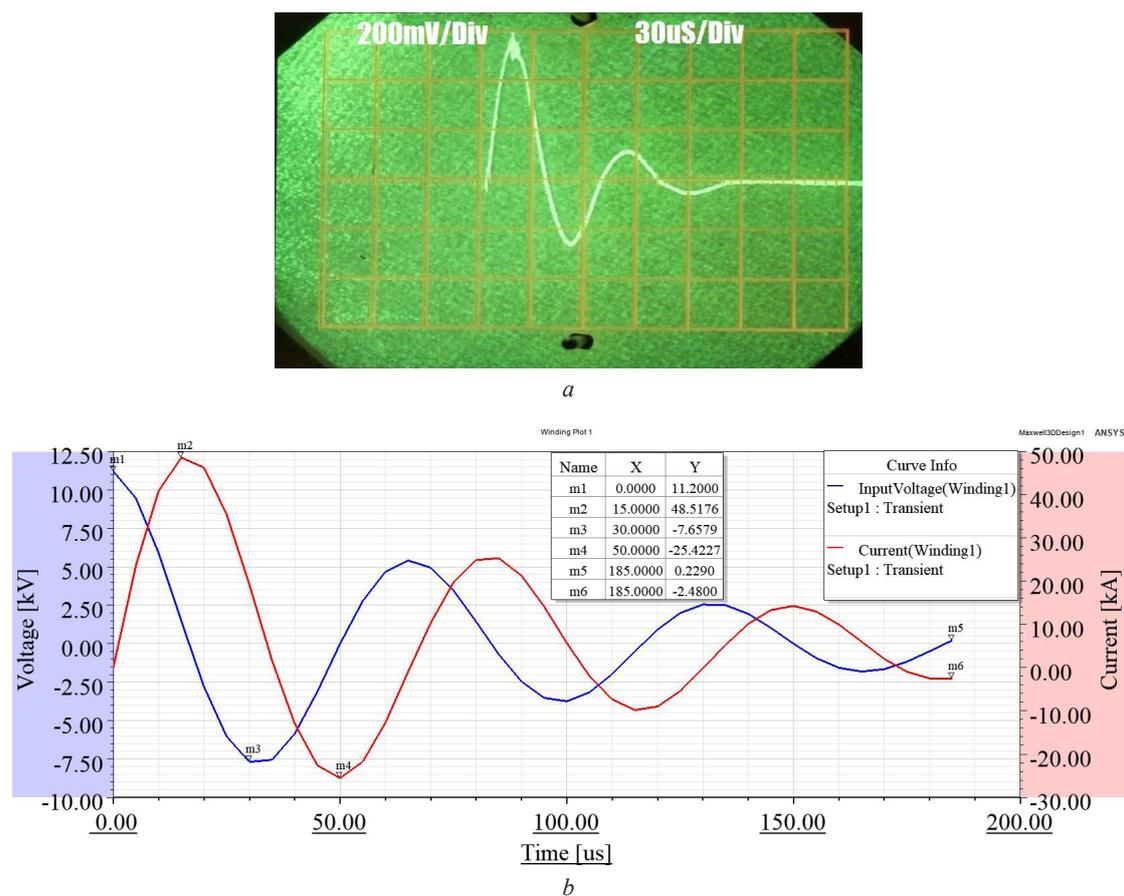


Рис. 1. Переходной процесс разряда в индукторе: *a* – разряд в индукторе, измеренный поясом Роговского [12]; *b* – переходной процесс, полученный в результате моделирования в виде графиков затухающих колебаний тока (I) и напряжения (U)

Fig. 1. The transient process of the discharge in the inductor: *a* – the discharge in the inductor, measured by the Rogowski coil [12]; *b* – the transient process obtained as a result of modeling in the form of graphs of damped oscillations of current (I) and voltage (U)

Частота затухающих колебаний f зависит от конструктивных особенностей установки для МИО и используемого с ней индуктора. Так, модернизированная установка МИУ-2 (МИП-18) с индуктором 60×13 мм, согласно технической документации, работает на частоте 15 кГц.

Время моделирования t выбирается равным времени релаксации переходного процесса в цепи конденсатор–индуктор–заготовка и составляет 3 периода, что обеспечивает достаточную для анализа точность результатов.

Разрядный ток в индукторе при помещении в него сверла рассчитывается в процессе моделирования, как и величина реактивного сопротивления индуктора на указанной частоте.

Результаты и их обсуждение. В результате моделирования получены характеристики переходного процесса разряда конденсатора на индуктор. Результаты представлены в виде графиков затухающих колебаний тока (I) и напряжения (U) (рис. 1, *b*). Величина сдвига фаз между током (I) и напряжением (U) порядка 90° ($T/4$), что говорит об индукционном характере затухающих колебаний ввиду малого значения активного сопротивления (1,5 мОм) относительно реактивного (137 мОм) на частоте 15 кГц. Процесс затухания происходит за время $3T$, что с учетом равенства $T = 1/f$ при $f = 15$ кГц составляет 200 мкс (при моделировании тепловых процессов расчет будет производиться до времени 185 мкс, так как основное воздействие тока разряда ограничено этим временем, что позволит сократить количество расчетных точек).

Согласно расчетам (рис. 1, *b*), максимальный ток разряда достигает значения 48,5 кА (момент времени 15 мкс).

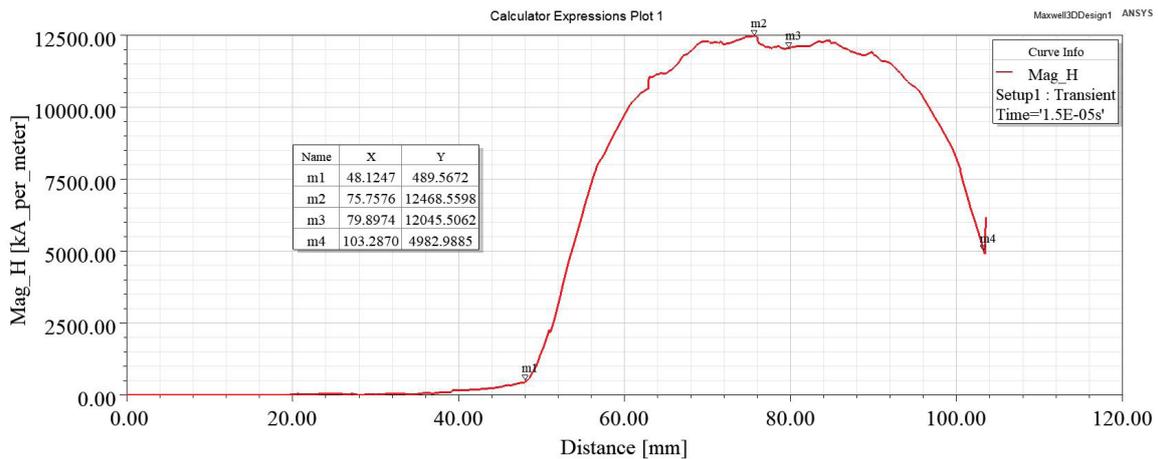


Рис. 2. Напряженность магнитного поля вдоль сверла на глубине 0,1 мм

Fig. 2. Magnetic field strength along the drill at depth of 0.1 mm

Для дальнейшего анализа построим график распределения напряженности магнитного поля вдоль линии параллельной оси сверла, расположенной на глубине $h = 0,1$ мм от поверхности (глубина максимального упрочненного слоя при МИО) (рис. 2).

Напряженность магнитного поля у поверхности сверла ($h = 0,1$ мм) достигает $H_{0,1} = 1,247 \cdot 10^7$ [А/м].

Анализ графика на рис. 2 показывает, что величина напряженности H у поверхности носит ступенчатый характер, что связано с переменным профилем поверхности режущего инструмента (сверла, фрезы, метчики).

Распределение величины напряженности магнитного поля по длине индуктора не равномерное и зависит от положения обрабатываемой точки относительно торцов индуктора [9].

Напряженность поля индуктора конечной длины в точке наблюдения, выражается формулой

$$H = \frac{IN}{2l} (\cos\alpha_1 - \cos\alpha_2), \tag{4}$$

где I – ток возбуждения индуктора; N – количество витков индуктора; l – длина индуктора; α_1, α_2 – углы между осью индуктора и радиус-вектором, проведенным из рассматриваемой точки к концам индуктора; r – радиус индуктора.

Таким образом, по графику, представленному на рис. 2, и на основании формулы (4) можно сделать вывод, что напряженность (следовательно и индукция) достигает максимального значения в сечении, расположенном на половине длины индуктора. Следовательно, для обработки боковой поверхности (режущей ленточки) необходимо использовать вариант с полной загрузкой (сверло устанавливается на всю длину индуктора), а для обработки режущих кромок более эффективно устанавливать сверло режущими кромками в центральной части индуктора (половиная загрузка).

Плотность вихревого индукционного тока $j = I / \Delta S$ зависит от характеристик материала обрабатываемого изделия, его геометрических параметров и режимов обработки МИО следующим образом, см. [9]:

$$j = \frac{\mu\mu_0 S}{\rho \langle l \rangle} \frac{dH}{dt}, \tag{5}$$

где μ – магнитная проницаемость материала заготовки; $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7}$ Гн/м – магнитная постоянная в системе СИ; S – площадь протекания вихревого тока; ρ – удельное сопротивление материала заготовки; $\langle l \rangle = 2\pi(r - 0,5\Delta r)$ – длина средней линии, соответствующей области протекания тока; r – радиус заготовки в цилиндрическом индукторе.

Из (5) видно, что с увеличением скорости изменения напряженности магнитного поля dH / dt , создаваемого индуктором, и при увеличении площади поперечного сечения заготовки S , распо-

ложенной перпендикулярно полю, а также при большом значении относительной магнитной проницаемости μ (заготовка выполнена из магнитного материала), плотность индукционного тока возрастает. Следовательно, при полной загрузке сверла в индуктор (больше площадь протекания вихревого тока S) величина плотности индукционного тока будет выше, чем у варианта с половинной загрузкой сверла, соответственно $J_{\text{полн}} = 1,587 \cdot 10^9$ [A/m²] и $J_{\text{центр}} = 1,389 \cdot 10^9$ [A/m²] (рис. 3, *a, c*).

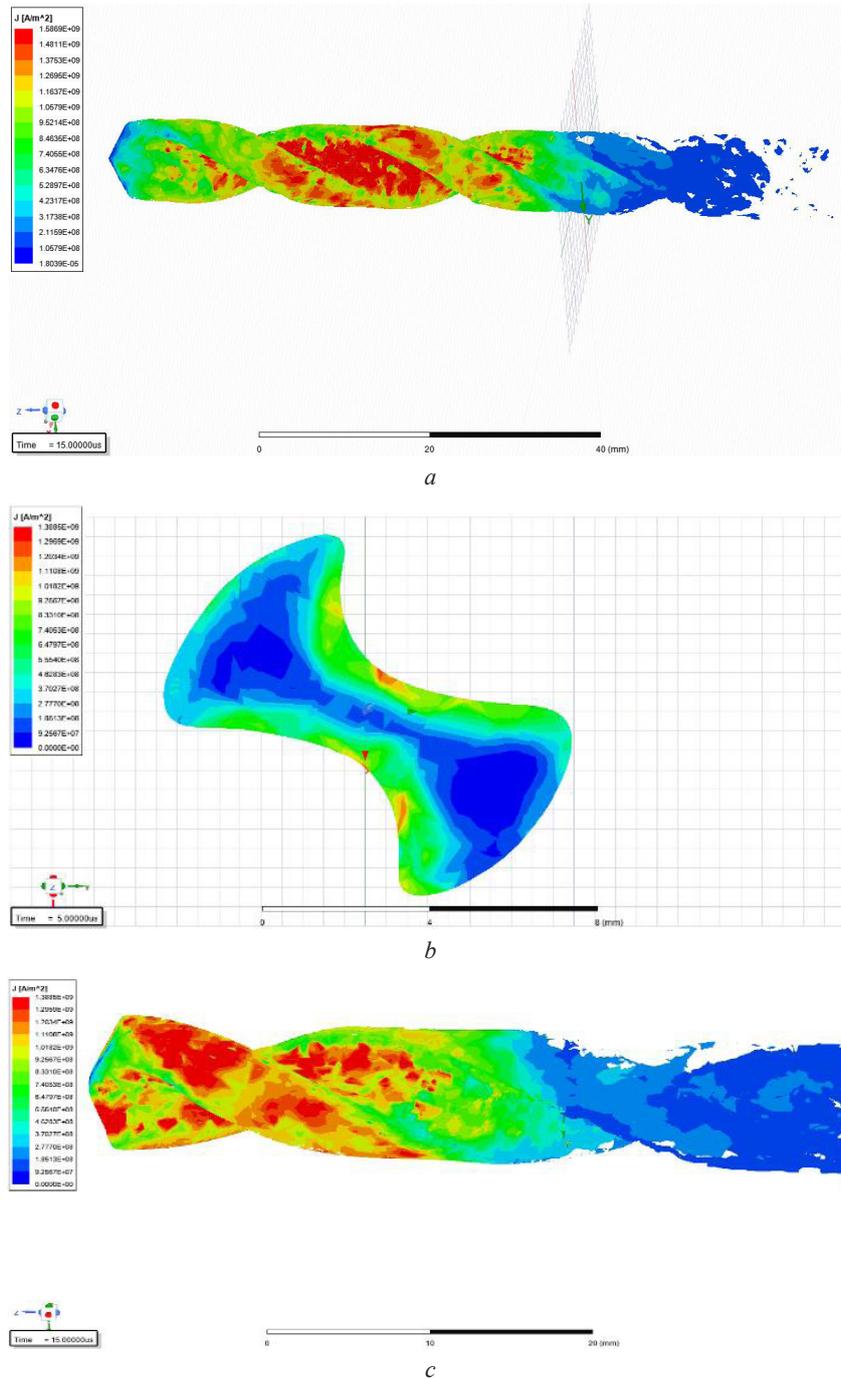


Рис. 3. Распределение плотности индукционного тока: *a* – по объему с полной загрузкой сверла; *b* – по поперечному сечению сверла; *c* – по объему с половинной загрузкой сверла

Fig. 3. Induction current density distribution: *a* – by volume with a full drill load; *b* – along the cross section of the drill; *c* – by volume with a half drill bit load

Значение плотности индукционного тока больше (по всей площади протекания индукционного тока) у варианта с полной загрузкой сверла, но режущие кромки лучше обрабатываются при половинной загрузке сверла (рис. 3, *с*), что обосновано выше.

Воздействие внешним магнитным полем на заготовку приводит к появлению в ней вихревых индукционных токов (токов Фуко). При этом линии тока представляют собой замкнутые линии, повторяющие форму периметра заготовки и расположенные в плоскостях, перпендикулярных силовым линиям магнитного поля индуктора.

Наибольшую величину плотность индукционного тока имеет в канавке сверла, так как циркуляция тока происходит по контуру, периметр которого минимален (по условному цилиндру в центре сверла) (рис. 3, *б*).

При протекании индукционного тока по периметру поперечного сечения заготовки, энергетически выгодным является огибание им острых углов (в области режущей кромки, режущей ленточки) по объему внутри заготовки. Следовательно, эти участки подвергаются меньшему воздействию при МИО, что может являться предохраняющим фактором от перегрева и отпуска закаленного металла.

Для оценки температуры нагрева обрабатываемого инструмента (3D модели) при протекании вихревых индукционных токов импортируем данные, полученные при моделировании в мо-

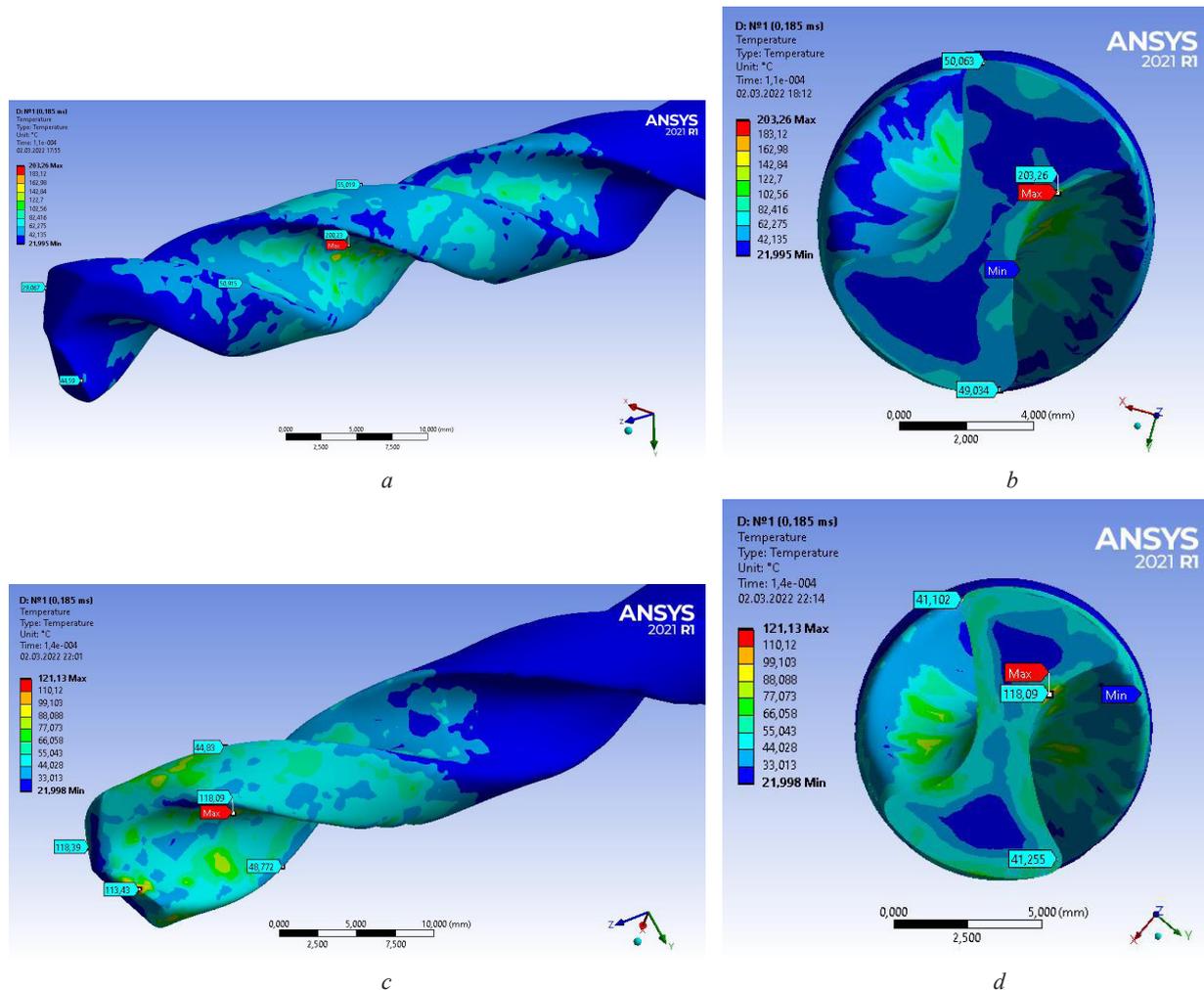


Рис. 4. Распределение температуры (первый разряд) при полной загрузке сверла: *a* – по поверхности; *b* – по поперечному сечению; при половинной загрузке сверла: *c* – по поверхности; *d* – по поперечному сечению
 Fig. 4. Temperature distribution (first discharge) when the drill is fully loaded: *a* – along the surface; *b* – along the cross section; at half load of the drill: *c* – along the surface; *d* – along the cross section

дуле для электромагнитного анализа Ansys Electronics Desktop (Maxwell), в модуль для расчета тепловых процессов Ansys Transient Thermal.

Тепловые процессы будем моделировать для двух основных временных интервалов:

1. Нагрев сверла в процессе разряда в индукторе при МИО (185 мкс – основное время воздействия разрядного тока (рис. 1, *b*));

2. Остывание сверла во время заряда конденсаторной батареи для повторного цикла МИО (6,5 с – время заряда конденсаторов установки МИО до энергии 9,9 кДж).

При моделировании тепловых процессов температура (рис. 4) распределялась по объему сверла аналогично распределению плотности индукционного тока (рис. 3).

При полной загрузке сверла воздействие первого разряда МИО длительностью 185 мкс приводит к нагреву (начальная температура 22 °С) до температуры 203 °С в канавке сверла, порядка до 50 °С на ленточке, а на режущих кромках в среднем до 36,5 °С (рис. 4, *a, b*).

При половинной загрузке сверла воздействие первого разряда МИО длительностью 185 мкс приводит к нагреву с начальной температуры 22 °С до температуры 121 °С в канавке сверла, на ленточке в среднем до 41 °С, а на режущих кромках порядка до 115 °С (рис. 4, *c, d*).

Наибольший нагрев происходит локально, в объеме неоднородностей, а именно в местах дефектов кристаллической решетки или посторонних включений (коррозия, естественное старение, деформация), однако процессы, происходящие в объемах размером порядка микрометра, не могут быть промоделированы средствами ANSYS. Теплота из локально нагретых областей переходит в объем и усредняется по объему в течение порядка 1 мс, вследствие высокой теплопроводности материала сверла. Затем следует процесс остывания сверла во время заряда конденсаторной батареи для повторного цикла МИО (6,5 с). При этом температура поверхности изделия начинает уменьшаться за счет теплообмена уже не между областями сверла, а за счет теплового излучения, молекулярного теплообмена и конвекции окружающей среды, что учтено при моделировании.

Моделирование выполнено для 10 циклов (1 цикл: разряд длительностью 185 мкс и остывание в течение 6,5 с, при котором происходит зарядка). После каждого разряда температура изделия повышается, поскольку в процессе остывания температура изделия не достигает начального значения, т. е. реализуется повторно-кратковременный процесс нагревания, при котором каждый последующий разряд моделируется с начальной температурой, которая равна остаточной температуре предыдущего цикла.

Результаты представлены в виде таблицы максимальной температуры локального нагрева (в канавке сверла) для двух вариантов взаимного расположения индуктора и сверла: с полной загрузкой (сверло устанавливается на всю длину индуктора) и с половинной загрузкой (сверло режущими кромками устанавливается в центральной части индуктора).

Максимальная температура локального нагрева для 10 циклов МИО

Maximum local heating temperature for 10 MPP cycles

Параметр Parametr	Количество циклов Number of cycles									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$T_{\text{полн}}^{\circ\text{C}}$	203	224	243	259	274	288	302	314	326	337
$T_{\text{центр}}^{\circ\text{C}}$	121	137	151	162	172	182	190	197	204	210

Так как в процессе обработки нагреву подвергается не только сверло, но и индуктор, то с целью недопущения его выхода из строя (теплового пробоя изоляции) и сокращения циклов МИО, целесообразно предусмотреть предварительный нагрев обрабатываемого изделия до безопасной начальной температуры. Величина предварительного нагрева должна быть выбрана с учетом последующего нагрева от воздействия циклов МИО и не должна приводить к нагреву до температур вторичной рекристаллизации и отпуску закаленного металла.

Закключение. Для осевого инструмента из быстрорежущих сталей (Р6М5, Р18), имеющего переменный профиль обрабатываемой поверхности (сверла, фрезы, метчики), оценка эффектив-

ности МИО является сложной вычислительной задачей и по результатам моделирования можно сделать следующие выводы:

1. Наибольшую величину сила и плотность индукционного тока, а следовательно, и температура нагрева, имеют в местах изделия, где путь обхода периметра заготовки для индукционного тока минимален (канавка сверла);

2. Для обработки боковой поверхности режущего инструмента (режущей ленточки) необходимо использовать вариант с полной загрузкой (сверло устанавливается на всю длину индуктора), а для обработки режущих кромок, более эффективно устанавливать сверло режущими кромками в центральной части индуктора (на середине).

Список использованных источников

1. Алифанов, А. В. Физика процесса магнитно-импульсного упрочнения стальных изделий, расчет индукторов и параметров процесса / А. В. Алифанов, Д. А. Ционенко, А. М. Милюкова // Перспективные материалы и технологии: в 2 т. / под общ. ред. В. В. Рубаника. – Витебск, 2017. – Т. 2. – С. 31–53.
2. Овчаренко, А. Г. Комбинированная магнитно-импульсная обработка режущего инструмента / А. Г. Овчаренко, А. Ю. Козлюк, М. О. Курепин // Технология машиностроения. – 2010. – № 9. – С. 26–29.
3. Импульсная магнитная установка для упрочнения режущих инструментов / А. С. Орлов [и др.] // Вестн. ИГЭУ. – 2011. – № 4. – С. 35–39.
4. Ansys [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ansys.com>. – Дата доступа: 01.03.2022.
5. Mahmoud, M. An Efficient Computational Model for Magnetic Pulse Forming of Thin Structures / M. Mahmoud, F. Bay, D. Pino Muñoz // Materials. – 2021. – Vol. 14, N 24. – Art. 7645. <https://doi.org/10.3390/ma14247645>
6. Ultra High Power applications designed using the LS-DYNA EMAG solver / G. Mazars [et al.]. – Toulouse, 2013 [Electronic resource]. – Mode of access: https://www.bmax.com/wp-content/uploads/2013/06/UHP_app_designed_with-LSD_EMAG.pdf. – Date of access: 01.03.2022.
7. Chernikov, D. Investigation of the Thermal Effects of Magnetic Pulse Forming using LS-DYNA / D. Chernikov, V. Gluschenkov, P. L'Eplattenier // Conference: 12 th International LS-DYNA Users. 2012 [Electronic resource]. – Mode of access: https://www.researchgate.net/publication/313887639_Investigation_of_the_Thermal_Effects_of_Magnetic_Pulse_Forming_using_LS-DYNA_R. – Date of access: 01.03.2022.
8. Гордиенко, А. И. Инновационные разработки Физико-технического института Национальной академии наук Беларуси / А. И. Гордиенко // Вестн. БарГУ. Сер. Техн. науки. – 2014. – № 2. – С. 34–39.
9. Алифанов, А. В. Исследование упрочненных магнитно-импульсной обработкой поверхностных слоев металлических изделий с помощью токов высокой частоты / А. В. Алифанов, В. В. Малеронок, Д. А. Ционенко // Актуальные проблемы прочности: в 2 т. / под общ. ред. В. В. Рубаника. – Витебск, 2018. – Т. 1. – С. 111–124.
10. Ansoft. Maxwell 3D. Electromagnetic and Electromechanical Analysis [Electronic resource]. – Mode of access: http://ansoft-maxwell.narod.ru/en/CompleteMaxwell3D_V11.pdf. – Date of access: 01.03.2022.
11. Transient Thermal Analysis in Ansys Mechanical Workbench: Dealing with Non-Physical Temperature Results [Electronic resource]. – Mode of access: <https://simutechgroup.com/transient-thermal-analysis-in-ansys-mechanical-workbench-dealing-with-non-physical-temperature-results>. – Date of access: 01.03.2022.
12. Панин, В. В. Измерение параметров импульсных электромагнитных процессов / В. В. Панин, Б. М. Степанов. – М., 1984. – 116 с.

References

1. Alifanov A. V., Tsionenko D. A., Milyukova A. M. Physics of the process of magnetic-pulse hardening of steel products, calculation of inductors and process parameters. *Perspektivnye materialy i tekhnologii: v 2 tomakh* [Perspective materials and technologies: in 2 volumes]. Vitebsk, 2017, vol. 2, pp. 31–53 (in Russian).
2. Ovcharenko A. G., Kozlyuk A. Yu., Kurepin M. O. Combined magnetic-pulse processing of cutting tools. *Tekhnologiya mashinostroeniya* [Engineering Technology], 2010, no. 9, pp. 26–29 (in Russian).
3. Orlov A. S., Poletaev V. A., Markov M. G., Krasilnik'yants E. V. Pulse magnetic hardening machine for cutting tools. *Vestnik Ivanovskogo Gosudarstvennogo Energeticheskogo Universiteta = Vestnik of Ivanovo Power Engineering University*, 2011, no. 4, pp. 35–39 (in Russian).
4. Ansys. Available at: <https://www.ansys.com> (accessed 1 March 2022).
5. Mahmoud M., Bay F., Pino Muñoz D. An Efficient Computational Model for Magnetic Pulse Forming of Thin Structures. *Materials*, 2021, vol. 14, no. 24, art. 7645. <https://doi.org/10.3390/ma14247645>
6. Mazars G., Avriilaud G., Jeanson A.-C., Cuq-Lelandais J.-P. *Ultra High Power applications designed using the LS-DYNA EMAG solver*. Toulouse, France, 2013. Available at: https://www.bmax.com/wp-content/uploads/2013/06/UHP_app_designed_with-LSD_EMAG.pdf (accessed 1 March 2022).
7. Chernikov D., Gluschenkov V., L'Eplattenier P. Investigation of the Thermal Effects of Magnetic Pulse Forming using LS-DYNA. *Conference: 12 th International LS-DYNA Users, 2012*. Available at: https://www.researchgate.net/publication/313887639_Investigation_of_the_Thermal_Effects_of_Magnetic_Pulse_Forming_using_LS-DYNA_R (accessed 1 March 2022).

8. Gordienko A. I. Innovative developments of the Physical-Technical Institute of the National Academy of Sciences of Belarus. *Vestnik Baranovichskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya Tekhnicheskie Nauki = BarSu Herald. Series Engineering*, 2014, no. 2, pp. 34–39 (in Russian).

9. Alifanov A. V., Maleronok V. V., Tsionenko D. A. Investigation of surface layers of metal products hardened by magnetic-pulse treatment using high-frequency currents. *Aktual'nye problemy prochnosti: v 2 tomakh* [Actual problems of strength: in 2 volumes]. Vitebsk, 2018, vol. 1, pp. 111–124 (in Russian).

10. *Ansoft. Maxwell 3D. Electromagnetic and Electromechanical Analysis*. Available at: http://ansoft-maxwell.narod.ru/en/CompleteMaxwell3D_V11.pdf (accessed 1 March 2022).

11. *Transient Thermal Analysis in Ansys Mechanical Workbench: Dealing with Non-Physical Temperature Results*. Available at: <https://simutechgroup.com/transient-thermal-analysis-in-ansys-mechanical-workbench-dealing-with-non-physical-temperature-results> (accessed 1 March 2022).

12. Panin V. V., Stepanov B. M. *Measurement of parameters of impulse electromagnetic processes*. Moscow, 1984. 116 p. (in Russian).

Информация об авторах

Малеронок Владимир Владимирович – преподаватель. Белорусская государственная академия авиации (ул. Уборевича, 77, 220096, Минск, Республика Беларусь). E-mail: s-tm.v.v@mail.ru.

Ционенко Дмитрий Александрович – канд. физ.-мат. наук, доцент, ст. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники (ул. П. Бровки, 6, 220089, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tsiond@tut.by.

Алифанов Александр Викторович – д-р техн. наук, профессор. Барановичский государственный университет (ул. Войкова, 21, 225404, Барановичи, Республика Беларусь). E-mail: alifanov_aav@mail.ru.

Information about the authors

Maleronok Vladimir V. – Lecturer. Belarusian State Aviation Academy (77, Uborevich Str., 220096, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: s-tm.v.v@mail.ru.

Tsionenko Dmitry A. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Assistant Professor, Senior Researcher. Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics (6, P. Brovka Str., 220089, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tsiond@tut.by.

Alifanov Alexander V. – D. Sc. (Engineering), Professor. Baranovich State University (21, Voykov Str., 225404, Baranovich, Republic of Belarus). E-mail: alifanov_aav@mail.ru.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

АГРАРНЫЕ НАУКИ
AGRARIAN SCIENCES

УДК 636.424.082(476)
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-247-256>

Поступило в редакцию 31.03.2022
Received 31.03.2022

**О. Я. Василюк, И. Ф. Гридюшко, академик И. П. Шейко,
Е. В. Орловская, С. М. Квашевич**

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству,
Жодино, Республика Беларусь*

**РОЛЬ И ЗНАЧЕНИЕ ПЛЕМЕННЫХ СВИНЕЙ БЕЛОРУССКОЙ КРУПНОЙ
БЕЛОЙ ПОРОДЫ В СВИНОВОДСТВЕ БЕЛАРУСИ**

Аннотация. Белорусская крупная белая порода свиней характеризуется высокими материнскими качествами, резистентностью, сохранностью молодняка, его откормочной и мясной продуктивностью. Порода эффективно используется для промышленного скрещивания с животными пород йоркшир и ландрас. В сообщении представлены результаты комплексной оценки свиней белорусской крупной белой породы по развитию и продуктивности. Объектом исследований была активная часть чистопородных селекционных стад свиней данной породы, разводимых на племенных предприятиях: сельскохозяйственном филиале «СГЦ «Заднепровский» ОАО «Оршанский комбинат хлебопродуктов», ОАО «СГЦ «Заречье», ОАО «Племенной завод «Тимоново», ОАО «Красная Буда». Основным методом работы с породой являлось чистопородное разведение по линиям. Индивидуальный отбор животных проводился по основным показателям продуктивности, развития и экстерьера. Групповой подбор хряков и маток породы по воспроизводительным качествам осуществлялся на основе бонитировочных данных племенных предприятий. Комплексная оценка свиней белорусской крупной белой породы по развитию и продуктивности показала, что в среднем по породе взрослые хряки в возрасте 36 месяцев имеют живую массу 313,0 кг, длину туловища – 182,0 см, свиноматки – 250,0 кг и 164,0 см соответственно. Показатели продуктивности свиноматок всех подконтрольных племенных стад составляли: многоплодие – 10,2 головы, молочность (масса гнезда в 21 день) – 52,1 кг, количество поросят при отъеме – 9,5 голов. По совокупности всех показателей откормочных и мясных качеств самыми высокими из них характеризуется потомство хряков линий Драчуна 90685 и Смыка 46706 («СГЦ «Заднепровский»). На основе полученных результатов исследований разработаны схемы межлинейного группового подбора свиноматок к хрякам белорусской крупной белой породы на племенных предприятиях республики.

Ключевые слова: селекция, свиньи, белорусская крупная белая порода, подбор, заводская линия, индексная селекция

Для цитирования. Роль и значение племенных свиней белорусской крупной белой породы в свиноводстве Беларуси / О. Я. Василюк [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 247–256. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-247-256>

Oleg Ya. Vasilyuk, Igor F. Gridyushko, Academician Ivan P. Sheiko, Elizaveta V. Orlovskaya, Svetlana M. Kvashevich

*Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Husbandry,
Zhodino, Republic of Belarus*

**ROLE AND SIGNIFICANCE OF BELARUSIAN LARGE WHITE BREED PIGS IN PIG BREEDING
IN BELARUS**

Abstract. The Belarusian Large White breed of pigs is characterized by high maternal performance, resistance, livability of young animals, their fattening and meat productivity. The breed is effectively used for commercial cross breeding with Yorkshire and Landrace pigs. The article contains the results of a comprehensive assessment of the Belarusian Large White breed pigs in terms of development and productivity. The subject of research was the active part of purebred herds of pigs of this breed raised at the following breeding enterprises: agricultural branch “SGC “Zadneprovsky” of JSC “Orsha bread products company”, JSC “SGC “Zarechye”, JSC “Breeding plant “Timonovo”, JSC “Krasnaya Buda”. The main method of working with the breed was the purebred line breeding. Individual selection of animals was carried out according to the

main indicators of productivity, development and conformation. The group matching of boars and sows of the breed by reproductive performance was carried out on the basis of the valuation data of breeding enterprises. A comprehensive assessment of development and productivity of the Belarusian Large White pigs showed that on average, intrabreed adult boars aged 36 months had a live weight of 313.0 kg, a body length of 182.0 cm, and sows had a body length of 250.0 kg and 164.0 cm, respectively. Productivity indicators of sows from all controlled breeding herds were as follows: prolificacy – 10.2 heads, milkability (litter weight on the 21st day) – 52.1 kg, number of piglets at weaning – 9.5 heads. Based on a set of indicators, the progeny of boars of Drachun 90685 and Smyk 46706 lines (“SGC “Zadneprovsky”) have the best fattening and meat quality traits. On the basis of the research results obtained, the schemes of interlinear group matching of sows and boars of the Belarusian Large White breed at the breeding enterprises of the Republic were developed.

Keywords: selection, pigs, Belarusian Large White breed, matching, stud line, index selection

For citation. Vasilyuk O. Ya., Gridyushko I. F., Sheiko I. P., Orlovskaya E. V., Kvashevich S. M. Role and significance of Belarusian Large White breed pigs in pig breeding in Belarus. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 247–256 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-247-256>

Введение. Белорусская крупная белая порода свиней апробирована и утверждена в 2007 г. Животные породы характеризуются высокими материнскими откормочными и мясными качествами, резистентностью и сохранностью молодняка. Белорусская крупная белая порода свиней является материнской основой, необходимой для получения конкурентоспособной свинины от помесного и гибридного молодняка, и с высокой эффективностью используется для промышленного скрещивания с животными пород йоркшир и ландрас¹ [1].

Свиньи породы являются основой формообразующей системы разведения в племенном и промышленном свиноводстве: на первом этапе – для получения родительской свинки F1 и на втором – для создания при ее осеменении специализированными отцовскими генотипами товарного гибрида [2]. Животных белорусской крупной белой породы необходимо включать в формулу финального гибрида при использовании импортных генотипов как минимум 25 % по кровности для обеспечения сохранности и жизнеспособности полученного потомства, а также для повышения качества свинины и экономической эффективности ее производства [2; 3]. Однако в настоящее время по ряду причин поголовье свиней белорусской крупной белой породы неуклонно сокращается. В республике на время исследовательских работ оставалось только четыре базовых племенных предприятия: ОАО «Племенной завод «Тимоново», ОАО «Красная Буда», ОАО «СГЦ «Заречье», с/х филиал СГЦ «Заднепровский» ОАО «Оршанский КХП». Только в этих хозяйствах проводится вся селекционная работа по совершенствованию и использованию селекционных стад свиней породы [1; 3].

Для решения проблемы сохранения породы и ее совершенствования на племенных предприятиях следует использовать более современные методы селекционной оценки свиней, а также адекватную оценку племенных животных на уровне генома, т. е. по истинному генетическому потенциалу [4–9].

Эффективность отбора в высокой степени связана с правильной оценкой племенной ценности животных по ряду селекционируемых признаков. Учитывая то, что количество этих признаков значительно, стоит задача интегрировать их в единый оценочный комплекс. Одним из таких комплексов является оценка по селекционным индексам [9–11]. Селекционные индексы представляют собой качественно новый подход к оценке животных. Они являются той шкалой отбора, на основании которой можно количественно дифференцировать животных по продуктивности, т. е. ранжировать их по значению селекционного индекса и определить в соответствующие группы племенного и пользовательного назначения, либо выбраковать из стада [12–14].

Целью работы являлось проведение комплексной оценки свиней белорусской крупной белой породы по развитию и продуктивности в базовых племенных предприятиях республики и разработка схем подбора свиней белорусской крупной белой породы по воспроизводительным качествам.

Материалы и методы исследований. Объект исследований – активная часть чистопородных селекционных стад свиней белорусской крупной белой породы, разводимых на племенных

¹ Свиньи. Белорусская крупная белая: патент на селекционное достижение № 3785 / А. М. Бырда [и др.] – № 9252359, заявл. 14.03.2007; зарег. 28.11.2007.

предприятиях: сельскохозяйственном филиале «СГЦ «Заднепровский» ОАО «Оршанский комбинат хлебопродуктов», ОАО «СГЦ «Заречье», ОАО «Племенной завод «Тимоново», ОАО «Красная Буда».

Методы исследований – внутривидовая селекция (линейное разведение, кроссы линий, «прилитие крови», вводное и поглотительное скрещивание), индексная селекция, контрольный откорм.

Основным методом работы с породой являлось чистопородное разведение по линиям. Индивидуальный отбор животных проводился по основным показателям продуктивности, развития и экстерьера.

Воспроизводительные качества свиноматок белорусской крупной белой породы оценивались по показателям: многоплодие (количество живых поросят) (X_1), масса поросят в 21 день (молочность) (X_2), количество поросят при отъеме (голов) (X_3) и масса гнезда при отъеме (кг) (X_4). Индекс воспроизводительных качеств (ИВК) определялся по формуле: $ИВК = 1,1X_1 + 0,3X_2 + 3,3X_3 + 0,67X_4$ ¹.

Групповой подбор хряков и маток породы по воспроизводительным качествам осуществлялся на основе бонитировочных данных племенных предприятий.

Биометрическая обработка материалов исследований проведена методами вариационной статистики по П. Ф. Рокицкому [15].

Результаты и их обсуждение. Проведен сбор первичных материалов бонитировочной оценки племенных свиней белорусской крупной белой породы в базовых хозяйствах республики. По данным бонитировки на 01.01.2021, поголовье племенных животных в селекционных стадах составило 5805 голов, в том числе 98 основных хряков и 2515 свиноматок, а также 147 ремонтных хрячков и 2099 свинок (табл. 1).

Таблица 1. Численность племенных свиней по хозяйствам и половозрастным группам на 01.01.2021
Table 1. The number of breeding pigs by farms and sex and age groups as of 01.01.2021

Племпредприятие Breeding enterprise	Половозрастная группа, голов Gender and age group, heads						Всего голов Total goals
	хряки boars		свиноматки sows		ремонтный молодняк replacement young		
	основные main	проверяемые verifiable	основные main	проверяемые verifiable	хрячки boars	свинки pigs	
<i>Племзаводы</i>							
«Тимоново»	15	–	208	54	1	251	529
«Красная Буда»	24	14	250	196	20	206	710
Итого по племзаводам	39	14	458	250	21	457	1239
<i>Селекционно-гибридные центры</i>							
«Заднепровский»	38	3	1462	502	95	1436	3536
«Заречье»	21	2	595	175	31	206	1030
Итого по СГЦ	59	5	2057	677	126	1642	4566
Итого по стадам	98	19	2515	927	147	2099	5805

Генеалогическую структуру породы составляют 11 плановых линий: Лафет 24939; Сват 17385; Скарб 5007; Сябр 903 и 202065; Сталактит 8387; Смык 308; Свитанак 3884; Секрет 1347; Драчун 90685; Драчуна 562 и 16 родственных групп: Сват 3487; Самсон 1441; Сталактит 10799; Секрет 4813; Дельфин 4589 и 4513; Драчун 4173 и 6461; Лафет 4145; Монэф 25985; Ковбой 13126; Казак 6499; Уффо 2596; Ятти 107; Спургас 6853; Нерас 6477. Кроме того, в хозяйствах используются хряки-одиночки белорусской крупной белой породы, а также пород крупной белой и йоркшир зарубежной селекции с целью «прилития крови» для улучшения мясо-откормочных качеств заводских популяций.

¹ Способ комплексной оценки репродуктивных качеств свиноматок: патент 2340178 RU, С2 МПК А01К 67/02. / И. П. Шейко, Н. А. Лобан, О. Я. Василюк, И. С. Петрушко, А. С. Чернов, Р. И. Шейко; заяв. НПЦ НАН Беларуси по животноводству». – № 2006118083/13; заявл. 26.05.2006; опубл. 10.12.2008; Способ прогнозирования эффекта гетерозиса в свиноводстве: патент 2340179 RU, С2 МПК А01К 67/02. / И. П. Шейко, Н. А. Лобан, О. Я. Василюк, И. С. Петрушко, А. С. Чернов; заяв. НПЦ НАН Беларуси по животноводству; заявл. 26.05.2006; опубл. 10.12.2008.

Проведена комплексная оценка свиней белорусской крупной белой породы по развитию и продуктивности в базовых племенных предприятиях республики.

Развитие. В среднем по породе взрослые хряки в возрасте 36 месяцев имеют живую массу 313,0 кг, длину туловища – 182,0 см, свиноматки – 250,0 кг и 164,0 см соответственно (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Развитие хряков и свиноматок крупной белой породы в возрасте 36 месяцев

T a b l e 2. Development of boars and sows of the Large White breed at the age of 36 months

Племпредприятие Breeding enterprise	Хряки Boars			Свиноматки Sows		
	Голов Goals	Живая масса, кг Live weight, kg	Длина туловища, см Torso length, cm	Голов Goals	Живая масса, кг Live weight, kg	Длина туловища, см Torso length, cm
<i>Племзаводы</i>						
«Тимоново»	14	257,0	179,0	54	262,0	165,0
«Красная Буда»	6	302,0	181,0	46	242,0	165,0
В среднем по племзаводам	20	280,0	180,0	100	252,0	165,0
<i>Селекционно-гибридные центры</i>						
«Заднепровский»	3	313,0	181,0	95	247,0	160,0
«Заречье»	8	359,0	185,0	130	247,0	166,0
В среднем по СГЦ	11	346,0	183,0	225	247,0	163,0
В среднем по породе	31	313,0	182,0	325	250,0	164,0

Анализ уровня развития хряков и маток в разрезе племенных стад указывает на некоторые отклонения их признаков. Можно отметить, что более высокая живая масса и длина туловища как хряков, так и маток отмечается на СГЦ. Очевидно, это связано с более благоприятным влиянием средовых факторов и, следовательно, более интенсивным ростом животных на всех этапах онтогенеза. В данном случае сказывается положительное влияние более высокого уровня кормления и технологии содержания животных. Следует отметить уровень развития хряков из СГЦ «Заречье», средняя длина туловища которых достигла 185,0 см при живой массе 359,0 кг.

Продуктивность. По состоянию на 01.01.2021 во всех подконтрольных племенных стадах (2 племзавода и 2 СГЦ) имелось 1890 основных свиноматок (табл. 3). Показатели их продуктивности составляли: многоплодие – 10,2 головы, молочность (масса гнезда в 21 день) – 52,1 кг, количество поросят при отъеме – 9,5 голов.

Т а б л и ц а 3. Продуктивность племенных свиноматок белорусской крупной белой породы (по основному стаду)

T a b l e 3. The productivity of breeding sows of the Belarusian Large White breed (for the main herd)

Племпредприятие Breeding enterprise	n	Многоплодие, голов Multiple pregnancy, heads	Молочность, кг Milk content, kg	Количество поросят при отъеме, голов Number of piglets at weaning, heads	Масса гнезда при отъеме, кг Nest weight at weaning, kg	Сохранность, % Safety, %
«Тимоново»	250	9,5	50,3	8,8	153,4	92,6
«Красная Буда»	166	9,8	51,0	9,2	165,0	93,9
В среднем по племзаводам	416	9,7	50,7	9,0	159,2	92,8
«Заднепровский»	1014	10,5	56,7	9,9	168,5	94,3
«Заречье»	460	10,7	50,3	9,9	163,0	92,5
В среднем по СГЦ	1474	10,6	53,5	9,9	165,8	93,4
В среднем по породе	1890	10,2	52,1	9,5	162,5	93,1

Можно отметить, что практически по всем показателям продуктивности животные, используемые на СГЦ, превосходят своих аналогов из племзаводов: по многоплодию – на 0,9 головы, или 9,3 %, молочности – на 2,8 кг, или 9,5 %, количеству поросят при отъеме – на 0,9 головы, или 10,0 %, массе гнезда при отъеме – на 9,3 кг, или 4,1 % и сохранности поросят – на 0,6 %. Максимальный показатель по многоплодию отмечен в СГЦ «Заречье» – 10,7 поросенка. Продуктивность племенных свиноматок ведущей группы породы представлена в табл. 4.

Т а б л и ц а 4. Продуктивность племенных свиноматок ведущей группы белорусской крупной белой породы

T a b l e 4. The productivity of breeding sows of the leading group of the Belarusian Large White breed

Племпредприятие Breeding enterprise	<i>n</i>	Многоплодие, голов Multiple pregnancy, heads	Молочность, кг Milk content, kg	Количество поросят при отъеме, голов Number of piglets at weaning, heads	Масса гнезда при отъеме, кг Nest weight at weaning, kg	Сохранность, % Safety, %
«Тимоново»	75	10,8	52,7	8,8	167,0	81,5
«Красная Буда»	96	10,3	51,9	9,6	171,0	93,2
В среднем по племзаводам	171	10,6	52,3	9,2	169,0	87,4
«Заднепровский»	729	10,9	57,0	9,9	177,9	90,1
«Заречье»	250	11,8	55,8	10,0	164,7	84,7
В среднем по СГЦ	979	11,4	56,4	10,0	171,3	87,4
В среднем по породе	1150	11,0	54,4	9,6	170,2	87,4

Из данных таблицы можно сделать вывод, что по всем показателям продуктивности матки ведущих групп из СГЦ имеют преимущество перед животными, выращиваемыми на племенных заводах.

Следует отметить стадо основных маток породы из «СГЦ «Заречье» и СГЦ «Заднепровский», где при многоплодии 11,8 и 10,9 поросят животные имели молочность 55,8 и 57,0 кг соответственно.

Особый интерес для дальнейшей селекционной работы представляет анализ продуктивности свиноматок белорусской крупной белой породы в зависимости от их линейной принадлежности (табл. 5, 6).

Т а б л и ц а 5. Продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы в зависимости от их линейной принадлежности

T a b l e 5. The productivity of sows of the Belarusian Large White breed, depending on their linear affiliation

Линия и родственная группа Lineage and related group	<i>n</i>	Продуктивность Productivity					ИВК, баллов IRQ, points
		Многоплодие, голов Multiple pregnancy, heads	Масса гнезда в 21 день, кг Nest weight at 21 days, kg	Отъем в 60 дней Weaning at 60 days			
				Количество поросят на 1 опорос, голов Number of piglets per 1 farrow, heads	Масса гнезда, кг Nest weight, kg	Масса 1 поросенка, кг Weight of 1 piglet, kg	
<i>n</i> /з «Тимоново»							
Дельфин 4513	3	10,6	52,4	9,7	143,0	14,7	115,1
Драчун 6461	6	10,2	50,1	9,2	159,2	17,3	123,3
Лафет 4145	3	10,3	50,9	9,4	157,7	16,8	123,3
Сват 17385	7	9,3	51,5	9,3	161,2	17,3	124,2
Ятти 107	13	10,0	51,4	9,5	166,9	17,6	129,6
Нерас 6477	7	10,4	51,5	9,6	169,7	17,7	132,3
В среднем	39	10,13 ± 0,19	51,30 ± 0,31	9,45 ± 0,08	159,62 ± 3,82	16,90 ± 0,46	124,7
<i>n</i> /з «Красная Буда»							
Секрет 4813	40	8,9	47,0	8,8	89,5	10,2	112,9
Самсон 1441	2	8,9	46,3	8,9	82,6	9,3	108,3
Свитанак 3884	6	8,57	46,1	8,5	83,6	9,9	107,1
Скарб 5007	7	8,7	46,3	8,7	81,5	9,3	107,0
Сталактит 10799	6	9,1	48,1	9,1	87,5	9,6	113,0
Спургас 6853	4	9,1	48,6	9,0	90,8	10,0	115,2
Сват 3487	2	8,9	46,8	8,8	81,3	9,2	107,3
Казак 6499	8	9,0	47,5	8,9	86,9	9,8	111,9
Ятти 107	9	9,1	48,8	9,0	87,4	9,7	113,0
Дельфин 15247	4	8,9	47,0	8,9	83,2	9,4	108,9
Драчун 18329	1	9,2	49,3	9,2	86,0	9,3	112,9
Лафет 6187	6	9,3	48,2	9,2	86,8	9,4	113,2
В среднем	95	8,97 ± 0,06	47,49 ± 0,31	8,92 ± 0,06	85,59 ± 0,90	9,59 ± 0,09	110,9

Окончание табл. 5

Линия и родственная группа Lineage and related group	n	Продуктивность Productivity					ИВК, баллов IRQ, points
		Многоплодие, голов Multiple pregnancy, heads	Масса гнезда в 21 день, кг Nest weight at 21 days, kg	Отъем в 60 дней Weaning at 60 days			
				Количество поросят на 1 опорос, голов Number of piglets per 1 farrow, heads	Масса гнезда, кг Nest weight, kg	Масса 1 поросенка, кг Weight of 1 piglet, kg	
<i>СГЦ «Заречье»</i>							
Сват 17385	34	11,1	51,0	9,97	72,3	7,2	108,9
Скарб 5007	17	11,7	50,6	9,98	72,7	7,3	109,77
Дельфин 4589	13	11,0	51,4	10,00	71,2	7,1	108,3
Ковбой 13126	53	11,3	50,5	9,97	72,5	7,3	109,1
Самсон 1441	23	10,2	50,6	9,90	71,4	7,2	106,9
Свитанок 3884	13	11,6	51,5	9,80	76,2	7,8	111,6
Каньон 33-М	4	10,0	51,3	10,13	71,9	7,1	108,0
Секрет 4813	18	11,4	50,5	9,91	69,4	7,0	106,9
Каштан 277-М	22	12,7	50,1	9,99	73,2	7,3	111,0
Лафет24939	10	11,4	51,4	9,91	75,8	7,6	111,4
Казак 6499	5	12,4	52,4	10,30	78,1	7,6	115,7
Уффо 2596	11	11,1	51,3	10,10	70,6	7,0	108,2
Монэф 25986	19	10,9	49,6	9,85	69,4	7,0	105,8
Ятти 107	12	10,8	49,6	9,97	69,7	7,0	106,3
Драчун 4173	12	11,33	50,7	9,98	69,8	7,0	107,4
В среднем	266	11,26 ± 0,2	50,83 ± 0,19	9,98 ± 0,03	72,27 ± 0,68	7,23 ± 0,07	109,0

Таблица 6. Продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы в СГЦ «Заднепровский» в зависимости от их линейной принадлежности

Table 6. The productivity of sows of the Belarusian Large White breed in the breeding center “Zadneprovsky” depending on their linear affiliation

Линия и родственная группа Lineage and related group	n	Продуктивность Productivity					ИВК, баллов IRQ, points
		Многоплодие, голов Multiple pregnancy, heads	Масса гнезда в 21 день, кг Nest weight at 21 days, kg	Отъем в 35 дней Weaning at 35 days			
				Количество поросят на 1 опорос, голов Number of piglets per 1 farrow, heads	Масса гнезда, кг Nest weight, kg	Масса 1 поросенка, кг Weight of 1 piglet, kg	
Драчун 90685	65	10,9	57,0	9,9	98,2	9,9	127,6
Секрет 1347	89	11,1	56,5	9,9	97,6	9,8	127,2
Сват 3487	156	11,2	57,4	9,9	97,9	9,9	127,8
Сталактит 8387	72	11,3	56,2	9,8	96,9	9,9	126,6
Сябр 202065	61	10,9	57,2	9,9	98,9	10,0	128,1
Смык 308	72	11,1	57,0	9,8	96,5	9,8	126,3
Свитанак 3884	33	11,4	57,4	10,0	98,6	9,8	128,8
Сябр 903	32	11,0	56,6	9,8	96,4	9,8	126,0
Драчун 562	67	11,4	56,0	9,9	96,6	9,7	126,4
Скарб 5007	120	11,0	57,0	9,8	97,6	9,9	126,9
В среднем	767	11,13 ± 0,06	56,83 ± 0,15	9,87 ± 0,02	97,52 ± 0,28	9,85 ± 0,03	127,20

Анализ оценки продуктивности свиноматок белорусской крупной белой породы показал значительные различия показателей продуктивности в зависимости от линейной принадлежности и типа племпредприятия.

Из-за значительного количества учитываемых признаков и широкого их варьирования общий анализ результатов исследований несколько затруднен. Для комплексной оценки воспроиз-

водительных качеств свиней материнских пород использовался комплексный индекс воспроизводительных качеств – ИВК.

Самые высокие показатели ИВК отмечены в п/з «Тимоново» при среднем значении ИВК, составляющем 124,7 балла, у животных линий Ятти 107 и Нераса 6477 (129,6 и 132,3 балла соответственно). В п/з «Красная Буда» можно отметить свиноматок линий Спургаса 6853 (115,2 балл), Лафета 6187 (113,2), Сталактита 10799 (113,0 балл). Среднее значение показателя ИВК здесь составляло 110,9 балла. В СГЦ «Заречье» можно отметить свиней линий Свитанка 3884 (111,6 баллов) и Казака 6499 (115,7 баллов) при среднем показателе ИВК 109,0 баллов. В СГЦ «Заднепровский» при среднем значении ИВК, составляющем 127,2 балла, можно отметить свиноматок линий Свитанка 3884 (128,8 баллов) и Сябра 202065 (128,1 балл).

Отсутствие республиканской контрольно-испытательной станции по свиноводству не позволяет в полной мере оценить хряков и маток (проверено лишь 6,0 % хряков в КСУП «СГЦ «Заднепровский»), что отрицательно сказывается на эффективности селекции, особенно по мясным качествам.

Проведенные исследования показали, что среди селекционных стад свиней белорусской крупной белой породы, выращиваемых на племенных заводах и селекционно-гибридных центрах, наиболее высокими показателями мясо-откормочных качеств характеризуются животные из СГЦ «Заднепровский».

Продуктивность хряков белорусской крупной белой породы в «СГЦ «Заднепровский» по откормочным и мясным качествам потомков в зависимости от линейной принадлежности представлены в табл. 7.

Т а б л и ц а 7. Продуктивность хряков белорусской крупной белой породы в СГЦ «Заднепровский» по откормочным и мясным качествам потомков в зависимости от линейной принадлежности

Table 7. The productivity of boars of the Belarusian Large White breed in the SGC “Zadneprovsky” according to the fattening and meat qualities of the offspring, depending on the linear affiliation

Линия и родственная группа Lineage and related group	n	Откормочные качества Fattening qualities			Мясные качества Meat qualities		
		Возраст достижения живой массы 100 кг, дней Age of reaching 100 kg live weight, days	Среднесуточный прирост, г Average daily gain, g	Затраты корма на 1 кг прироста, к. ед. Feed costs per 1 kg of growth, f. u.	Толщина шпика, мм Fat thickness, mm	Длина туши, см Carcass length, cm	Масса задней трети полутуши, кг Weight of the rear third of the half carcass, kg
Драчун 90685	13	187	717,0	3,54	24,0	96,3	11,2
Драчун 562	41	196	661,0	3,82	24,3	96,3	10,9
Секрет 1347	38	193	676,3	3,76	24,7	96,9	10,9
Сват 751	12	197	655,0	3,82	23,0	97,4	11,2
Сват 3487	14	192	684,0	3,68	23,0	97,6	11,2
Сталактит 8387	37	195	667,7	3,80	24,0	96,7	11,0
Сябр 202065	13	196	662,0	3,83	24,0	96,0	10,9
Сябр 903	32	195	666,0	3,83	24,0	96,7	11,0
Смык 46706	24	191	692,0	3,68	23,5	97,0	11,3
Свитанок 3884	32	197	662,3	3,82	24,0	96,3	11,0
Скарб 5007	24	193	681,0	3,75	24,5	96,5	11,2
В среднем	280	194 ± 0,91	675 ± 5,42	3,76 ± 0,03	23,9 ± 0,16	96,7 ± 0,15	11,1 ± 0,04

Анализ результатов таблицы показал, что возраст достижения живой массы 100 кг самым коротким был у потомства хряков линий Драчуна 90685 (187,0 дней) и Смыка 46706 (191,0 день), среднесуточный прирост живой массы был выше по сравнению со средним также у потомков линий Драчуна 90685 (717 г) и Смыка 46706 (692 г).

Толщина шпика самой низкой была у потомков хряков линий Свата 751 и Свата 3487 (23,0 мм). В целом длина туши у всех животных была достаточно близка и составляла 96,3–97,6 см. Масса задней трети полутуши самой высокой была у потомства хряков линий Драчуна 90685 (11,2 кг) и Смыка 46706 (11,3 кг).

По совокупности всех показателей откормочных и мясных качеств самыми высокими из них характеризуется потомство хряков линий Драчуна 90685 и Смыка 46706.

Разработаны схемы подбора свиней белорусской крупной белой породы по воспроизводительным качествам.

Оценивались воспроизводительные качества линий и родственных групп свиноматок белорусской крупной белой породы (межлинейное скрещивание) с учетом ИВК с целью выявления сочетаний животных, позволяющих получить гетерозисный эффект по воспроизводительным качествам.

На основании полученных данных предложены схемы межлинейного группового подбора свиноматок белорусской крупной белой с хряками белорусской крупной белой породы на племенных предприятиях республики. В качестве образца показана схема межлинейного группового подбора хряков и свиноматок белорусской крупной белой породы по воспроизводительным качествам с учетом ИВК на СГЦ «Заднепровский» (табл. 8).

Т а б л и ц а 8. Схема межлинейного группового подбора свиноматок к хрякам белорусской крупной белой породы по воспроизводительным качествам с учетом индекса воспроизводительных качеств на СГЦ «Заднепровский»

Table 8. Scheme of interlinear group selection of sows to boars of the Belarusian Large White breed in terms of reproductive qualities, taking into account the index of reproductive qualities at the SGC “Zadneprovsky” breeding center

Линии, родственные группы маток Lines related to uterus groups	Линии, родственные группы хряков Lines related to boar groups
Драчуна 90685	Свитанак 3884 (128,2*), Сябр 202065 (127,8), Сват 3487 (127,7), Драчун 90685 (127,6)
Секрета 1347	Свитанак 3884 (128,1), Драчун 90685 (127,4), Секрет 1347 (127,4), Скарб 5007 (127,1)
Свата 3487	Сват 3487 (127,80), Сябр 202065 (127,9), Сталактит 8387 (127,2), Смык 308 (127,1)
Сталактита 8387	Свитанак 3884 (127,7), Драчун 90685 (127,3), Сват 3487 (127,2)
Сябра 202065	Сябр 202065 (128,1), Секрет 1347 (127,7), Скарб 5007 (127,5)
Смыка 308	Свитанак 3884 (127,6), Сват 3487 (127,2), Драчун 90685 (126,9)
Свитанка 3884	Сябр 202065 (128,5), Секрет 1347 (128,0), Скарб 5007 (127,9)
Сябра 903	Свитанак 3884 (127,4), Сват 3487 (126,9), Драчун 90685 (126,8)
Драчуна 562	Сябр 202065 (127,2), Секрет 1347 (126,8), Драчун 562 (126,37)
Скарба 5007	Свитанак 3884 (127,9), Сябр 202065 (127,5), Сват 3487 (127,4), Драчун 90685 (127,2)

П р и м е ч а н и е: * – сочетаемость по индексу воспроизводительных качеств.

N o t e: * – compatibility according to the index of reproductive qualities.

Анализ схемы межлинейного группового подбора животных белорусской крупной белой породы в условиях СГЦ «Заднепровский» показал, что наибольшие показатели ИВК были отмечены у хряков линии Свитанка 3884 при межлинейном скрещивании со свиноматками линии Драчуна 90685 (128,2) и Секрета 1347 (128,1), линии Сябра 202065 – с животными линии Свитанка 3884 (128,5).

Разработанная методика оценки воспроизводительных качеств свиней белорусской крупной белой породы позволяет объективно и быстро проводить оценку и подбор исходных родительских пар и сочетающихся линий для повышения продуктивности свиней.

Заключение. Проведен сбор первичных материалов бонитировочной оценки племенных свиней белорусской крупной белой породы в базовых хозяйствах республики.

По данным бонитировки на 01.01.2021 поголовье племенных животных в селекционных стадах составило 5805 голов, в том числе 98 основных хряков и 2515 свиноматок, а также 147 ремонтных хрячков и 2099 свинок.

Генеалогическую структуру породы составляют 11 плановых линий: Лафет 24939, Сват 17385, Скарб 5007, Сябр 903 и 202065, Сталактит 8387, Смык 308, Свитанак 3884, Секрет 1347, Драчун 90685, Драчуна 562 и 16 родственных групп: Сват 3487, Самсон 1441, Сталактит 10799, Секрет 4813, Дельфин 4589 и 4513, Драчун 4173 и 6461, Лафет 4145, Монэф 25985, Ковбой 13126, Казак 6499, Уффо 2596, Ягти 107, Спургас 6853, Нерас 6477.

Проведена комплексная оценка свиней белорусской крупной белой породы по развитию и продуктивности в базовых племенных предприятиях республики. В среднем по породе взрослые хряки в возрасте 36 месяцев имеют живую массу 313,0 кг, длину туловища – 182,0 см, свиноматки – 250,0 кг и 164,0 см соответственно.

Во всех подконтрольных племенных стадах (2 племзавода и 2 СГЦ) имелось 1890 основных свиноматок. Показатели их продуктивности составляли: многоплодие – 10,2 головы, молочность (масса гнезда в 21 день) – 52,1 кг, количество поросят при отъеме – 9,5 голов.

Оценены откормочные и мясные качества потомков хряков породы в «СГЦ «Заднепровский» в зависимости от их линейной принадлежности. По совокупности всех показателей откормочных и мясных качеств самыми высокими из них характеризуется потомство хряков линий Драчуна 90685 и Смыка 46706.

На основе полученных результатов исследований разработаны схемы межлинейного группового подбора свиноматок к хрякам белорусской крупной белой породы на племенных предприятиях республики.

Список использованных источников

1. Лобан, Н. А. Геномная селекция в свиноводстве / Н. А. Лобан, И. П. Шейко. – Жодино, 2013. – 273, [48] с.
2. Репродуктивные качества свиноматок белорусской крупной белой породы и ландрас при скрещивании с хряками мясных пород / И. С. Серяков [и др.] // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2017. – № 1. – С. 26–29.
3. Лобан, Н. А. Крупная белая порода свиней – методы совершенствования и использования / Н. А. Лобан. – Минск, 2004. – 110 с.
4. Association with litter size of new polymorphisms on ESR1 and ESR2 genes in a Chinese-European pig line / G. Muñoz [et al.] // Genet. Sel. Evol. – 2007. – Vol. 39, N 2. – P. 195–206. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-39-2-195>
5. Genetic effect and combined genotype effect of ESR, FSH β , CTNNAL1 and miR-27a loci on litter size in a Large White population / P. Pang [et al.] // Anim. Biotechnol. – 2019. – Vol. 30, N 4. – P. 287–292. <https://doi.org/10.1080/10495398.2018.1486322>
6. Goliášová, E. Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs / E. Goliášová, J. Wolf // Animal Genetics. – 2004. – Vol. 35, N 4. – P. 293–297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2004.01155.x>
7. Генетические основы селекции животных / В. Л. Петухов [и др.]. – М., 1989. – 448 с.
8. Никитченко, И. Н. Гетерозис в свиноводстве / И. Н. Никитченко. – Л., 1987. – 215 с.
9. Степанов, В. И. Достижения популяционной генетики – на службу селекционному процессу / В. И. Степанов, В. А. Коваленко, Н. В. Михайлов // Генетика и селекция животных на Дону. – Ростов-на-Дону, 1997. – С. 12–15.
10. Mucha, A. The use of indexes that take into account sows' stayability to assess their reproductive utility/ A. Mucha, M. Rozycki, T. Blicharski // Animal Science Papers and Rep. – 2008. – Vol. 26, N 4. – P. 297–304.
11. Колосов, А. Ю. Использование селекционных индексов и информационных технологий для интенсификации племенного отбора в свиноводстве: дис. ... канд. с.-х. наук / А. Ю. Колосов. – Персиановский, 2010. – 156 с.
12. Использование маркерных генов в селекции свиней различных пород для повышения репродуктивных качеств / О. А. Епишко [и др.]. – Гродно, 2015. – 181 с.
13. Харзинова, В. Р. Паттерн генетического разнообразия у локальных и коммерческих пород свиней на основе анализа микросателлитов / В. Р. Харзинова, Н. А. Зиновьева // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24, № 7. – С. 747–754. <https://doi.org/10.18699/vj20.669>
14. Peakall, R. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update / R. Peakall, P. E. Smouse // Bioinformatics. – 2012. – Vol. 28, N 19. – P. 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
15. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Изд. 3-е, испр. – Минск, 1973. – 320 с.

References

1. Loban N. A., Sheiko I. P. *Genomic selection in pig breeding*. Zhodino, 2013. 273, [48] p. (in Russian).
2. Seryakov I. S., Tsikunova O. G., Skobelev V. V., Chayko L. P. Reproductive qualities of sows of the Belarusian Large White breed and Landrace when crossing with the boars of meat breeds. *Zhivotnovodstvo i veterinarnaya medicina* [Animal Agriculture and Veterinary Medicine], 2017, no. 1, pp. 26–29 (in Russian).
3. Loban N. A. *Large white breed of pigs – methods of improvement and use*. Minsk, 2004. 110 p. (in Russian).
4. Muñoz G., Ovílo C., Estellé J., Silió L., Fernández A., Rodríguez C. Association with litter size of new polymorphisms on ESR1 and ESR2 genes in a Chinese-European pig line. *Genetics Selection Evolution*, 2007, vol. 39, no. 2, pp. 195–206. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-39-2-195>
5. Pang P., Li Z., Hu H., Wang L., Sun H., Mei S., Li F. Genetic effect and combined genotype effect of ESR, FSH β , CTNNAL1 and miR-27a loci on litter size in a Large White population. *Animal Biotechnology*, 2019, vol. 30, no. 4, pp. 287–292. <https://doi.org/10.1080/10495398.2018.1486322>

6. Goliášová E., Wolf J. Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs. *Animal Genetics*, 2004, vol. 35, no. 4, pp. 293–297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2004.01155.x>
7. Petukhov V. L., Ernst L. K., Gudilin I. I., Golubev A. K., Zlochevskaya K. V., Beauty V. F., Levantin D. L., Sorokina I. I., Trut L. N., Tsalitis A. A., Chamukha M. D., Borodin P. M., Diasov G. I. *Genetic foundations of animal breeding*. Moscow, 1989. 448 p. (in Russian).
8. Nikitchenko I. N. *Heterosis in pig breeding*. Leningrad, 1987. 215 p. (in Russian).
9. Stepanov V. I., Kovalenko V. A., Mikhailov N. V. Achievements of population genetics – at the service of the selection process. *Genetika i selekcija zhivotnyh na Donu* [Genetics and breeding of animals on the Don]. Rostov-on-Don, 1997, pp. 12–15 (in Russian).
10. Mucha A., Rozycki M., Blicharski T. The use of indexes that take into account sows stayability to assess their reproductive utility. *Animal science papers and rep*, 2008, vol. 26, no. 4, pp. 297–304.
11. Kolosov A. Yu. *The use of breeding indices and information technologies for the intensification of breeding selection in pig breeding*. Persianovsky, 2010. 156 p. (in Russian).
12. Epishko O. A., Pestis V. K., Tanana L. A., Peshko V. V., Sonic N. A., Shevchenko M. Yu. *The use of marker genes in the selection of pigs of various breeds to improve reproductive qualities*. Grodno, 2015. 181 p. (in Russian).
13. Kharzinova V. R., Zinovieva N. A. The pattern of genetic diversity of different breeds of pigs based on microsatellite analysis. *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2020, vol. 24, no. 7, pp. 747–754 (in Russian). <https://doi.org/10.18699/vj20.669>
14. Peakall R., Smouse P. E. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 2012, vol. 28, no. 19, pp. 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
15. Rokisky P. F. *Biological statistics*, ed. 3rd, rev. Minsk, 1973. 320 p. (in Russian).

Информация об авторах

Васильюк Олег Ярославович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Гридюшко Игорь Фёдорович – канд. с.-х. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Шейко Иван Павлович – академик, д-р с.-х. наук, профессор, первый заместитель генерального директора. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Орловская Елизавета Владимировна – науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Квашевич Светлана Михайловна – науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Information about the authors

Vasilyuk Oleg Ya. – Ph. D. (Biology), Leading Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding (11, Frunze Str., 222163, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Gridyushko Igor F. – Ph. D. (Agrarian), Associate Professor, Leading Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding (11, Frunze Str., 222163, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Sheiko Ivan P. – Academician, D. Sc. (Agrarian), Professor, First Deputy Director General. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding (11, Frunze Str., 222163, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Orlovskaya Elizaveta V. – Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.

Kvashevich Svetlana M. – Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding (11, Frunze Str., 222160, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: lab.breed.selec.pig@yandex.by.