

# ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

2023. Т. 67. № 3

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

**О. Ю. Баранов** – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь

**В. Г. Богдан** – Президиум Национальной академии наук Беларуси, 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

**В. Л. Гурский** – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь  
(заместитель главного редактора)

**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

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

- Э. И. Коломнец** – Научно-производственное объединение «Химический синтез и биотехнологии»,  
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. Ласковнѐв** – 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 имени 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, Респу-  
блика 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
- В. Г. Сафонов** – Институт математики Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
- А. В. Тузиков** – Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,  
Республика Беларусь
- Тьяу Ван Минь** – Вьетнамская академия наук и технологий, Социалистическая Республика Вьетнам
- С. А. Усанов** – Институт биоорганической химии 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
- А. Г. Шумилин** – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Республика Беларусь
- С. С. Щербаков** – Президиум 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. 2023. Т. 67. № 3

*Выходит на русском, белорусском и английском языках*

---

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

Сдано в набор 03.06.2023. Выпуск в свет 27.06.2023. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная. Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 136 экз. Заказ 133.

Цена: индивидуальная подписка – 12,66 руб.; ведомственная подписка – 29,74 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, 220084, г. Минск.

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука».  
Доклады НАН Беларуси, 2023

# DOKLADY OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

---

2023. Vol. 67. No. 3

---

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)*

Editor-in-Chief

**Vladimir G. Gusakov**

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

Editorial Board

**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

**Oleg Yu. Baranov** – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

**Vasily G. Bogdan** – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, 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

**Vasily L. Gursky** – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus

(*Associate Editor-in-Chief*)

**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

- Emilia I. Kolomiets** – State Research and Production Association “Chemical Synthesis and Biotechnology”, 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
- Vasily G. Safonov** – Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
- Sergey S. Shcherbakov** – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus
- Ivan P. Sheyko** – Scientific and Practical Center for Animal Breeding, Republic of Belarus
- Alexander G. Shumilin** – 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** – Institute of Bioorganic Chemistry 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. 2023. Vol. 67. No. 3

*Printed in Russian, Belarusian and English languages*

---

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

Sent for press 03.06.2023. Output 27.06.2023. Format 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Offset paper.  
Digital press. Printed sheets 10.23. Publisher’s signatures 11.3. Circulation 136 copies. Order 133.

Price: individual subscription – 12.66 BYN, departmental subscription – 29.74 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., 220084, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE “Publishing House “Belaruskaya Navuka”.  
Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus, 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

### МАТЕМАТИКА

- Корзюк В. И., Рудько Я. В.** Классическое решение задачи Коши для квазилинейного волнового уравнения с разрывными начальными условиями (на англ. яз.) ..... 183

### ФИЗИКА

- Рябушко А. П., Жур Т. А.** Об устойчивости движения системы двух тел и их центра масс в неоднородной среде ..... 189

### ХИМИЯ

- Андрианов А. М., Фурс К. В., Шульдов Н. А., Тузиков А. В.** *De novo* дизайн потенциальных ингибиторов основной протеазы коронавируса SARS-CoV-2 с помощью технологий искусственного интеллекта и молекулярного моделирования ..... 197

- Лахвич Ф. Ф., Ринейская О. Н., Голяк Н. С., Юркштович Н. К., Насенникова Е. Е., Лахвич Ф. А.** Противотуберкулезная активность Ривароксабана *in silico* и *in vitro* ..... 207

### БИОЛОГИЯ

- Лемеш В. А., Гриб С. И., Лагуновская Е. В., Кипень В. Н., Булойчик А. А., Буштевич В. Н., Сакович В. И.** KASP-генотипирование локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен» мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) ..... 214

- Никитченко Н. В., Яцкив А. А., Синявская Е. С., Белькевич А. Г., Козыро И. А., Достанко Н. Ю., Ягур В. Е., Гончарова Р. И.** Полиморфизм некоторых генов JAK-STAT сигнального пути и его регуляторов у пациентов с системной красной волчанкой и люпус нефритом в Республике Беларусь ..... 222

### МЕДИЦИНА

- Слизень В. В., Охремчук А. Э., Суркова Л. К., Гуревич Г. Л., Титов Л. П.** Характеристика генома *Mycobacterium tuberculosis* генотипа Weijing кластера 100-32 с пре-широкой лекарственной устойчивостью ..... 231

### НАУКИ О ЗЕМЛЕ

- Доминиковская Д. А.** Первичная природа, состав и эволюция протокоры раннего докембрия древних платформ и эндогенные процессы ее преобразования ..... 242

### ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Демиденко М. И., Адамчук Д. В., Русанов А. П., Сироткин С. В., Иванько Л. В., Максименко С. А.** Легированный бором пиролитический углерод: материал для биомедицинского и инженерно-технического применения ..... 250

### АГРАРНЫЕ НАУКИ

- Романова Т. А., Ивахненко Н. Н., Червань А. Н.** Диагностические маркеры генезиса почв Беларуси ..... 257

## *CONTENTS*

### *MATHEMATICS*

- Korzyuk V. I., Rudzko J. V.** Classical solution of the Cauchy problem for a quasi-linear wave equation with discontinuous initial conditions ..... 183

### *PHYSICS*

- Ryabushko A. P., Zhur T. A.** Motion stability of the system of two bodies and their mass center in an inhomogeneous medium ..... 189

### *CHEMISTRY*

- Andrianov A. M., Furs K. V., Shuldau M. A., Tuzikov A. V.** *De novo* design of potential SARS-CoV-2 main protease inhibitors using artificial intelligence and molecular modeling technologies ..... 197

- Lakhvich T. T., Ryneiskaya V. M., Golyak N. S., Yurkshtovich N. K., Nasennikava K. E., Lakhvich F. A.** Anti-tuberculosis activity of Rivaroxabane *in silico* and *in vitro* ..... 207

### *BIOLOGY*

- Lemesh V. A., Gryb S. I., Lagunovskaya A. V., Kipen V. N., Bulovichik A. A., Bushtevich V. N., Sakovich V. I.** KASP genotyping of loci associated with the “1000-grain weight” trait in common wheat (*Triticum aestivum* L.)..... 214

- Nikitchenko N. V., Yatskiu H. A., Siniauskaya E. S., Bialkevich H. G., Kazyra I. A., Dostanko N. Yu., Yagur V. E., Goncharova R. I.** Polymorphism of some JAK-STAT pathway genes and its regulators in patients with systemic lupus erythematosus and lupus nephritis in Republic of Belarus..... 222

### *MEDICINE*

- Slizen V. V., Akhremchuk A. E., Surkova L. K., Gurevich G. L., Titov L. P.** Characteristic of the *Mycobacterium tuberculosis* genome of Beijing genotype of cluster 100-32 displaying pre-extended drug resistance ..... 231

### *EARTH SCIENCES*

- Dominikovskaya D. A.** Primary nature, composition, and evolution of the early precambrian protocore in ancient platforms and endogenous processes of its transformation..... 242

### *TECHNICAL SCIENCES*

- Demidenko M. I., Adamchuk D. V., Rusanov A. P., Sirotkin S. V., Ivanko L. V., Maksimenko S. A.** Boron-enriched pyrolytic carbon: material for biomedical and engineering applications ..... 250

### *AGRARIAN SCIENCES*

- Romanova T. A., Ivakhnenko N. N., Chervan A. N.** Diagnostic genesis markers of soils in Belarus ..... 257

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

**МАТЕМАТИКА**  
**MATHEMATICS**

UDC 517.956.35  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-183-188>

Received 06.01.2023  
Поступило в редакцию 06.01.2023

**Academician Viktor I. Korzyuk, Jan V. Rudzko**

*Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**CLASSICAL SOLUTION OF THE CAUCHY PROBLEM FOR A QUASI-LINEAR WAVE EQUATION  
WITH DISCONTINUOUS INITIAL CONDITIONS**

**Abstract.** We consider the Cauchy problem for a one-dimensional weakly quasi-linear wave equation given in the upper half-plane. The initial conditions have a first-kind discontinuity at one point. We construct the solution using the method of characteristics in implicit analytical form as a solution of some integro-differential equations. The solvability of these equations, as well as the smoothness of their solutions, is studied. For the problem in question, we prove the uniqueness of the solution and establish the conditions, under which its classical solution exists.

**Keywords:** nonlinear wave equation, Cauchy problem, method of characteristics, classical solution, discontinuous initial conditions

**For citation.** Korzyuk V. I., Rudzko J. V. Classical solution of the Cauchy problem for a quasi-linear wave equation with discontinuous initial conditions. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 183–188. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-183-188>

**Академик В. И. Корзюк, Я. В. Рудько**

*Институт математики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

**КЛАССИЧЕСКОЕ РЕШЕНИЕ ЗАДАЧИ КОШИ ДЛЯ КВАЗИЛИНЕЙНОГО ВОЛНОВОГО  
УРАВНЕНИЯ С РАЗРЫВНЫМИ НАЧАЛЬНЫМИ УСЛОВИЯМИ**

**Аннотация.** Для одномерного слабо квазилинейного волнового уравнения, заданного в верхней полуплоскости, рассматривается задача Коши. Начальные условия имеют разрыв первого рода в одной точке. Решение строится в неявном аналитическом виде как решение некоторых интегро-дифференциальных уравнений. Проводится исследование разрешимости этих уравнений, а также гладкости их решений. Для рассматриваемой задачи доказывается единственность решения и устанавливаются условия, при выполнении которых существует ее классическое решение.

**Ключевые слова:** нелинейное волновое уравнение, задача Коши, метод характеристик, классическое решение, разрывные начальные условия

**Для цитирования.** Корзюк, В. И. Классическое решение задачи Коши для квазилинейного волнового уравнения с разрывными начальными условиями / В. И. Корзюк, Я. В. Рудько // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 183–188. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-183-188>

**Introduction.** Partial differential equations with discontinuous initial conditions are quite common in various applications, e. g. the propagation of shock waves in a medium [1]. We usually model this phenomenon using the Cauchy problem with discontinuous conditions. This leads to difficulties in the definitions and interpretations of solutions [2].

We often solve such problems by functional methods, e. g. the Fourier transform and the Laplace transform. However, these methods usually do not cover all possible cases of giving the Cauchy conditions [3] since inverse integral transformations converge, as a rule, to the average of the left and right limits [4]. Therefore, various methods have been developed to solve such problems, e. g. the contour integral method [5]. Although this method has a lot of disadvantages, some of which are also inherent in

the Fourier method [6], such as increased requirements for smoothness of functions and matching of functions, i. e., functions must satisfy some additional matching and smoothness conditions, it has allowed us to consider a large number of problems of dynamic impact theory, see [7–10] and cited literature. Also, we note the classical d'Alembert method (the method of characteristics), which is not as powerful as functional methods. But we can use it to obtain a qualitative description of impact phenomena [11; 12], to solve some boundary-value problems [13; 14] of impact theory, and it allows us not to identify functions that differ on a set of Lebesgue measure zero.

This work is a continuation of our studies of the Cauchy problem for a mildly quasilinear wave equation [15] and mixed problems with discontinuous initial and boundary conditions [13; 14; 16; 17]. In this article, we consider the Cauchy problem a one-dimensional mildly quasilinear wave equation given in the upper half-plane. The initial conditions of this problem have a discontinuity of the first kind at one point of the real axis. We use the method of characteristics to solve this problem. We build the piecewise-smooth solution, which satisfies additional matching conditions, in an implicit analytical form as a solution of some integro-differential equations. We study the solvability of these equations and the smoothness of their solutions. We prove the existence and the uniqueness of the solution to the Cauchy problem under some smoothness conditions of the initial data. The article proposes an approach to constructing solutions with discontinuous initial conditions.

**Statement of the problem.** In the domain  $Q = (0, \infty) \times \mathbb{R}$  of two independent variables  $(t, x) \in \bar{Q} \subset \mathbb{R}^2$ , consider the one-dimensional nonlinear equation

$$\square u(t, x) + f(t, x, u(t, x), \partial_t u(t, x), \partial_x u(t, x)) = F(t, x), \quad (t, x) \in Q, \quad (1)$$

where  $\square = \partial_t^2 - a^2 \partial_x^2$  is the d'Alembert operator ( $a > 0$  for definiteness),  $F$  is a function given on the set  $\bar{Q}$ , and  $f$  is a function given on the set  $\bar{Q} \times \mathbb{R}^3$ . Equation (1) is equipped with the initial condition

$$u(0, x) = \varphi(x), \quad \partial_t u(0, x) = \psi(x), \quad x \in \mathbb{R}, \quad (2)$$

where  $\varphi$  and  $\psi$  are some real-valued functions defined on the real axis.

The functions  $\varphi$  and  $\psi$  are piecewise smooth and defined by the formula

$$\varphi(x) = \begin{cases} \varphi_1(x), & x \in (-\infty, x_0), \\ A, & x = x_0, \\ \varphi_2(x), & x \in (x_0, +\infty), \end{cases} \quad \psi(x) = \begin{cases} \psi_1(x), & x \in (-\infty, x_0), \\ \psi_2(x), & x \in (x_0, +\infty), \end{cases}$$

where  $x_0$  and  $A$  are arbitrary real numbers,  $\varphi_1$  and  $\psi_1$  are functions given on the set  $(-\infty, x_0]$ , and  $\varphi_2$  and  $\psi_2$  are functions given on the set  $[x_0, +\infty)$ .

In the case of sufficiently smooth data, namely,  $\varphi \in C^2(\mathbb{R})$ ,  $\psi \in C^1(\mathbb{R})$ ,  $F \in C^1(\bar{Q})$ , and  $f \in C^1(\bar{Q} \times \mathbb{R}^3)$ , we considered the problem (1), (2) in the article [15].

For the linear wave equation, i. e.,  $f \equiv 0$ , the problem (1), (2) was studied in the works [16] and [13; 14; 17] in the cases of  $\psi \in C^1(\mathbb{R})$  and  $\varphi \in C^2(\mathbb{R})$  respectively.

Following [18], we investigate two main questions: 1) the exact statement of the initial value problem (1), (2); 2) the smoothness of the solution. The cause for the first question is the non-existence of the classical solution of the problem due to the condition  $\varphi \notin C^2(\mathbb{R})$  or  $\psi \notin C^1(\mathbb{R})$ .

**Constructing the solution of the Cauchy problem.** We divide the domain  $Q$  by the characteristics  $x - at = x_0$  and  $x + at = x_0$  into three subdomains

$$Q_1 = \{(t, x) \mid (t, x) \in Q \wedge x + at < x_0\},$$

$$Q_2 = \{(t, x) \mid (t, x) \in Q \wedge x - at > x_0\},$$

$$Q_3 = \{(t, x) \mid (t, x) \in Q \wedge x + at > x_0 \wedge x - at < x_0\}.$$

On the closure  $\bar{Q}$  of the domain  $Q$ , we define a function  $u$  as the one coinciding with the solution  $u^{(j)}$  of the partial differential equation (1)

$$u(t, x) = u^{(j)}(t, x), \quad (t, x) \in Q_*^{(j)}, \quad (3)$$

on the domain  $Q_*^{(j)}$ , where  $Q_*^{(1)} = \bar{Q}^{(1)} \setminus \bar{Q}^{(3)}$ ,  $Q_*^{(2)} = \bar{Q}^{(2)} \setminus \bar{Q}^{(3)}$ , and  $Q_*^{(3)} = \bar{Q}^{(3)}$  (Figure)

By virtue of discontinuous initial conditions, the problem (1), (2) does not have a classical solution defined on the set  $\bar{Q}$ . Nevertheless, we can define a classical solution on a smaller set  $\bar{Q} \setminus \Gamma$  so that it belongs to the class  $C^2(\bar{Q} \setminus \Gamma)$  and satisfies the equation (1), the initial conditions (2), and additional matching conditions given on the set  $\Gamma$ .

**Definition.** A function  $u$  is called a classical solution of the problem (1), (2) if the following conditions are satisfied: 1) the function  $u^{(j)}$  belongs to the class  $C^2(\bar{Q}_*^{(j)})$  for each  $j \in \{1, 2, 3\}$ ; 2) the function  $u^{(j)}$  satisfies Eq. (1) in the domain  $Q_*^{(j)}$  for each  $j \in \{1, 2, 3\}$ ; 3) the initial condition  $u(0, x) = \varphi(x)$  is met on the whole real axis; 4) the initial condition  $\partial_t u(0, x) = \psi(x)$  is met on the whole real axis, except one point  $x = x_0$ ; 5) the Goursat conditions

$$\begin{aligned} u^{(3)}(t, x = x_0 - at) &= u^{(1)}(t, x_0 - at) + A - \varphi_1(x_0), \quad t \geq 0, \\ u^{(3)}(t, x = x_0 + at) &= u^{(2)}(t, x_0 + at) + A - \varphi_2(x_0), \quad t \geq 0, \end{aligned} \quad (4)$$

hold.

It turns out that finding a classical solution of the problem (1), (2) in the sense of Definition is equivalent to solving the following problem.

**Problem (1), (2) with matching conditions on characteristics.** Find a classical solution of Eq. (1) with the Cauchy conditions (2) and the matching conditions

$$[(u)^+ - (u)^-](t, x = x_0 - at) = A - \varphi_1(x_0), \quad [(u)^+ - (u)^-](t, x = x_0 + at) = \varphi_2(x_0) - A, \quad t \geq 0.$$

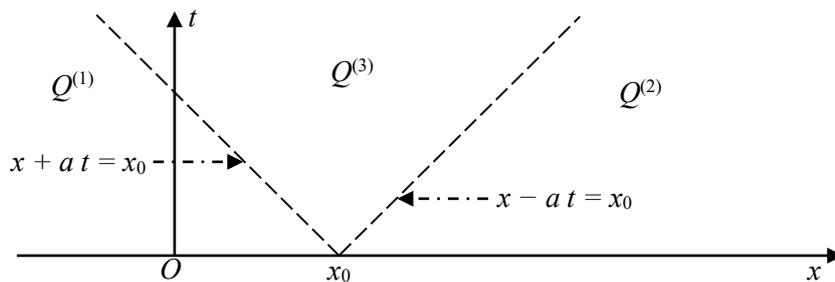
Here by  $(\cdot)^\pm$  we have denoted the limit values of the function  $u$  and its partial derivatives calculated on different sides of the characteristics  $x \pm at = x_0$ ; i. e.,  $(\partial_t^p u)^\pm(t, x = r(t)) = \lim_{\delta \rightarrow 0^+} \partial_t^p u(t, r(t) \pm \delta)$ .

The functions  $u^{(1)}$  and  $u^{(2)}$  are determined from the Cauchy problems

$$\begin{cases} \square u^{(j)}(t, x) + f(t, x, u^{(j)}(t, x), \partial_t u^{(j)}(t, x), \partial_x u^{(j)}(t, x)) = F(t, x), & (t, x) \in Q^{(j)}, \\ u^{(j)}(0, x) = \varphi_j(x), \quad \partial_t u^{(j)}(0, x) = \psi_j(x), & (-1)^j x \geq (-1)^j x_0, \end{cases} \quad (5)$$

for each  $j = 1, 2$ , and under some conditions have the representations

$$\begin{aligned} u^{(j)}(t, x) &= \frac{\varphi_j(x - at) + \varphi_j(x + at)}{2} + \frac{1}{2a} \int_{x-at}^{x+at} \psi_j(\xi) d\xi + \\ &+ \frac{1}{2a} \int_0^t d\tau \int_{x-a(t-\tau)}^{x+a(t-\tau)} (F(\tau, \xi) - f(\tau, \xi, u^{(j)}(\tau, \xi), \partial_t u^{(j)}(\tau, \xi), \partial_x u^{(j)}(\tau, \xi))) d\xi, \quad (t, x) \in \bar{Q}_*^{(j)}. \end{aligned} \quad (6)$$



The partition of the domain  $Q$  into three subdomains

**Lemma 1.** Let the conditions  $F \in C^1(\bar{Q})$ ,  $f \in C^1(\bar{Q} \times \mathbb{R}^3)$ ,  $\varphi_j \in C^2(\mathcal{D}(\varphi_j))$ , and  $\psi_j \in C^1(\mathcal{D}(\psi_j))$  be satisfied, and let the function  $f$  satisfy the Lipschitz condition with constant  $L$  with respect to the three last variables, i. e.,  $|f(t, x, z_1, z_2, z_3) - f(t, x, w_1, w_2, w_3)| \leq L(|z_1 - w_1| + |z_2 - w_2| + |z_3 - w_3|)$ . Then for each  $j = 1, 2$ , the Cauchy problem (5) has a unique solution in the class  $C^2(\bar{Q}_*^{(j)})$  determined by the formula (6).

**P r o o f.** It follows from our work [15].

Now the function  $u^{(3)}$  is determined from the Goursat problem

$$\begin{cases} \square u^{(3)}(t, x) + f(t, x, u^{(3)}(t, x), \partial_t u^{(3)}(t, x), \partial_x u^{(3)}(t, x)) = F(t, x), (t, x) \in Q^{(3)}, \\ u^{(3)}(t, x = x_0 - at) = u^{(1)}(t, x_0 - at) + A - \varphi_1(x_0), t \geq 0, \\ u^{(3)}(t, x = x_0 + at) = u^{(2)}(t, x_0 + at) + A - \varphi_2(x_0), t \geq 0. \end{cases} \quad (7)$$

**Lemma 2.** Let the conditions  $F \in C^1(\bar{Q})$ ,  $f \in C^1(\bar{Q} \times \mathbb{R}^3)$ ,  $\varphi_j \in C^2(\mathcal{D}(\varphi_j))$ , and  $\psi_j \in C^1(\mathcal{D}(\psi_j))$  be satisfied, and let the function  $f$  satisfy the Lipschitz condition with constant  $L$  with respect to the three last variables, i. e.,  $|f(t, x, z_1, z_2, z_3) - f(t, x, w_1, w_2, w_3)| \leq L(|z_1 - w_1| + |z_2 - w_2| + |z_3 - w_3|)$ . Then the Goursat problem (7) has a unique solution in the class  $C^2(\bar{Q}_*^{(3)})$ .

**P r o o f.** According to Lemma 1, the conditions  $F \in C^1(\bar{Q})$ ,  $f \in C^1(\bar{Q} \times \mathbb{R}^3)$ ,  $\varphi_j \in C^2(\mathcal{D}(\varphi_j))$ , and  $\psi_j \in C^1(\mathcal{D}(\psi_j))$  imply existence and uniqueness of the twice continuously differentiable functions  $u^{(1)}$  and  $u^{(2)}$ . This means that mappings  $\gamma_1 : [0, \infty) \ni t \mapsto u^{(1)}(t, x_0 - at) + A - \varphi_1(x_0) \in \mathbb{R}$  and  $\gamma_2 : [0, \infty) \ni t \mapsto u^{(2)}(t, x_0 + at) + A - \varphi_2(x_0)$  are twice continuously differentiable too and coincide at the point  $t = 0$ , i. e.,  $\gamma_1(0) = \gamma_2(0)$ . Now, we use the results of the work [19] to finally prove this lemma.

Let us derive an integro-differential equation for the function  $u^{(3)}$ . We select four points  $A(0, x_0)$ ,  $B\left(\frac{x_0 + at - x}{2a}, \frac{x_0 - at + x}{2}\right)$ ,  $C(t, x)$ ,  $D\left(\frac{at + x - x_0}{2a}, \frac{at + x + x_0}{2}\right)$  from the domain  $Q_*^{(3)}$ , apply the curvilinear parallelogram identity [20] and obtain

$$\begin{aligned} u^{(3)}(t, x) = & u^{(1)}\left(\frac{x_0 + at - x}{2a}, \frac{x_0 - at + x}{2}\right) + A - \varphi_1(x_0) - \varphi_2(x_0) + u^{(2)}\left(\frac{at + x - x_0}{2a}, \frac{at + x + x_0}{2}\right) - \\ & - \frac{1}{4a^2} \int_x^{x-at} dy \int_x^{x+at} \left( F\left(\frac{z-y}{2a}, \frac{z+y}{2a}\right) - f\left(\frac{z-y}{2a}, \frac{z+y}{2a}, u^{(3)}\left(\frac{z-y}{2a}, \frac{z+y}{2a}\right), \right. \right. \\ & \left. \left. \partial_t u^{(3)}\left(\frac{z-y}{2a}, \frac{z+y}{2a}\right), \partial_x u^{(3)}\left(\frac{z-y}{2a}, \frac{z+y}{2a}\right)\right) \right) dz, (t, x) \in Q_*^{(3)}. \end{aligned} \quad (8)$$

We state the result as the following assertion.

**T h e o r e m.** Let the conditions  $F \in C^1(\bar{Q})$ ,  $f \in C^1(\bar{Q} \times \mathbb{R}^3)$ ,  $\varphi_j \in C^2(\mathcal{D}(\varphi_j))$ , and  $\psi_j \in C^1(\mathcal{D}(\psi_j))$  hold, and let the function  $f$  satisfy the Lipschitz condition with constant  $L$  with respect to the three last variables, i. e.,  $|f(t, x, z_1, z_2, z_3) - f(t, x, w_1, w_2, w_3)| \leq L(|z_1 - w_1| + |z_2 - w_2| + |z_3 - w_3|)$ . The initial-value problem (1), (2) has a unique classical solution in the sense of Definition. This solution is determined by formulas (3), (6), and (8).

**Analysis of the solution of the Cauchy problem.** Taking into account twice continuous differentiability of the functions  $u^{(j)}$  for each  $j = 1, 2, 3$ , independence of Lebesgue integral on the behavior of the function on a set of measure zero, the expressions (3), (6), and (8), we can formally rewrite (3) in the form

$$\begin{aligned} u(t, x) = & \frac{\varphi(x - at) + \varphi(x + at)}{2} + \frac{1}{2a} \int_{x-at}^{x+at} \psi(\xi) d\xi + \left( A - \frac{\varphi_1(x_0) + \varphi_2(x_0)}{2} \right) \chi_{Q_*^{(3)}}(t, x) + \\ & + \frac{1}{2a} \int_0^t d\tau \int_{x-a(t-\tau)}^{x+a(t-\tau)} (F(\tau, \xi) - f(\tau, \xi, u(\tau, \xi), \partial_t u(\tau, \xi), \partial_x u(\tau, \xi))) d\xi, (t, x) \in \bar{Q}, \end{aligned} \quad (9)$$

where  $\chi_A$  is an indicator function of a set  $A$ . We note that if

$$\left( A - \frac{\varphi_1(x_0) + \varphi_2(x_0)}{2} \right) \chi_{Q_*^{(3)}}(t, x) \equiv 0 \quad (10)$$

then the representation (9) is sometimes called the ('generalized') d'Alembert formula [21].

Following [16], we consider three cases of specifying the discontinuous initial conditions under the conditions of Theorem.

1.  $\varphi(x_0 - 0) = \varphi(x_0 + 0) = A$ , i. e.,  $\varphi \in C(\mathbb{R})$ . From the Goursat conditions (4), and the fact  $u^{(j)} \in C^2(Q^{(j)})$  for each  $j \in \{1, 2, 3\}$  we see that in this case the solution  $u$  belongs the class  $C(\bar{Q})$  and satisfies the 'generalized' d'Alembert formula.

2.  $\varphi(x_0 - 0) \neq \varphi(x_0 + 0)$  and  $A = \frac{\varphi(x_0 - 0) + \varphi(x_0 + 0)}{2}$ . In this case, the solution  $u$  is no longer continuous, but the condition (10) holds, and the solution  $u$  satisfies the 'generalized' d'Alembert formula too.

3.  $\varphi(x_0 - 0) \neq \varphi(x_0 + 0)$  and  $A \neq \frac{\varphi(x_0 - 0) + \varphi(x_0 + 0)}{2}$ . The solution  $u$  is discontinuous and does not satisfy the 'generalized' d'Alembert formula.

These results are consistent with the conclusions of the work [16].

We note that the integro-differential equation (9) can be used to define a mild solution of the problem (1), (2).

**Conclusions.** In the present paper, we have obtained the necessary and sufficient conditions under which there exists a unique classical solution of the initial value problem for the mildly quasilinear wave equation with discontinuous initial conditions. And we have proposed an approach to constructing solutions with discontinuous initial conditions, even for nonlinear equations.

**Acknowledgements.** The article was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of implementing the program of the Moscow Center for Fundamental and Applied Mathematics by Agreement no. 075-15-2022-284.

**Благодарности.** Сообщение опубликовано при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках реализации программы Московского центра фундаментальной и прикладной математики по соглашению № 075-15-2022-284.

## References

- Zhuravkov M. A., Starovoytov E. I. *Mathematical Models of Solid Mechanics*. Minsk, 2021. 535 p. (in Russian).
- Hadamard J. *Lectures on Cauchy's Problem in Linear Partial Differential Equations*. Moscow, 1978. 352 p. (in Russian).
- Bateman H. Physical problems with discontinuous initial conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1930, vol. 16, no. 3, pp. 205–211. <https://doi.org/10.1073/pnas.16.3.205>
- Polyanin A. D. *Handbook of linear partial differential equations for engineers and scientists*. New York, 2001. 800 p. <https://doi.org/10.1201/9781420035322>
- Rasulov M. L. *Methods of Contour Integration*. Amsterdam, North Holland, 1967. 454 p. <https://doi.org/10.1016/c2013-0-12286-6>
- Gaiduk S. I. Das Problem der Querschwingungen eines viskoelastischen Stabes. *Differential Equations*, 1967, vol. 3, no. 9, pp. 1518–1536 (in German).
- Korzyuk V., Rudzko J. The problem of a longitudinal impact on an elastic bar with an elastic attachment of one of its ends. *Priborostroenie-2022: materialy 15-i Mezhdunarodnoi nauchno-tehnicheskoi konferencii, 16–18 noyabrya 2022 g.* [Instrumentation Engineering-2022: Materials of the 15th International Scientific and Technical Conference, November 16–18, 2022]. Minsk, 2022, pp. 305–307 (in Russian).
- Gaiduk S. I. A problem of transversal impact on a rectangular viscoelastic plate with supported edges. *Differential Equations*, 1995, vol. 37, no. 1, pp. 75–80.
- Gaiduk S. I. A mathematical discussion of some problems connected with the theory of longitudinal shock along finite rods. *Differentsial'nye uravneniya = Differential Equations*, 1977, vol. 13, no. 11, pp. 2009–2025 (in Russian).
- Gaiduk S. I. Certain problems that are connected with the theory of a transversal shock along rods. *Differentsial'nye uravneniya = Differential Equations*, 1977, vol. 13, no. 7, pp. 1233–1243 (in Russian).
- Biturin A. A., Manzhosov V. K. Waves induced by the longitudinal impact of a rod against a stepped rod in contact with a rigid barrier. *Journal of Applied Mathematics and Mechanics*, 2009, vol. 73, no. 2, pp. 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.jappmathmech.2009.04.006>
- Koshlyakov N. S., Gliner E. B., Smirnov M. M. *Differential Equations of Mathematical Physics*. Amsterdam, 1964. 701 p.
- Korzyuk V. I., Rudzko J. V. The classical solution of one problem of an absolutely inelastic impact on a long elastic semi-infinite bar. *Vestsi Natsyional'nai akademii navuk Belarusi. Seryia fizika-matematychnykh navuk = Proceedings of the*

*National Academy of Sciences of Belarus. Physics and Mathematics series*, 2021, vol. 57, no. 4, pp. 417–427 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-2430-2021-57-4-417-427>

14. Korzyuk V. I., Rudzko J. V. Classical solution of one problem of a perfectly inelastic impact on a long elastic semi-infinite bar with a linear elastic element at the end. *Journal of the Belarusian State University. Mathematics and Informatics*, 2022, vol. 2, pp. 34–46 (in Russian). <https://doi.org/10.33581/2520-6508-2022-2-34-46>

15. Korzyuk V. I., Rudzko J. V. Classical solution of the initial-value problem for a one-dimensional quasilinear wave equation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 1, pp. 14–19. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-1-14-19>

16. Korzyuk V. I., Puzyrnyi S. I. Classical solution of mixed problems for the one-dimensional wave equation with Cauchy nonsmooth conditions. *Vestsi Natsyianal'nai akademii navuk Belarusi. Seryia fizika-matematychnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physics and Mathematics series*, 2016, no. 2, pp. 22–31 (in Russian).

17. Korzyuk V. I., Rudzko J. V. The classical solution of the mixed problem for the one-dimensional wave equation with the nonsmooth second initial condition. *Vestsi Natsyianal'nai akademii navuk Belarusi. Seryia fizika-matematychnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physics and Mathematics series*, 2021, vol. 57, no. 1, pp. 23–32 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-2430-2021-57-1-23-32>

18. Chekhlov V. I. A mixed problem with discontinuous boundary conditions for the wave equation. *Doklady Akademii Nauk SSSR*, 1968, vol. 183, no. 4, pp. 787–790 (in Russian).

19. Korzyuk V. I., Kovnatskaya O. A., Sevast'yuk V. A. Goursat's problem on the plane for a quasilinear hyperbolic equation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 391–396 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-391-396>

20. Korzyuk V. I., Rudzko J. V. Curvilinear parallelogram identity and mean-value property for a semilinear hyperbolic equation of second-order [preprint]. *arXiv*. Available at: <https://arxiv.org/abs/2204.09408>

21. Kharibegashvili S. S., Jokhadze O. M. Solvability of a mixed problem with nonlinear boundary condition for a one-dimensional semilinear wave equation. *Mathematical Notes*, 2020, vol. 108, no. 1–2, pp. 123–136. <https://doi.org/10.1134/s0001434620070123>

### Information about the authors

*Korzyuk Viktor I.* – Academician, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [korzyuk@bsu.by](mailto:korzyuk@bsu.by).

*Rudzko Jan V.* – Postgraduate Student, Junior Researcher. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [janycz@yahoo.com](mailto:janycz@yahoo.com). ORCID: 0000-0002-1482-9106.

### Информация об авторах

*Корзюк Виктор Иванович* – академик, д-р физ.-мат. наук, профессор. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [korzyuk@bsu.by](mailto:korzyuk@bsu.by).

*Рудько Ян Вячеславович* – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [janycz@yahoo.com](mailto:janycz@yahoo.com). ORCID: 0000-0002-1482-9106.

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

**ФИЗИКА**  
**PHYSICS**

УДК 530.12  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-189-196>

Поступило в редакцию 17.05.2023  
Received 17.05.2023

**А. П. Рябушко<sup>1</sup>, Т. А. Жур<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Белорусский национальный технический университет, Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Белорусский государственный аграрный технический университет, Минск, Республика Беларусь*

**ОБ УСТОЙЧИВОСТИ ДВИЖЕНИЯ СИСТЕМЫ ДВУХ ТЕЛ И ИХ ЦЕНТРА МАСС  
В НЕОДНОРОДНОЙ СРЕДЕ**

*(Представлено членом-корреспондентом С. А. Тихомировым)*

**Аннотация.** В рамках ньютоновской небесной механики рассмотрена материальная система, состоящая из двух сферически симметричных тел сравнимых масс, движущихся внутри газопылевого шара со сферически симметричным распределением плотности среды в нем. Сформулированы и решены задачи, дающие ответ на степень влияния гравитационного поля неоднородной среды на устойчивость движения тел и их центра масс относительно координат тел, координат их центра масс, на орбитальную устойчивость по Ляпунову. Дополнительно рассмотрены задачи об устойчивости движения тел в смысле Лагранжа и Пуассона. Доказано, что гравитационное поле сферически симметрично распределенной среды превращает рассматриваемые движения, которые в пустоте являются устойчивыми, в неустойчивые в смыслах Лагранжа, Пуассона, Ляпунова. Даны некоторые численные оценки, связанные с неустойчивостями, которые показывают, что для популярных пар звезд и пар галактик в неоднородной среде возникают их дополнительные смещения порядка многих миллионов километров, а при учете темной материи смещения должны быть на порядок больше последней оценки. Отмеченные неустойчивости являются следствием векового смещения по циклоиде или деформированной циклоиде центра масс системы двух тел и отсутствия барицентрической системы координат при учете влияния гравитационного поля сферически симметрично распределенной среды на движение тел (рассматриваемая материальная система незамкнутая). Доказано, что для этой системы круговые и эллиптические орбиты тел не могут существовать. Вместо этих орбит имеем «витки», изображенные на приводимом рисунке. В планетарных системах (типа Солнечной системы), погруженных в неоднородную среду, смещения центров масс ничтожно малы и поэтому можно считать, что круговые и эллиптические орбиты практически могут существовать.

**Ключевые слова:** ньютоновская небесная механика, два тела, неоднородная среда, центр масс тел, уравнения движения центра масс, устойчивость, неустойчивость движения

**Для цитирования.** Рябушко, А. П. Об устойчивости движения системы двух тел и их центра масс в неоднородной среде / А. П. Рябушко, Т. А. Жур // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 189–196. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-189-196>

**Anton P. Ryabushko<sup>1</sup>, Tatyana A. Zhur<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Belarusian National Technical University, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Belarusian State Agrarian Technical University, Minsk, Republic of Belarus*

**MOTION STABILITY OF THE SYSTEM OF TWO BODIES  
AND THEIR MASS CENTER IN AN INHOMOGENEOUS MEDIUM**

*(Communicated by Corresponding Member Sergey A. Tikhomirov)*

**Abstract.** Within the framework of Newtonian celestial mechanics, a material system is considered. It consists of two spherically symmetrical bodies of comparable masses moving inside a gas dust ball with a spherically symmetrical density distribution of the medium in it. Problems are formulated and solved. They give an answer to the degree of influence of the gravitational field of an inhomogeneous medium on the motion stability of bodies and their mass center relative to the coordinates of the bodies, the coordinates of their mass center, as well as on the orbital stability according to Lyapunov. Additionally, the problems of the motion stability of bodies in the sense of Lagrange and Poisson are considered. It is proved that the gravitational field of a spherically symmetrically distributed medium transforms the considered motions, which are stable in vacuum, into unstable ones in the sense of Lagrange, Poisson, Lyapunov. Some numerical estimates related to instabilities are presented. They show that for popular pairs of stars and pairs of galaxies in an inhomogeneous medium, their additional dis-

placements of the order of many millions of kilometers arise. When dark matter is taken into account, the displacements should not be an order of magnitude greater than the last estimate. The noted instabilities are a consequence of a secular displacement along the cycloid or deformed cycloid of the mass center of the system of two bodies and the absence of a barycentric coordinate system when taking into account the influence of the gravitational field of a spherically symmetrically distributed medium on the motion of bodies (the considered material system is not closed). It is proved that for this system, circular and elliptical orbits of bodies cannot exist. Instead of these orbits, we have “turns” shown in the figure given in the article. In planetary systems (such as the Solar System) immersed into an inhomogeneous medium, the displacements of the mass centers are negligible and therefore we can assume that circular and elliptical orbits can practically exist.

**Keywords:** Newtonian celestial mechanics, two bodies, inhomogeneous environment, center of mass of bodies, equations of motion of the center of mass, stability, instability of motion

**For citation.** Ryabushko A. P., Zhur T. A. Motion stability of the system of two bodies and their mass center in an inhomogeneous medium. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 189–196 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-189-196>

**Введение.** В [1] рассмотрена материальная система, состоящая из двух сферически симметричных тел  $A$  и  $B$  сравнимых масс  $m_a$  и  $m_b$ , движущихся внутри газопылевого шара радиусом  $R$  со сферически симметричным распределением плотности среды  $\rho$  в нем:

$$\rho = \rho_0 \left(1 - \frac{r}{R}\right), \quad 0 \leq r \leq R; \quad \rho = 0, \quad R \leq r < +\infty. \quad (1)$$

Для этой системы в [1] выведены уравнения движения тел  $A$ ,  $B$  и их центра масс  $C_\rho$ , которые в ньютоновском приближении (НП) общей теории относительности (ОТО) имеют вид (см. в [1] формулы (22), (23), (27)):

$$m_a \ddot{a}_\rho^i = m_a \frac{d^2 a_\rho^i}{dt^2} = -\frac{\gamma m_a m_b}{|\vec{a}_\rho - \vec{b}_\rho|^3} (a_\rho^i - b_\rho^i) - 2\pi\gamma\rho_0 m_a \left(\frac{2}{3} - \frac{a}{2R}\right) a^i, \quad (2)$$

$$m_b \ddot{b}_\rho^i = m_b \frac{d^2 b_\rho^i}{dt^2} = -\frac{\gamma m_a m_b}{|\vec{a}_\rho - \vec{b}_\rho|^3} (b_\rho^i - a_\rho^i) - 2\pi\gamma\rho_0 m_b \left(\frac{2}{3} - \frac{b}{2R}\right) b^i, \quad (3)$$

$$\ddot{c}_\rho^i = \frac{d^2 c_\rho^i}{dt^2} = \frac{\pi\gamma\rho_0}{(m_a + m_b)R} (m_a a^i + m_b b^i). \quad (4)$$

Напомним смысл входящих в уравнения (2)–(4) величин и значков. Динамические системы записаны в барицентрической декартовой системе координат  $Ox^1x^2x^3$  при движении тел  $A$  и  $B$  в «пустоте» ( $\rho_0 = 0$ ) и их координаты обозначены символами  $a^i$  и  $b^i$ , а так как движение тел плоское, то без ограничения общности за плоскость движения принята координатная плоскость  $Ox^1x^2$ , т. е.  $x^3 = 0$ . Поэтому значок « $i$ » в уравнениях (2)–(4) принимает значения 1 и 2. Значок « $\rho$ » у коренных букв  $a$ ,  $b$ ,  $c$  означает, что величины вычисляются при влиянии на движение тел ньютоновского гравитационного поля среды плотностью  $\rho$  из (1) ( $\rho_0 \neq 0$ ). В силу малости  $\rho$  уравнения (2)–(4) выведены при учете  $\rho$  только в первой степени. Итак,  $a^i, b^i, c^i$  – декартовы координаты тел  $A, B$  и их центра масс  $C$  в «пустоте», а  $a_\rho^i, b_\rho^i, c_\rho^i$  – координаты  $A, B, C$  в среде (1). Радиусы-векторы  $\vec{a}_\rho, \vec{b}_\rho$  имеют координаты  $a_\rho^i, b_\rho^i$  соответственно. Величины  $a$  и  $b$  являются расстояниями тел  $A$  и  $B$  до начала координат  $O$ , в котором находится центр масс  $C$  тел  $A$  и  $B$  в пустом пространстве ( $\rho_0 = 0$ ). Система уравнений (2)–(4) при  $\rho_0 = 0$  превращается в давно известную динамическую систему, решение которой дает классическую теорию движения двух тел: уравнение относительной орбиты в полярной системе координат ( $e$  – эксцентриситет линии второго порядка)

$$r = \frac{p}{1 + e \cos \varphi}. \quad (5)$$

Координаты тел  $A$  и  $B$

$$a^i = \frac{m_b}{m_a + m_b} x^i, \quad b^i = -\frac{m_a}{m_a + m_b} x^i, \quad x^1 = r \cos \varphi, \quad x^2 = r \sin \varphi. \quad (6)$$

Формулы для расстояний тел  $A$  и  $B$  до начала координат

$$a = \frac{m_b}{m_a + m_b} r, \quad b = \frac{m_a}{m_a + m_b} r \quad (7)$$

и координаты центра масс

$$c^i = 0. \quad (8)$$

Задача Коши для уравнения (4) в пустом пространстве ( $\rho_0 = 0$ ) решена при начальных условиях:  $c^i(t=0) = 0$ ,  $\dot{c}^i(t=0) = 0$ , что приводит к решению (8).

Учет влияния гравитационного поля среды (1) на движение тел меняет законы их движения коренным образом. Действительно, как доказано в [1], интегрирование (4) с точностью до  $\rho_0$  в первой степени, до  $e^2$  и вековых членов приводит к параметрическим уравнениям траектории движения центра масс  $C_\rho$  тел  $A$  и  $B$  в среде (1):

$$C_\rho(c_\rho^1, c_\rho^2), \quad \begin{cases} c_\rho^1 = K_0(1 - \cos \varphi - e\varphi^2 + 4e^2\varphi \sin \varphi), \\ c_\rho^2 = K_0(\varphi - \sin \varphi + \frac{29}{6}e^2\varphi), \end{cases} \quad (9)$$

где

$$K_0 = \frac{\pi \rho_0 m_a m_b (m_a - m_b) p^5}{R(m_a + m_b)^4}, \quad (10)$$

а (9) представляет деформированную циклоиду.

Равенства (9), (10) показывают, что в среде (1) для двух тел  $A$  и  $B$  барицентрическая система координат (система отсчета) в НП ОТО *не существует*. Она существует только в частном случае, когда  $m_a = m_b$ . Тогда  $K_0 = 0$  и центр масс  $C_\rho$  покоится в начале координат:  $c_\rho^i = 0$ .

Если тела движутся в пустоте по окружностям, то эксцентриситет  $e = 0$  и из (5) следует  $r = p$ , расстояния  $a$  и  $b$  до центра масс  $C$  согласно (7) величины постоянные, а центр масс передвигается согласно (9) по циклоиде. В [2, рис. 3] изображены траектории тел  $A_1, A_2$  (в нашей работе они обозначены буквами  $A, B$ ) и их центра масс  $C_\rho$  в НП ОТО в среде (1):  $C_\rho$  передвигается по циклоиде, а тела  $A, B$  описывают витки-кружева (рисунок, который повторяет рис. 3 из работы [2]).

В общем случае координаты тел  $A$  и  $B$  в среде (1) в НП ОТО определяются формулами в соответствии с равенствами (5), (6), (9), (10):

$$a_\rho^i = \frac{m_b}{m_a + m_b} x^i + c_\rho^i, \quad b_\rho^i = -\frac{m_a}{m_a + m_b} x^i + c_\rho^i. \quad (11)$$

Траектории тел  $A, B$  и их центра масс  $C_\rho$  согласно уравнениям (11), (9) качественно похожи на траектории, изображенные в [2, рис. 3].

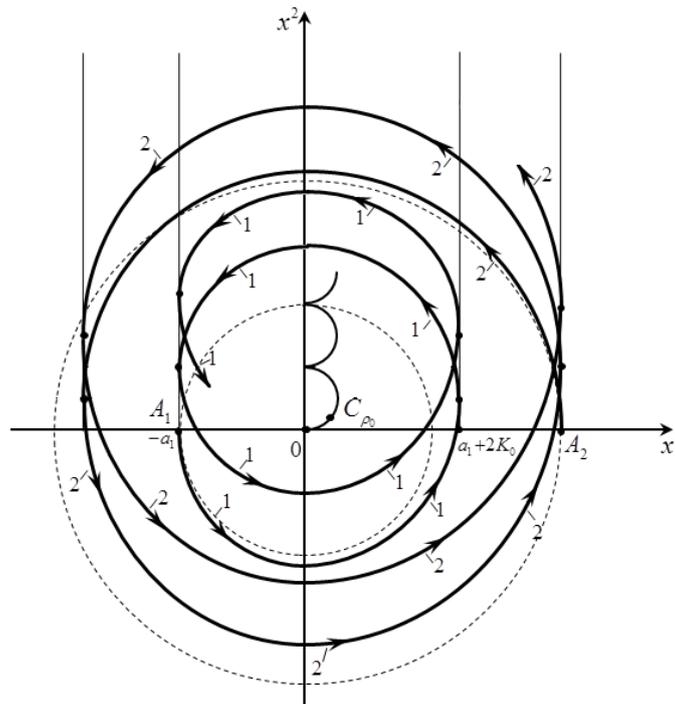
Параметрические уравнения орбит тел  $A$  и  $B$  (11) ( $\varphi$  – параметр) получены в [1] впервые и определяют неизвестные ранее закономерности движения тел в среде в ньютоновской небесной механике.

Эти неизвестные ранее закономерности состоят в следующем.

1. В среде (1) тела  $A$  и  $B$  не могут двигаться по кривым 2-го порядка (окружностям, эллипсам, гиперболам, параболам), что следует из (11) и (5)–(7), хотя в «пустоте» ( $\rho = 0$ ) такие движения возможны.

2. Центр масс тел  $A$  и  $B$  в среде (1) движется по деформированной циклоиде (9), (10) при  $e \neq 0$  (по циклоиде, если  $e = 0$ ) и поэтому барицентрическая декартова система координат для системы  $AB\rho$  – «тела +  $\rho$  из (1)» – не существует.

3. В случае  $e = 0$  смещение центра масс тел будет происходить по циклоиде в первой четверти декартовой системы координат, если  $m_a > m_b$ , т. е.  $K_0 > 0$  (на рисунке изображен именно этот случай). Если  $m_a < m_b$ , то  $K_0 < 0$  и циклоида находится в третьей четверти, а витки уходят в отрицательном направлении оси  $Ox^2$  (вниз), как и тела  $A$  и  $B$  на этих витках.



Поведение тел  $A_1, A_2$  и их ЦМ в НП ОТО в неоднородной среде. Тело  $A_1$  описывает витки, уходящие вверх и касающиеся вертикальных полупрямых  $x^1 = -a_1$  и  $x^1 = -a_1 + 2K_0$  в точках  $(-a_1, 2n\pi K_0)$  и  $(a_1 + 2K_0, (2n + 1)\pi K_0)$ ,  $n = 0, 1, 2, \dots$ . Аналогично: тело  $A_2$  описывает уходящие вверх витки, касающиеся полупрямых  $x^1 = a_2$  и  $x^1 = -a_2 + \pi K_0$  в точках  $(a_2, 2n\pi K_0)$  и  $(-a_2 + \pi K_0, (2n + 1)\pi K_0)$  соответственно. Пунктиром изображены окружности, по которым двигаются тела  $A_1$  и  $A_2$  в пустоте

The behavior of bodies  $A_1, A_2$  and their CMs in NA of GTR in inhomogeneous medium. Body  $A_1$  describes the turns going up and touching the vertical half-lines  $x^1 = -a_1$  and  $x^1 = -a_1 + 2K_0$  at the points  $(-a_1, 2n\pi K_0)$  and  $(a_1 + 2K_0, (2n + 1)\pi K_0)$ ,  $n = 0, 1, 2, \dots$ . Similarly, body  $A_2$  describes the upward loops touching the half-lines  $x^1 = a_2$  and  $x^1 = -a_2 + \pi K_0$  at the points  $(a_2, 2n\pi K_0)$  and  $(-a_2 + \pi K_0, (2n + 1)\pi K_0)$ , respectively. The dotted line shows the circles, along which the bodies  $A_1$  and  $A_2$  move in the void

4. Если  $0 < e \ll 1$ , то имеем слабо деформированную циклоиду (9) и поведение тел  $A, B$  и их центра масс  $C_p$  мало отличающимся от случая, когда  $e = 0$ . Для значительных  $e < 1$  деформированная циклоида (9) при  $K_0 > 0$  смещается из первой во вторую четверть, что приводит к смещению витков (рисунок) влево и вверх, а при  $K_0 < 0$  происходит смещение из третьей в четвертую четверть, что приводит к смещению витков вправо и вниз.

5. Имеем частный случай  $m_a = m_b$ , когда  $K_0 = 0$  и центр масс тел  $C_p$  совпадает с началом координат и неподвижен,  $e = 0$ , циклоида исчезает, существует барицентрическая система координат.

6. К неизвестным закономерностям следует отнести вопросы устойчивости и неустойчивости новых решений (11) динамической системы (2)–(4).

**Постановка задачи по исследованию устойчивости и неустойчивости решений системы (2)–(4).**

**З а д а ч а.** *Выяснить, при каких условиях решения (9) и (11) динамической системы (2)–(4) будут устойчивыми в смысле Ляпунова, Лагранжа, Пуассона (определение этих понятий см., например, в [3] и указанных в нем источниках, а также в [4; 5]).*

Решение этой задачи представляет значительный теоретический и практический интерес в проблеме движения тел в небесной механике и еще никем не рассматривалось.

Решение сформулированной задачи начнем с исследования на устойчивость решения (9) системы (4). При интегрировании системы (4) решалась задача Коши при начальных условиях:

$$c_p^i(t=0) = 0, \quad \dot{c}_p^i(t=0) = 0. \quad (12)$$

В процессе получения решения (9), (10) использовался закон сохранения орбитального момента импульса (интеграл площадей)

$$r^2 \dot{\varphi} = \sqrt{\gamma(m_a + m_b)p},$$

из которого следует связь времени  $t$  и угла  $\varphi$  такая, при которой выполняется соответствие  $t = 0 \leftrightarrow \varphi = 0$ , т. е. из  $t = 0$  следует  $\varphi = 0$  и наоборот.

В случае круговых движений тел  $A$  и  $B$  ( $e = 0$ ) из (5) следует  $r = p$ ,  $\dot{\varphi} = \sqrt{\gamma(m_a + m_b) / p^3} = \omega_0$  и легко устанавливаем связь  $\varphi = \omega_0 t$ . С точностью до вековых членов такая же связь ( $\varphi = \omega_0 t$ ) осуществляется и при  $e \neq 0$ .

Решение (9), (10) называем *опорным*, а решение динамической системы центра масс тел  $A, B$  при других начальных условиях по сравнению с (12)

$$c_{\rho}^i(t=0) = c_{\rho}^{i*}, \quad \dot{c}_{\rho}^i(t=0) = \dot{c}_{\rho}^{i*}, \quad (13)$$

где числа  $c_{\rho}^{i*}$  и  $\dot{c}_{\rho}^{i*}$  достаточно малые величины, назовем *возмущенным* и представим его в виде

$$c_{\rho}^{i*} = c_{\rho}^i + \Delta c_{\rho}^i, \quad (14)$$

где  $c_{\rho}^i$  определены формулами (9), (10), а  $\Delta c_{\rho}^i$  представляет возникающее при изменении начальных условий (12) на (13) возмущение опорного решения (9), (10).

**З а м е ч а н и е.** Так как координаты центра масс в среде  $C_{\rho}(c_{\rho}^1, c_{\rho}^2)$  определяются формулой

$$c_{\rho}^i = \frac{m_a a_{\rho}^i + m_b b_{\rho}^i}{m_a + m_b}, \quad (15)$$

то возмущение начальных условий (13) нужно считать следствием возмущений начальных условий для координат тел  $a_{\rho}^i, b_{\rho}^i$ , т. е. из

$$\begin{aligned} a_{\rho}^i(t=0) &= a_{\rho}^{i*}, & \dot{a}_{\rho}^i(t=0) &= \dot{a}_{\rho}^{i*}, \\ b_{\rho}^i(t=0) &= b_{\rho}^{i*}, & \dot{b}_{\rho}^i(t=0) &= \dot{b}_{\rho}^{i*} \end{aligned} \quad (16)$$

следует

$$a_{\rho}^{i*} = a_{\rho}^i + \Delta a_{\rho}^i, \quad b_{\rho}^{i*} = b_{\rho}^i + \Delta b_{\rho}^i \quad (17)$$

и согласно (15) следует (14). Получаем цепь равенств

$$\begin{aligned} c_{\rho}^{i*} &= \frac{m_a a_{\rho}^{i*} + m_b b_{\rho}^{i*}}{m_a + m_b}; \\ c_{\rho}^i + \Delta c_{\rho}^i &= \frac{m_a(a_{\rho}^i + \Delta a_{\rho}^i) + m_b(b_{\rho}^i + \Delta b_{\rho}^i)}{m_a + m_b}; \\ \Delta c_{\rho}^i &= \frac{m_a \Delta a_{\rho}^i + m_b \Delta b_{\rho}^i}{m_a + m_b}. \end{aligned} \quad (18)$$

Последнее равенство в (18) устанавливает связь возмущений координат  $\Delta a_{\rho}^i$  и  $\Delta b_{\rho}^i$  тел  $A$  и  $B$  с возмущениями  $\Delta c_{\rho}^i$  координат  $c_{\rho}^i$  их центра масс  $C_{\rho}$  (14), что и было целью замечания.

Рассмотрим решение системы (4) при начальных условиях (13). Напоминаем, что решение (9), (10) получено при начальном условии (12) и значениях величин в правой части системы (4), относящихся к движению тел  $A$  и  $B$  в пустоте (5)–(8). Поэтому, подставив в (4) вместо  $c_{\rho}^i$  величину  $c_{\rho}^{i*}$  из (14) и решая задачу Коши при начальных условиях (13), находим:

$$\Delta c_{\rho}^i = \dot{c}_{\rho}^{i*} t + c_{\rho}^{i*}. \quad (19)$$

Следовательно, с оговоренной выше точностью разность решений  $\Delta c_\rho^i$  при разных начальных условиях (12) и (13) при  $t \rightarrow \infty$  также стремится к бесконечности:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} (c_\rho^i - c_\rho^{i*}) = \lim_{t \rightarrow \infty} \Delta c_\rho^i = \lim_{t \rightarrow \infty} (\dot{c}_{\rho^*}^i t + c_{\rho^*}^i) = \infty. \quad (20)$$

Итак, возмущенное движение центра масс тел  $A$  и  $B$  (14) при сколь угодно малых возмущениях начальных условий (13) согласно (19) и (20) с течением времени будет значительно отличаться от опорного движения (9), (10), что означает неустойчивость движения по Ляпунову относительно координат  $c_\rho^i$  ньютоновского центра масс двух тел в неоднородной среде.

Координаты тел  $A$  и  $B$  определяются формулами (11), в которые в виде вторых слагаемых входят координаты центра масс  $c_\rho^i$ . Первые слагаемые в (11) являются координатами тел  $A$  и  $B$  в пустоте и вне зависимости от того устойчивы или неустойчивы они по Ляпунову, координаты тел  $A$  и  $B$   $a_\rho^i$  и  $b_\rho^i$  будут неустойчивы по Ляпунову, так как неустойчивы  $c_\rho^i$ . Итак, движение тел  $A$  и  $B$  неустойчиво по Ляпунову относительно их координат  $a_\rho^i$  и  $b_\rho^i$ .

Как показано выше, переход от начальных условий (12) к начальным условиям (13) приводит к изменению начальных условий для координат тел (16), что вызывает возникновение возмущений координат тел  $A, B$  (17) и координат их центра масс (14), связанных (18).

Добавление к  $c_\rho^i$  в (9) и (11) величины  $\Delta c_\rho^i$  из (19) деформирует опорные орбиты (9) и (11). С течением времени в силу (20) деформации орбит увеличиваются. Следовательно, орбиты тел и их центра масс орбитально неустойчивы по Ляпунову.

Вопрос об устойчивости или неустойчивости решений (9), (11) в смысле Лагранжа и Пуассона в свете проведенных выше исследований решается достаточно просто.

По Лагранжу любое движение, происходящее в ограниченной области, считается устойчивым (см. [3]). В Солнечной системе, например, все эллиптические движения устойчивы в смысле Лагранжа. В нашем случае, согласно (9) и (11), координаты тел  $A, B$  и их центра масс  $C_\rho$  при движении тел в неоднородной среде согласно (19), (20) со временем неограниченно увеличиваются и, следовательно, траектории тел  $A, B$  и  $C_\rho$  выходят из любой конечной области – имеем неустойчивость по Лагранжу.

Траектория движения любого тела называется устойчивой по Пуассону (см. [3]), если траектория за бесконечное время проходит бесконечное число раз через достаточно малую окрестность своей начальной точки. Так как в нашем случае координаты точек  $A, B, C_\rho$  при  $t \rightarrow \infty$  стремятся к бесконечности, то требование для устойчивости по Пуассону нарушается, т. е. траектории тел  $A, B$  и их центра масс  $C_\rho$  неустойчивы в смысле Пуассона.

Поставленная задача решена. Отметим только еще, что все выводы, полученные в процессе ее решения, справедливы и для частного случая, когда эксцентриситет  $e = 0$  (круговые движения).

**Некоторые численные оценки.** Представляет интерес оценка «силы» неустойчивости, т. е. оценка расстояния между точкой  $M$  на опорной траектории и точкой  $M^*$  на возмущенной траектории в некоторый один и тот же характерный момент времени  $t$ , когда, например,  $t = T$  – период обращения тел  $A$  и  $B$  в пустоте ( $\rho = 0$ ).

Рассмотрим траекторию центра масс  $C_\rho$  (9), (10), которая является опорной и в момент  $t = 0$  ( $\varphi = 0$ ) выходит из начала координат  $O$ . Задав начальные условия (13), находим в момент времени  $t$  изменение координат  $C_\rho$  на величину  $\Delta c_\rho^i$ , определяемую (19). Расстояние между точками  $M$  и  $M^*$  в момент времени  $t$  будет равно величине

$$M M^* = \left[ (\Delta c_\rho^1)^2 + (\Delta c_\rho^2)^2 \right]^{1/2} = \left[ \left( \dot{c}_{\rho^*}^1 t + c_{\rho^*}^1 \right)^2 + \left( \dot{c}_{\rho^*}^2 t + c_{\rho^*}^2 \right)^2 \right]^{1/2}. \quad (21)$$

Формула (21) показывает, что величина расхождения траекторий зависит только от начальных условий (13) и времени  $t$ .

Пусть, например, тело  $A$  – Солнце, тело  $B$  – Юпитер. В момент  $t = 0$  их центр масс находится в соответствии с уравнениями (9) в начале координат  $O$ , из которого выходит опорная траектория

согласно начальным условиям (12). Возьмем возмущенную траекторию, приняв начальные условия (13), в которых  $c_{\rho^*}^1 = 1 \text{ см}$ ,  $\dot{c}_{\rho^*}^1 = 1 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ ,  $c_{\rho^*}^2 = 0$ ,  $\dot{c}_{\rho^*}^2 = 0$ , т. е. возмущение совершается в положительном направлении координатной оси. За время  $t = T \approx 11,86 \text{ лет} \approx 34,48 \cdot 10^7 \text{ с}$  – период обращения системы Солнце–Юпитер – расстояние  $MM^*$  равно величине

$$MM^* = \dot{c}_{\rho^*}^1 T + c_{\rho^*}^1 \approx 1 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1} \cdot 37,48 \cdot 10^7 \text{ с} + 1 \text{ см} \approx 3738 \text{ км}. \quad (22)$$

С увеличением времени  $t$  согласно формуле (21) расстояние  $MM^*$  увеличивается. В нашем примере расстояние (22) за « $n$ » обращений системы также увеличится в « $n$ » раз.

Опираясь на (9), (10) нетрудно оценить расстояния, на которые центр масс  $C_\rho$  удаляется от начала координат за определенное время  $t_0$ . Для любой системы тел имеем за один период их обращения (периоду  $T$  соответствует  $\varphi = 2\pi$ ):

$$OC_\rho = \left[ (c_\rho^1)^2 + (c_\rho^2)^2 \right]^{1/2} = |K_0| \left\{ 4\pi^2 e^2 + \left[ 2\pi + \frac{29}{3} \pi e^2 \right]^2 \right\}^{1/2}. \quad (23)$$

В [1] даны оценки величины  $K_0$  для системы Солнце–Юпитер и систем двух звезд в среде (1), из которых видно, что для планетарных систем смещение центра масс  $C_\rho$  за один период  $T$  имеет порядок  $(10^{-5}–10^{-7}) \text{ см}$ , т. е. смещение чрезвычайно малое, но для двойных звезд  $K_0$  может достигать величины порядка  $(10^9–10^{12}) \text{ см}$  и, следовательно,  $OC_\rho$  согласно (23) за один период обращения звезд может принимать значения порядка нескольких миллионов километров, и пара звезд может смещаться на такое же расстояние.

**Общие заключительные замечания.** В настоящее время считается доказанным существование темной материи во Вселенной, плотность которой значительно (в несколько раз) превышает плотность барионной (видимой) среды (см., напр., [6–8]).

Поэтому при учете плотности темной материи данные выше оценки также увеличиваются в несколько раз.

Так как двойные звезды существуют миллиарды лет, то их перемещения в галактиках, как и перемещения самих галактик в среде, оказываются весьма значительными, что должно приводить к сближениям и даже столкновениям различных пар звезд и пар галактик, влияя тем самым на формирование структуры галактик и их ансамблей. Эти процессы следует учитывать в вопросах космологии галактик и их совокупностей.

В заключение рассмотрим предельный случай задачи двух тел, когда масса одного из тел, например  $B$ , настолько мала, что не влияет на движение другого тела (ограниченная задача двух тел). Тогда динамическая система (2)–(4) для такой задачи существенно упрощается. В барицентрической системе координат, которая в рассматриваемом предельном случае существует, тело  $A$  находится в начале координат, так как  $a = 0$ ,  $m_b = 0$ ,  $c_\rho^i = 0$  и уравнение (4) вырождается в нулевое тождество. Уравнение (2) также вырождается в нулевое тождество в силу  $a^i = 0$ ,  $m_b = 0$ ,  $a_\rho^i = 0$ . Остается только уравнение (3), которое после сокращения на  $m_b$  (до предельного перехода  $m_b \rightarrow 0$ ) приобретает вид и определяет движение пробного тела  $B$ :

$$\frac{d^2 b_\rho^i}{dt^2} = -\frac{\gamma m_a}{|\bar{b}_\rho|^3} b_\rho^i - 2\pi\gamma\rho_0 \left( \frac{2}{3} - \frac{b}{2R} \right) b^i. \quad (24)$$

Если плотность  $\rho$  среды постоянна, то в (1) и (24) следует положить  $R = \infty$ , что приведет к исчезновению члена  $\frac{r}{R}$  в (1) и члена  $\frac{b}{2R}$  в (24), а  $\rho$  примет постоянное значение  $\rho_0$ , т. е. приходим к однородному распределению среды в пространстве. Этот случай рассмотрен в [9], а уравнение (24) обобщает уравнение (8) работы [9] на сферически симметричное распределение плотности среды (1).

Интегрирование (24) в случае  $\rho = \rho_0 = \text{const}$  с точностью до вековых членов согласно [9] приводит к следующей орбите:

$$\frac{1}{r} = \frac{1 + e \cos \varphi}{p} - \frac{2\pi\rho_0 p^2}{m_a} e \varphi \sin \varphi = \frac{1 + e \cos \left[ (1 + \alpha_\rho^H) \varphi \right]}{p}, \quad \alpha_\rho^H = \frac{2\pi\rho_0 p^3}{m_a}, \quad (25)$$

т. е. происходит смещение периастра (перигелия) эллиптической орбиты, находящейся в однородной среде, на угол  $\Delta\varphi_\rho^H = -2\pi\alpha_\rho^H$  за один ньютоновский период пробного тела  $B$ . Смещение, как видим, происходит в сторону, противоположную движению тела  $B$  по орбите (и релятивистскому смещению перигелия).

Обсуждаемое смещение приводит к тому, что движение в среде пробного тела уже в ньютоновской теории и тем более в ПНП ОТО является орбитально неустойчивым, а также неустойчивым относительно величин  $x^1$ ,  $x^2$ ,  $r$ ,  $\dot{x}^1$ ,  $\dot{x}^2$ ,  $\dot{r}$ , но устойчивым относительно  $x^3$ ,  $\dot{x}^3$  по Ляпунову (подробнее см. [10, главы 3 и 4]).

Устойчивость орбиты (25) в смысле Лагранжа очевидна, так как пробное тело все время находится на конечном расстоянии от начала координат.

В смысле Пуассона движение пробного тела по закону (25) неустойчиво, так как орбита (25) с течением времени из-за смещения периастра не может пересекать достаточно малую окрестность исходной точки периастра.

#### Список использованных источников

1. Рябушко, А. П. Точки  $\rho$ -либрации в задаче трех тел / А. П. Рябушко, Т. А. Жур // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. физ.-мат. наук. – 2021. – Т. 57, № 3. – С. 330–346. <https://doi.org/10.29235/1561-2430-2021-57-3-330-346>
2. Рябушко, А. П. Движение системы двух тел и их центра масс в неоднородной среде / А. П. Рябушко, И. Т. Неманова, Т. А. Жур // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. физ.-мат. наук. – 2020. – Т. 56, № 2. – С. 194–205. <https://doi.org/10.29235/1561-2430-2020-56-2-194-205>
3. Справочное руководство по небесной механике и астродинамике / В. К. Абалакин [и др.]. – М., 1976. – 865 с.
4. Себекей, В. Теория орбит: ограниченная задача трех тел / В. Себекей. – М., 1982. – 656 с.
5. Малкин, И. Г. Теория устойчивости движения / И. Г. Малкин. – М., 1966. – 432 с.
6. Стражев, В. И. К тайнам Вселенной / В. И. Стражев. – Минск, 2006. – 160 с.
7. Лукаш, В. Н. Темная материя: от начальных условий до образования структуры Вселенной / В. Н. Лукаш, Е. В. Михеева // Успехи физических наук. – 2007. – Т. 177, № 9. – С. 1023–1028.
8. Питъев, Н. П. Ограничения на темную материю в Солнечной системе / Н. П. Питъев, Е. В. Питъева // Письма в астрономический журнал. – 2013. – Т. 39, № 3. – С. 163–172.
9. Рябушко, А. П. Релятивистские эффекты движения пробных тел в газопылевом шаре с притягивающим центром / А. П. Рябушко, И. Т. Неманова // Докл. Акад. наук БССР. – 1984. – Т. 28, № 9. – С. 806–809.
10. Рябушко, А. П. Проблема устойчивости движения тел в общей теории относительности / А. П. Рябушко. – Минск, 1987. – 112 с.

#### References

1. Ryabushko A. P., Zhur T. A.  $\rho$ -Libration point in the three body problem. *Vestsi Natsyianal'nai akademii navuk Belarusi. Seryia fizika-matematychnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physics and Mathematics series*, 2021, vol. 57, no. 3, pp. 330–346 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-2430-2021-57-3-330-346>
2. Ryabushko A. P., Nemanova I. T., Zhur T. A. The motion of the system of two bodies and their center of mass in an inhomogeneous environment. *Vestsi Natsyianal'nai akademii navuk Belarusi. Seryia fizika-matematychnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physics and Mathematics series*, 2020, vol. 56, no. 2, pp. 194–205 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-2430-2020-56-2-194-205>
3. Abalakin V. K., Aksenov E. P., Grebenikov E. A., Demin V. G., Ryabov Yu. A. *Reference guide to celestial mechanics and astrodynamics*. Moscow, 1976. 865 p. (in Russian).
4. Sebehey V. *Theory of Orbits: the Restricted Problem of three Bodies*. Moscow, 1982. 656 p. (in Russian).
5. Malkin I. G. *Motion stability theory*. Moscow, 1966. 432 p. (in Russian).
6. Strazhev V. I. *To the Secrets of the Universe*. Minsk, 2006. 160 p. (in Russian).
7. Lukash V. N., Mikheeva E. V. Dark matter: from initial conditions to structure formation in the universe. *Physics-Uspokhi*, 2007, vol. 50, no. 9, pp. 971–976. <https://doi.org/10.1070/pu2007v050n09abeh006382>
8. Pitjev N. P., Pitjeva E. V. Constraints on dark matter in the solar system. *Astronomy Letters*, 2013, vol. 39, no. 3, pp. 141–149. <https://doi.org/10.1134/s1063773713020060>
9. Ryabushko A. P., Nemanova I. T. Relativistic Effects of the Motion of Test Bodies in the Gas-Dust Ball with an Attractive Center. *Doklady Akademii nauk BSSR = Doklady of the Academy of Sciences of BSSR*, 1984, vol. 28, no. 9, pp. 806–809 (in Russian).
10. Ryabushko A. P. *The Problem of Stability of Motion of Bodies in the General Theory of Relativity*. Minsk, 1987. 112 p. (in Russian).

#### Информация об авторах

Рябушко Антон Петрович – д-р физ.-мат. наук, профессор. Белорусский национальный технический университет (пр. Независимости, 65, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tatyana-zhur@mail.ru.

Жур Татьяна Антоновна – канд. физ.-мат. наук, доцент. Белорусский государственный аграрный технический университет (пр. Независимости, 99, 220023, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tatyana-zhur@mail.ru.

#### Information about the authors

Ryabushko Anton P. – D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor. Belarusian National Technical University (65, Nezavisimosti Ave., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tatyana-zhur@mail.ru.

Zhur Tatyana A. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Assistant Professor. Belarusian State Agrarian Technical University (99, Nezavisimosti Ave., 220023, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tatyana-zhur@mail.ru.

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

**ХИМИЯ**  
**CHEMISTRY**

УДК 004.94+547.7+616-006+616-085  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-197-206>

Поступило в редакцию 15.02.2023  
Received 15.02.2023

**А. М. Андрианов<sup>1</sup>, К. В. Фурс<sup>2</sup>, Н. А. Шульдов<sup>2</sup>, член-корреспондент А. В. Тузиков<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,  
Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,  
Минск, Республика Беларусь*

**DE NOVO ДИЗАЙН ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ОСНОВНОЙ ПРОТЕАЗЫ  
КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2 С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИЙ ИСКУССТВЕННОГО  
ИНТЕЛЛЕКТА И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**

**Аннотация.** С помощью генеративной нейронной сети глубокого обучения, разработанной ранее на основе технологий искусственного интеллекта, осуществлен *de novo* дизайн 95 775 потенциальных лигандов основной протеазы (Mpro) SARS-CoV-2, играющей важную роль в процессе репликации вируса. Методами молекулярного докинга и молекулярной динамики выполнена оценка аффинности связывания этих молекул с каталитическим сайтом фермента. В результате проведенных исследований отобраны 7 соединений-лидеров, которые характеризуются низкими значениями свободной энергии Гиббса, сопоставимыми с величинами, полученными с помощью идентичного вычислительного протокола для двух мощных нековалентных ингибиторов Mpro SARS-CoV-2, использованных в расчетах в качестве позитивного контроля. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования идентифицированных соединений в работах по созданию новых противовирусных препаратов, терапевтическое действие которых основано на ингибировании каталитической активности Mpro SARS-CoV-2.

**Ключевые слова:** генеративные нейронные сети глубокого обучения, SARS-CoV-2, основная протеаза, молекулярный докинг, молекулярная динамика, противовирусные препараты

**Для цитирования.** *De novo* дизайн потенциальных ингибиторов основной протеазы коронавируса SARS-CoV-2 с помощью технологий искусственного интеллекта и молекулярного моделирования / А. М. Андрианов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 197–206. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-197-206>

**Alexander M. Andrianov<sup>1</sup>, Konstantin V. Furs<sup>2</sup>, Mikita A. Shuldau<sup>2</sup>,  
Corresponding Member Alexander V. Tuzikov<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**DE NOVO DESIGN OF POTENTIAL SARS-CoV-2 MAIN PROTEASE INHIBITORS USING ARTIFICIAL  
INTELLIGENCE AND MOLECULAR MODELING TECHNOLOGIES**

**Abstract.** *De novo* design of 95 775 potential ligands of SARS-CoV-2 main protease (Mpro), playing an important role in the process of virus replication, was carried out using a deep learning generative neural network that was developed previously based on artificial intelligence technologies. Molecular docking and molecular dynamics methods were used to evaluate the binding affinity of these molecules to the catalytic site of the enzyme. As a result, 7 leading compounds exhibiting Gibbs free energy low values comparable with the values obtained using an identical computational protocol for two potent non-covalent SARS-CoV-2 Mpro inhibitors used in calculations as a positive control were selected. The results obtained indicate the promise of applying identified compounds for development of new antiviral drugs able to inhibit the catalytic activity of SARS-CoV-2 Mpro.

**Keywords:** deep learning generative neural networks, SARS-CoV-2, main protease, molecular docking, molecular dynamics, antiviral drugs

**For citation.** Andrianov A. M., Furs K. V., Shuldau M. A., Tuzikov A. V. *De novo* design of potential SARS-CoV-2 main protease inhibitors using artificial intelligence and molecular modeling technologies. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 197–206 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-197-206>

**Введение.** В последние годы генеративные модели глубокого обучения нашли широкое применение в исследованиях по разработке лекарств *de novo* [1]. Благодаря огромному прогрессу методов глубокого обучения в настоящее время разработаны генеративные модели с различной архитектурой и разными методами обучения, использующие разные типы и структуры данных. Применение этих моделей уже показало их способность генерировать соединения, которые могут быть синтезированы, активны *in vitro*, стабильны и проявляют активность *in vivo* в моделях, связанных с различными заболеваниями [2]. Однако несмотря на то что генеративные модели глубокого обучения становятся все более распространенными в химической и биологической информатике, их потенциал в этой области еще не раскрыт в полном объеме. В связи с этим разработка и применение генеративных методов глубокого обучения для компьютерного конструирования потенциальных лекарственных препаратов имеют большое научное и практическое значение. При этом использование технологий глубокого обучения в сочетании с методами виртуального скрининга существенно расширяет их возможности и позволяет значительно сократить время и затраты, необходимые для создания новых терапевтических средств [3]. Среди методов виртуального скрининга важная роль принадлежит молекулярному докингу, который широко используется для предсказания ориентации лигандов в сайте связывания белков-мишеней, предсказания свободной энергии образования комплексов и исследования профиля межмолекулярных взаимодействий [4]. Молекулярная динамика (МД) также является мощным вычислительным инструментом для решения задач, ориентированных на идентификацию малых молекул, формирующих перспективные базовые структуры для разработки новых лекарственных препаратов [5]. В отличие от молекулярного докинга, МД моделирует движения каждого атома в поле остальных атомов, более эффективно, чем другие алгоритмы, отражает гибкость как лиганда, так и белка и позволяет с более высокой точностью предсказывать аффинность связывания [5]. Примеры успешных приложений этих вычислительных подходов к виртуальному скринингу химических соединений с заданными свойствами наглядно демонстрируют их возможности для создания новых низкомолекулярных лекарств-кандидатов [5].

Настоящая работа продолжает исследования, начатые в [6], в которой были разработаны две генеративные модели глубокого обучения для *de novo* дизайна потенциальных ингибиторов основной протеазы (Mpro; Main Protease) SARS-CoV-2 – фермента, критически важного для репликации и транскрипции вируса, и, поэтому, представляющего перспективную мишень для конструирования эффективных противовирусных препаратов [7]. В связи с этим в настоящее время ведутся интенсивные исследования по разработке новых эффективных ингибиторов Mpro SARS-CoV-2, подробная информация о которых представлена в [8]. Эти исследования позволили обнаружить ряд перспективных природных ингибиторов фермента из растений, морских организмов и микроорганизмов, синтезировать ковалентные пептидомиметики и малые молекулы, проявляющие анти-SARS-CoV-2 активность в инфицированных клетках человека [8]. Однако мутации генома коронавируса, ведущие к появлению новых вариантов COVID-19, потенциально устойчивых к используемым в клинике препаратам, обуславливают необходимость разработки новых противовирусных соединений, способных ингибировать каталитическую активность фермента.

Цель данного исследования заключалась в применении разработанных ранее [6] генеративных моделей глубокого обучения для *de novo* дизайна потенциальных ингибиторов Mpro SARS-CoV-2 и последующей идентификации соединений-лидеров методами молекулярного моделирования. Для решения поставленной задачи были выполнены исследования, включавшие:

- 1) *de novo* дизайн потенциальных ингибиторов SARS-CoV-2 с заданной энергией связывания с каталитическим сайтом фермента;
- 2) молекулярный докинг и оценку аффинности связывания сгенерированных соединений с терапевтической мишенью;
- 3) молекулярную динамику комплексов потенциальных лигандов с Mpro SARS-CoV-2 и расчет свободной энергии их образования;
- 4) анализ полученных результатов и отбор соединений, перспективных для тестирования на моделях *in vitro*.

**Материалы и методы исследования.** *De novo* дизайн потенциальных лигандов Mpro SARS-CoV-2. Разработанную ранее [6] генеративную нейронную сеть глубокого обучения использовали

для *de novo* дизайна высокоаффинных лигандов каталитического сайта Mpro SARS-CoV-2 с целью последующей идентификации потенциальных ингибиторов этого фермента методами молекулярного моделирования. В результате были получены линейные представления SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) ([https://dbpedia.org/page/Simplified\\_molecular-input\\_line-entry\\_system](https://dbpedia.org/page/Simplified_molecular-input_line-entry_system)) для 128 955 молекул. Трехмерные (3D) структуры химических соединений восстанавливали из данного формата с помощью алгоритма, включавшего следующие этапы:

1) чтение структуры и генерация 2D проекций координат атомов молекул из описаний SMILES;

2) генерацию 3D координат атомов молекул;

3) добавление атомов водорода;

4) оптимизацию сгенерированной 3D структуры соединения;

5) проверку сохранения исходной стереохимии молекулы в полученных структурах.

Суммарное количество молекул, отобранных для построения комплексов этих соединений с Mpro SARS-CoV-2 методами молекулярного докинга, составило 95 775.

*Молекулярный докинг.* Молекулярный докинг проводили с помощью программы AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu>) в приближении жесткого рецептора и гибких лигандов. В качестве рецептора использовали структуру Mpro SARS-CoV-2 в кристалле (идентификационный код в Банке данных белков 6Y84; <https://www.rcsb.org>). Ячейка для докинга включала каталитический сайт Mpro SARS-CoV-2 со следующими параметрами:  $\Delta X = 19 \text{ \AA}$ ,  $\Delta Y = 21 \text{ \AA}$ ,  $\Delta Z = 23 \text{ \AA}$  с центром в точках  $X = -20 \text{ \AA}$ ,  $Y = 19 \text{ \AA}$ ,  $Z = -26 \text{ \AA}$ . Значение параметра ширины охвата конформационного пространства лигандов, определяющего количество независимых запусков процедуры поиска, задавали равным 100. Значения свободной энергии связывания лигандов с Mpro SARS-CoV-2 рассчитывали с помощью классической оценочной функции 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 оценочной функции и на основе этих данных вычисляли величину экспоненциального консенсусного ранга (ECR) [9]. В результате из 95 775 исходных молекул были отобраны лиганды, которые принадлежали 11 группам с высшими значениями ECR, что позволило идентифицировать 39 соединений, комплексы которых с Mpro SARS-CoV-2 исследовали методами молекулярной динамики.

*Молекулярная динамика.* Молекулярную динамику комплексов лиганд/Mpro в воде выполняли в программном пакете Amber18 с использованием силовых полей Amber ff14SB (Mpro) 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  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  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 при 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 200 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>).

Средние значения энергии связывания для динамических моделей комплексов лиганд/Mpro рассчитывали с помощью метода MM/GBSA [10] в программном пакете Amber18 (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). При расчете свободной энергии первые 50 нс МД моделирования отводили на релаксацию системы и не учитывали в расчетах. Энергию связывания вычисляли для 150 комплексов МД траектории, разделенных интервалом 1 нс. Для расчета полярной

составляющей энергии сольватации использовали континуальную модель растворителя Пуассона–Больцмана с ионной силой 0,15 М. Неполярные 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 AmberTools18 (<https://ambermd.org/doc12/Amber18.pdf>). В качестве контрольных соединений в расчетах использовали два мощных нековалентных ингибитора Mpro SARS-CoV-2 со значениями констант ингибирования  $IC_{50}$ , равными  $18 \pm 2$  нМ (ингибитор I) и  $20 \pm 5$  нМ (ингибитор II). Эти соединения представлены в [11] под номерами 21 и 23 соответственно.

**Результаты и их обсуждение.** Анализ данных молекулярного моделирования позволил выявить семь соединений-лидеров, которые продемонстрировали высокое химическое сродство к каталитическому сайту Mpro SARS-CoV-2 согласно низким значениям свободной энергии связывания, предсказанным для статических и динамических моделей комплексов лиганд/Mpro. Химические структуры этих соединений показаны на рис. 1, а в табл. 1 и 2 приведены их физико-химические параметры, традиционно используемые в качестве основных фильтров для скрининга лигандов на их способность быть эффективными при пероральном применении. Анализ данных табл. 1 показывает, что лиганд I полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к потенциальному лекарству «правилом пяти» Липинского, которые обеспечивают такие важные характеристики, как всасывание, распределение, метаболизм и экскреция [12]. В то же время лиганды II–VII обнаруживают лишь одно нарушение этого правила, связанное с небольшим превышением их молекулярной массы (табл. 1), что позволяет предположить, что эти соединения также обладают лекарственными свойствами [12]. Кроме того, данные качественной оценки молярной растворимости анализируемых соединений, являющейся одним из основных свойств, влияющих на абсорбцию, указывают на то, что эти молекулы растворимы в воде, о чем свидетельствуют значения  $\log S$ , рассчитанные с помощью программного обеспечения веб-сервера SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) (табл. 2). Наконец, расчеты показывают, что анализируемые соединения (рис. 1) могут быть синтезированы, что является основным фактором для выбора наиболее перспективных молекул, идентифицированных методами виртуального скрининга. Это предположение подтверждается оценкой синтетической доступности (СД) этих молекул (табл. 3), которая классифицирует значения СД в диапазоне от 1 (очень легко) до 10 (очень сложно) (<http://www.swissadme.ch>).

На рис. 2 приведены аминокислотные остатки Mpro SARS-CoV-2, которые участвуют в межмолекулярных взаимодействиях, реализующихся в структурных комплексах идентифицированных соединений с каталитическим центром фермента. Анализ рис. 2 показывает, что эти лиганды образуют широкую сеть ван-дер-ваальсовых контактов с такими функционально важными остатками фермента, как His-41, Met-49 (кроме соединения VI), Met-165, Glu-166 и Gln-189. Наряду с ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями анализируемые соединения образуют водородные связи с Gly-143 (соединения I, III, IV), His-41 (соединение II), Ser-46 (соединение II), Thr-24 (соединение VI), Thr-26 (соединения II и VI), Glu-166 (соединения II, III, IV, V и VII), Cys-145 (соединение IV), His-163 (соединение V) и Gln-192 (соединение VII) (рис. 2). Кроме того, соединения III, V и VI участвуют в специфических катион- $\pi$  взаимодействиях с His-41, который является частью каталитической диады Mpro, образованной этим остатком и Cys-145 [14]. Наконец,  $\pi$ -сопряженные системы соединений VI и VII образуют  $\pi$ -стэкинг с боковой цепью His-41, а соединение III формирует солевой мостик с Glu-166 (рис. 2). При этом химическое сродство соединений к Mpro обеспечивается главным образом межмолекулярными водородными связями и ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями.

Эффективность межмолекулярных взаимодействий, реализующихся в статических моделях комплексов лиганд/Mpro, подтверждается низкими значениями свободной энергии связывания и констант диссоциации, свидетельствующими о высоком сродстве соединений I–VII к каталитическому сайту Mpro SARS-CoV-2 (табл. 3). Данные табл. 3 позволяют предположить, что эти значения, рассчитанные с использованием трех различных оценочных функций, по меньшей мере, сравнимы со значениями, полученными с помощью идентичного вычислительного протокола для контрольных ингибиторов I и II. Результаты МД расчетов приводят к тому же выводу, что

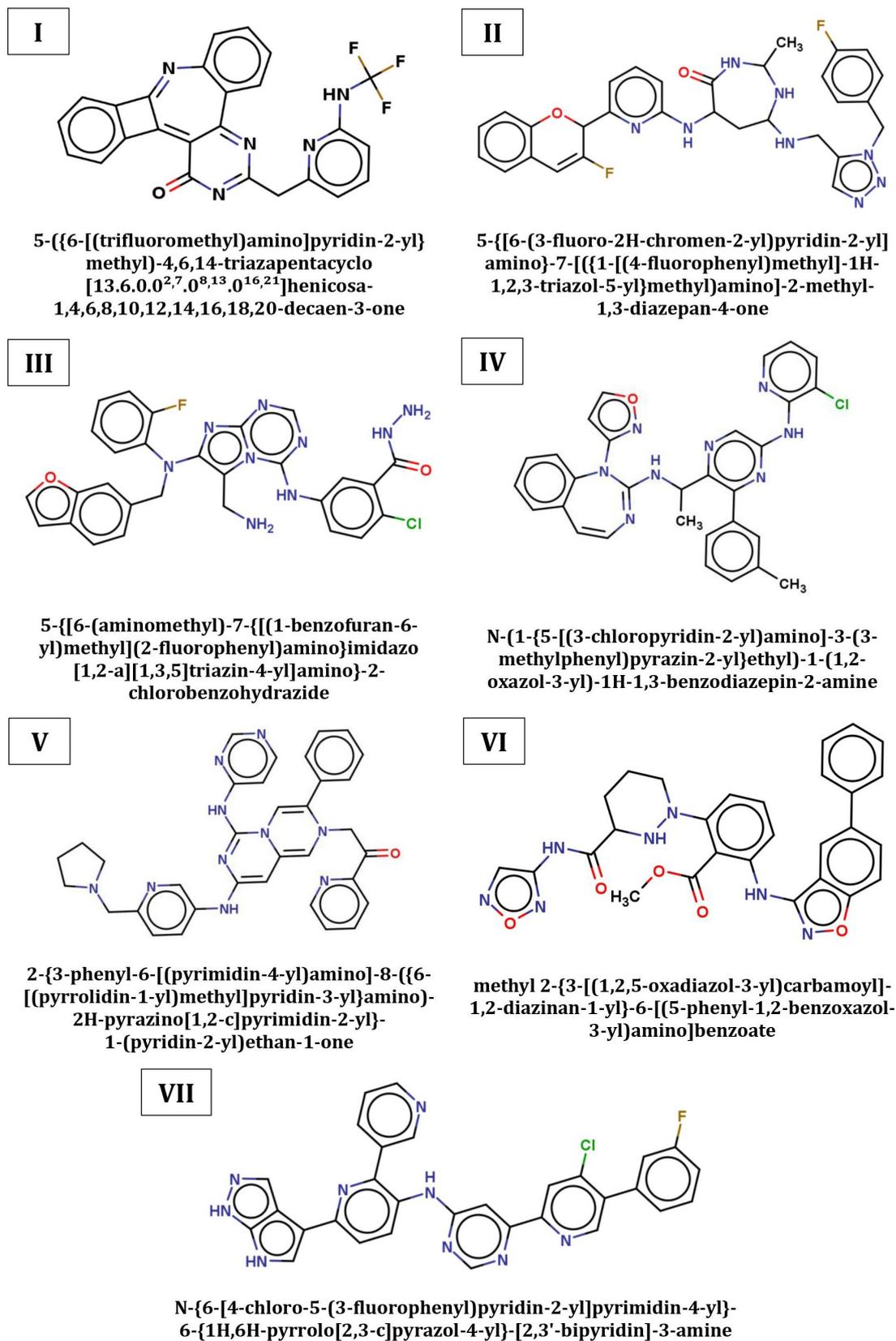


Рис. 1. Химические структуры идентифицированных соединений. Приведены названия соединений согласно систематической номенклатуре ИЮПАК

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

Т а б л и ц а 1. Физико-химические параметры идентифицированных соединений

T a b l e 1. Physicochemical parameters of the identified compounds

Лиганд Ligand	Химическая формула <sup>1</sup> Chemical formula	Молекулярная масса <sup>1</sup> (Да) Molecular mass (Da)	LogP <sup>2</sup>	Число доноров водородной связи <sup>1</sup> Number of H-bond donors	Число акцепторов водородной связи <sup>1</sup> Number of H-bond acceptors
I	C <sub>25</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O	457,4	4,43	1	8
II	C <sub>30</sub> H <sub>30</sub> F <sub>2</sub> N <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	572,6	2,93	4	9
III	C <sub>28</sub> H <sub>23</sub> C <sub>1</sub> FN <sub>9</sub> O <sub>2</sub>	572,0	3,48	5	8
IV	C <sub>30</sub> H <sub>25</sub> C <sub>1</sub> N <sub>8</sub> O	549,0	4,73	2	6
V	C <sub>34</sub> H <sub>32</sub> N <sub>10</sub> O	596,7	3,62	2	7
VI	C <sub>28</sub> H <sub>25</sub> N <sub>7</sub> O <sub>5</sub>	539,5	3,43	3	9
VII	C <sub>30</sub> H <sub>19</sub> C <sub>1</sub> FN <sub>9</sub>	560,0	4,93	3	7

П р и м е ч а н и я: <sup>1</sup> – физико-химические параметры рассчитывали с помощью веб-сервера открытого доступа SwissADME (<http://www.swissadme.ch>); <sup>2</sup> – LogP (липофильность соединения) вычисляли с использованием веб-платформы SciFinder (<https://scifinder.cas.org/>).

N o t e s: <sup>1</sup> – physical and chemical parameters were calculated using the SwissADME open access web server (<http://www.swissadme.ch>); <sup>2</sup> – LogP (lipophilicity of the compound) was calculated using the SciFinder web platform (<https://scifinder.cas.org/>).

Т а б л и ц а 2. Данные о молярной растворимости в воде и синтетической доступности, предсказанные для сконструированных соединений с помощью веб-сервера SwissADME

T a b l e 2. Data on the molar solubility in water and synthetic accessibility predicted for the designed compounds by the SwissADME web server

Лиганд Ligand	Десятичный логарифм молярной растворимости в воде Decimal logarithm of the molar solubility in water, LogS	Синтетическая доступность Synthetic accessibility
I	-5,68	3,55
II	-5,40	5,70
III	-6,37	4,07
IV	-6,62	5,23
V	-6,79	4,52
VI	-6,28	4,83
VII	-6,75	3,89

Т а б л и ц а 3. Значения свободной энергии связывания ( $\Delta G$ ) и констант диссоциации ( $K_d$ ) для статических моделей комплексов лиганд/Mpro согласно оценочным функциям AutoDock Vina, RFScore4 и NNScore2T a b l e 3. Binding free energy ( $\Delta G$ ) and dissociation constants ( $K_d$ ) for static models of the ligand/Mpro complexes according to the AutoDock Vina, RFScore4, and NNScore2 scoring functions

Лиганд Ligand	$\Delta G_{VINA}^1$ , ккал/моль $\Delta G_{VINA}^1$ , kcal/mol	$K_{dVINA}^1$ , мкМ $K_{dVINA}^1$ , $\mu$ M	$\Delta G_{RFScore4}^2$ , ккал/моль $\Delta G_{RFScore4}^2$ , kcal/mol	$K_{dRFScore4}^2$ , мкМ $K_{dRFScore4}^2$ , $\mu$ M	$\Delta G_{NNScore2.0}^2$ , ккал/моль $\Delta G_{NNScore2.0}^2$ , kcal/mol	$K_{dNNScore2.0}^2$ , мкМ $K_{dNNScore2.0}^2$ , $\mu$ M
I	-9,1	0,384	-10,9	0,022	-11,9	0,0041
II	-10,3	0,055	-11,0	0,016	-11,6	0,0069
III	-8,7	0,735	-11,1	0,015	-12,7	0,0012
IV	-10,0	0,089	-11,1	0,014	-13,0	0,0007
V	-9,2	0,326	-10,9	0,022	-13,4	0,0004
VI	-9,6	0,171	-11,2	0,012	-11,9	0,0043
VII	-9,9	0,105	-11,2	0,012	-12,9	0,0007
Ингибитор I	-8,3	1,407	-11,0	0,018	-8,1	1,9
Ингибитор II	-8,5	1,017	-11,1	0,015	-7,9	2,9

П р и м е ч а н и я: <sup>1</sup> – значения  $\Delta G$ , предсказанные программой AutoDock Vina, были переведены в  $K_d$  по формуле  $\Delta G = R T \ln(K_d)$ , где  $\Delta G$  – свободная энергия связывания;  $R$  – универсальная газовая постоянная;  $T$  – абсолютная температура, равная 310 К [13]. <sup>2</sup> – Эту формулу также использовали для преобразования значений  $K_d$ , оцененных с помощью RFScore 4 и NNScore 2.0, в значения  $\Delta G$ .

N o t e s: <sup>1</sup> – the  $\Delta G$  values predicted by AutoDock Vina were converted to  $K_d$  using the formula  $\Delta G = R T \ln(K_d)$ , where  $\Delta G$  is the binding free energy,  $R$  is the universal gas constant,  $T$  is the absolute temperature of 310 K [13]. <sup>2</sup> – This formula was also used to convert  $K_d$  values estimated using RFScore 4 and NNScore 2.0 to the  $\Delta G$  values.

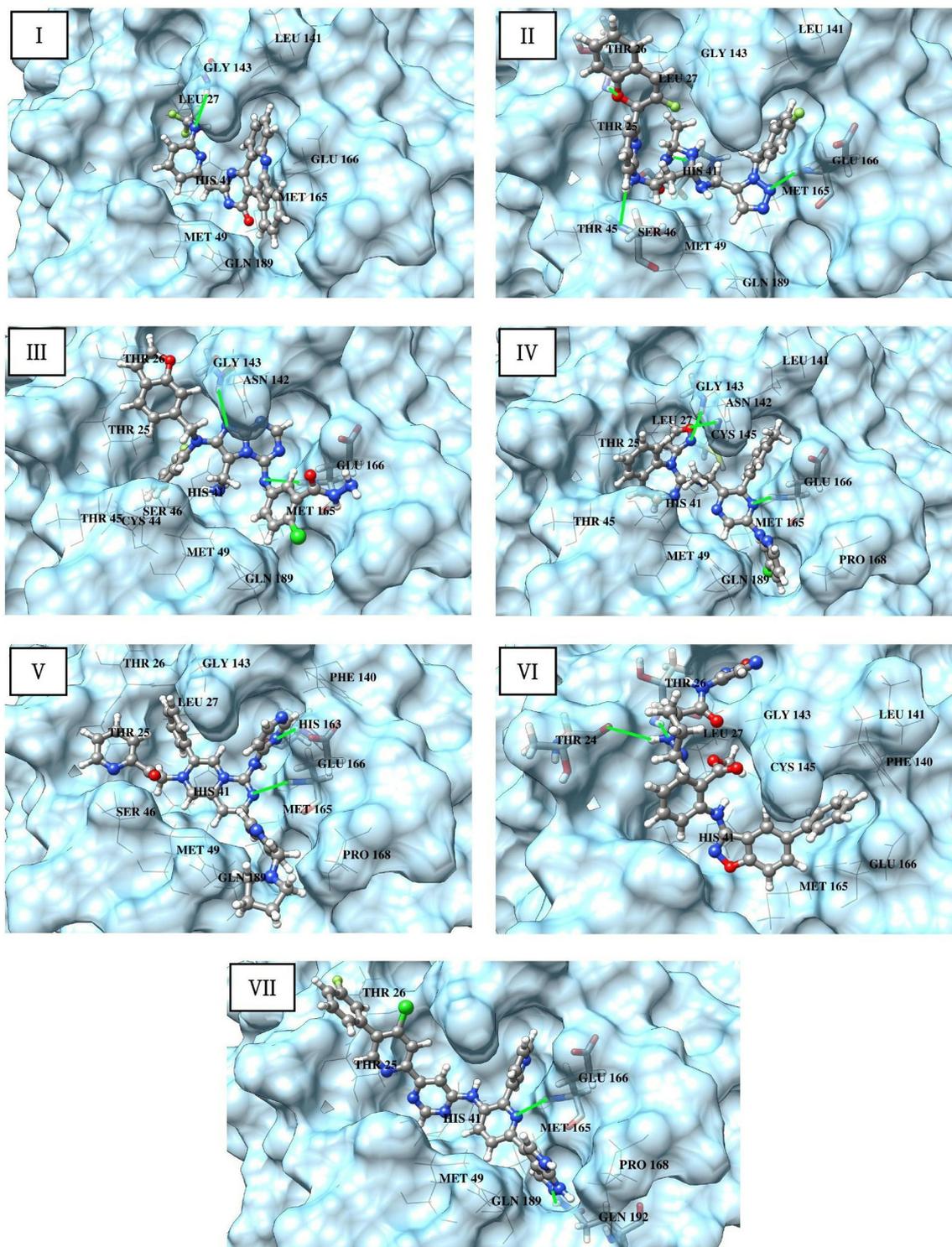


Рис. 2. Структурные комплексы идентифицированных соединений с Mpro SARS-CoV-2, построенные методом молекулярного докинга. Соединения представлены моделью «шарик–палочка–шарик». Указаны остатки Mpro, образующие межатомные контакты с лигандами. Остатки Mpro, участвующие в водородных связях, обозначены палочковой моделью. Водородные связи показаны сплошными зелеными линиями. Проволочная модель использована для обозначения остатков Mpro, образующих ван-дер-ваальсовы контакты, катион- $\pi$  взаимодействия и  $\pi$ -стэкинг

Fig. 2. Structural complexes of the identified compounds with SARS-CoV-2 Mpro generated by molecular docking. The compounds are represented by a ball–stick–ball model. The Mpro residues forming interatomic contacts with the ligands are indicated. Residues of Mpro 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 Mpro residues forming van der Waals contacts, cation- $\pi$  interactions and  $\pi$ -stacking

и данные молекулярного докинга: комплексы идентифицированных соединений с Mpro SARS-CoV-2 энергетически стабильны, на что указывают низкие значения энергии связывания, сопоставимые с величинами, полученными для контрольных ингибиторов I и II (табл. 4). Этот вывод подтверждают данные о временных зависимостях среднеквадратичных отклонений (RMSD, Root-Mean-Square Deviations) координат атомов динамических структур комплексов от их стартовых моделей. Для предсказанных соединений средние значения RMSD, равные  $2,14 \pm 0,31$  Å (соединение I),  $2,39 \pm 0,24$  Å (соединение II),  $2,05 \pm 0,32$  Å (соединение III),  $2,26 \pm 0,28$  Å (соединение IV),  $1,98 \pm 0,23$  Å (соединение V),  $2,39 \pm 0,33$  Å (соединение VI),  $1,80 \pm 0,24$  Å (соединение VII), близки к величинам  $1,94 \pm 0,30$  и  $1,99 \pm 0,27$  Å, рассчитанным для ингибиторов I и II соответственно. Эти результаты согласуются с данными о временных зависимостях свободной энергии образования комплексов лиганд/Mpro, показывающими, что их величины не обнаруживают тенденции к увеличению во времени.

Т а б л и ц а 4. Средние значения свободной энергии связывания  $\langle \Delta G \rangle$  и соответствующие им стандартные отклонения  $\Delta G_{\text{STD}}$ , рассчитанные для динамических моделей комплексов лиганд/Mpro

Table 4. Mean binding free energies  $\langle \Delta G \rangle$  and corresponding standard deviations  $\Delta G_{\text{STD}}$  calculated for dynamic models of the ligand/Mpro complexes

Лиганд Ligand	$\langle \Delta H \rangle$ , ккал/моль $\langle \Delta H \rangle$ , kcal/mol	$\Delta H_{\text{STD}}$ , ккал/моль $\Delta H_{\text{STD}}$ , 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	$\Delta G_{\text{STD}}$ , ккал/моль $\Delta G_{\text{STD}}$ , kcal/mol
I	-45,3	5,2	-22,3	4,5	-23,0	6,9
II	-46,0	6,2	-24,4	4,7	-21,5	7,3
III	-46,6	6,0	-27,6	6,0	-19,0	8,1
IV	-44,6	3,9	-25,9	5,3	-18,7	6,7
V	-45,5	4,3	-28,2	4,3	-17,3	6,0
VI	-40,9	6,2	-24,8	4,4	-16,1	7,0
VII	-37,4	4,8	-23,4	3,9	-13,9	6,2
A	-42,8	4,1	-24,5	4,9	-18,3	6,1
B	-39,0	4,1	-24,5	4,5	-14,4	6,4

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 average values of the enthalpy and entropy components of free energy, respectively;  $(\Delta H)_{\text{STD}}$  and  $(T\Delta S)_{\text{STD}}$  are the standard deviations corresponding to these values.

Изучение данных о вкладах отдельных аминокислот Mpro в энтальпию связывания позволило выявить остатки фермента, доминирующие в интерфейсе комплексов лиганд/Mpro. Согласно расчетным данным, это остатки His-41 (соединения I–V, VII), Met-49 (соединения I–VII), Asn-142 (соединения III–VI), Gly-143 (соединения III–VI), Cys-145 (соединения III–VII), Met-165 (соединения I–V, VII), Glu-166 (соединения I, III–VII), Asp-187 (соединения I, II, VII) и Gln-189 (соединения I–V, VII). Для контрольных ингибиторов I и II остатками, критически важными для связывания с ферментом, являются Met-49, Asn-142, Gly-143, Cys-145, Met-165, Glu-166, Asp-187 и Gln-189. Кроме того, ингибитор I формирует межмолекулярные контакты с остатком His-41, вносящим значительный вклад в энтальпийную компоненту свободной энергии Гиббса. Важно отметить, что большинство этих остатков используются предсказанными соединениями для эффективных взаимодействий с Mpro SARS-CoV-2. Полученные данные свидетельствуют о том, что эти основные вкладчики в интерфейс исследуемых комплексов играют роль «якорных» остатков, обеспечивающих их энергетическую стабилизацию. Среди этих «горячих точек» связывания в первую очередь следует отметить His-41 и Cys-145, образующие каталитическую диаду Mpro SARS-CoV-2 [14].

Расчет величин среднеквадратичных флуктуаций (RMSF, Root-Mean-Square Fluctuations) отдельных остатков Mpro, позволяющих судить об их гибкости на МД траектории, показывает, что большинство остатков фермента демонстрируют небольшие колебания. Причем этот вывод относится как к остаткам Mpro в комплексах с предсказанными соединениями и контрольными ингибиторами, так и в свободном состоянии. Средние значения RMSF в обоих случаях примерно одинаковы и находятся в интервале от 0,88 до 1,15 Å. Важно отметить, что колебательные

движения остатков Mpro, доминирующих в интерфейсе комплексов лиганд/Mpro, также ограничены в пространстве. Для этих остатков значения RMSF не превышают 2,2 Å, а в большинстве случаев они меньше 1,5 Å. В то же время значения RMSF, рассчитанные для этих «горячих точек» фермента, связанного с идентифицированными и контрольными соединениями, близки друг к другу, что подтверждает их ключевую роль во взаимодействии с каталитическим сайтом Mpro SARS-CoV-2.

**Заключение.** Данные о величинах энергии связывания идентифицированных соединений с Mpro, полученные методами молекулярного докинга и молекулярной динамики, согласуются друг с другом и указывают на их высокое сродство к каталитическому центру фермента (табл. 3 и 4). Это обстоятельство позволяет предполагать, что использованный нами вычислительный подход, сочетающий *de novo* дизайн на основе технологий искусственного интеллекта с молекулярным моделированием, позволил избежать ложноположительных результатов и правильно оценить силу межмолекулярных взаимодействий. Это предположение косвенно подтверждается результатами недавнего исследования [15], в котором было показано, что использование оценочной функции машинного обучения NNScore 2.0 совместно с 1–4 классическими оценочными функциями обеспечивает наилучшую точность предсказания аффинности связывания. В совокупности полученные данные дают веские основания предполагать, что предсказанные соединения могут иметь низкие значения свободной энергии связывания с Mpro, близкие к величинам, рассчитанным для контрольных ингибиторов I и II. На основании этих данных можно ожидать, что низкомолекулярные соединения I–VII (рис. 1) обладают хорошим терапевтическим потенциалом для ингибирования каталитической активности фермента и, следовательно, могут служить базовыми структурами для разработки противовирусных препаратов, терапевтическое действие которых основано на блокаде Mpro SARS-CoV-2.

**Благодарности.** Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект Ф21АРМГ-001) и Альянсом международных научных организаций ANSO (ANSO-CR-PP-2021-04). Авторы выражают благодарность А. М. Юшкевичу за разработку алгоритма восстановления трехмерной структуры соединений по SMILES представлению.

**Acknowledgments.** The work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Basic Research (project Ф21АРМГ-001) and the Alliance of International Scientific Organizations ANSO (ANSO-CR-PP-2021-04). The authors are grateful to Yushkevich A. M. for developing an algorithm for restoring the 3D structure of compounds from the SMILES representation.

#### Список использованных источников

1. Advances and perspectives in applying deep learning for drug design and discovery / C. F. Lipinski [et al.] // Front. Robotics and AI. – 2019. – Vol. 6, N 108. <https://doi.org/10.3389/frobt.2019.00108>
2. Deep learning enables rapid identification of potent DDR1 kinase inhibitors / A. Zhavoronkov [et al.] // Nat. Biotechnol. – 2019. – Vol. 37, N 9. – P. 1038–1040. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0224-x>
3. Application of deep learning and molecular modeling to identify small drug-like compounds as potential HIV-1 entry inhibitors / A. M. Andrianov [et al.] // J. Biomol. Struct. Dyn. – 2022. – Vol. 40, N 16. – P. 7555–7573. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1905559>
4. Review on the use of Molecular Docking as the First Line Tool in Drug Discovery and Development / R. N. Sahoo [et al.] // Indian J. Pharm. Sci. – 2022. – Vol. 84, N 5. – P. 1334–1337. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.1031>
5. Hollingsworth, S. A. Molecular dynamics simulation for all / S. A. Hollingsworth, R. O. Dror // Neuron. – 2018. – Vol. 99, N 6. – P. 1129–1143. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.011>
6. Разработка генеративной нейронной сети глубокого обучения для компьютерного дизайна потенциальных ингибиторов коронавируса SARS-CoV-2 / Н. А. Шульдов [и др.] // Математическая биология и биоинформатика. – 2022. – Т. 17, № 2. – С. 188–207. <https://doi.org/10.17537/2022.17.188>
7. Ullrich, S. The SARS-CoV-2 main protease as drug target / S. Ullrich, C. Nitsche // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2020. – Vol. 30, N 17. – Art. 127377. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127377>
8. Review on development of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (M<sup>Pro</sup>) / S. G. Katre [et al.] // Futur. J. Pharm. Sci. – 2022. – Vol. 8, N 1. – Art. 36. <https://doi.org/10.1186/s43094-022-00423-7>
9. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking / K. Palacio-Rodriguez [et al.] // Sci. Rep. – 2019. – Vol. 9, N 1. – Art. 5142. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3>
10. Genheden, S. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities / S. Genheden, U. Ryde // Expert Opin. Drug Discov. – 2015. – Vol. 10, N 5. – P. 449–461. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936>
11. Potent noncovalent inhibitors of the main Protease of SARS-CoV-2 from molecular sculpting of the drug peramppanel guided by free energy perturbation calculations / C. H. Zhang [et al.] // ACS Cent. Sci. – 2021. – Vol. 7, N 3. – P. 467–475. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.1c00039>
12. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski [et al.] // Adv. Drug Deliv. Rev. – 1997. – Vol. 23, N 1–3. – P. 3–25. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(96)00423-1)

13. Structural basis of SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup> and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants / M. T. Qamar [et al.] // *J. Pharm. Anal.* – 2020. – Vol. 10, N 4. – P. 313–319. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009>
14. Sharma, G. Thermodynamic analysis reveals a temperature-dependent change in the catalytic mechanism of *Bacillus stearothermophilus* tyrosyl-tRNA synthetase / G. Sharma, E. A. First // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 284, N 7. – P. 4179–4190. <https://doi.org/10.1074/jbc.m808500200>
15. 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. Bioinf.* – 2021. – Vol. 22, N 1. – P. 497–514. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz173>

## References

1. Lipinski C. F., Maltarollo V. G., Oliveira P. R., da Silva A. B. F., Honorio K. M. Advances and perspectives in applying deep learning for drug design and discovery. *Frontiers in Robotics and AI*, 2019, vol. 6, no. 108. <https://doi.org/10.3389/frobt.2019.00108>
2. Zhavoronkov A., Ivanenkov Y. A., Aliper A., Veselov M. S., Aladinskiy V. A., Aladinskaya A. V., Terentiev V. A. [et al.]. Deep learning enables rapid identification of potent DDR1 kinase inhibitors. *Nature Biotechnology*, 2019, vol. 37, no. 9, pp. 1038–1040. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0224-x>
3. Andrianov A. M., Nikolaev G. I., Shuldov N. A., Bosko I. P., Anischenko A. I., Tuzikov A. V. Application of deep learning and molecular modeling to identify small drug-like compounds as potential HIV-1 entry inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2022, vol. 40, no. 16, pp. 7555–7573. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1905559>
4. Sahoo R. N., Pattanaik S., Pattnaik G., Mallick S., Mohapatra R. Review on the use of Molecular Docking as the First Line Tool in Drug Discovery and Development. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2022, vol. 84, no. 5, pp. 1334–1337. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.1031>
5. Hollingsworth S. A., Dror R. O. Molecular dynamics simulation for all. *Neuron*, 2018, vol. 99, no. 6, pp. 1129–1143. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.011>
6. Shuldau N. A., Yushkevich A. M., Furs K. V., Tuzikov A. V., Andrianov A. M. Development of a deep learning generative neural network for computer-aided design of potential SARS-CoV-2 inhibitors. *Mathematical Biology and Bioinformatics*, 2022, vol. 17, no. 2, pp. 188–207. <https://doi.org/10.17537/2022.17.188>
7. Ullrich S., Nitsche C. The SARS-CoV-2 main protease as drug target. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2020, vol. 30, no. 17, art. 127377. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127377>
8. Katre S. G., Asnani A. J., Pratyush K., Sakharkar N. G., Bhoje A. G., Sawarkar K. T., Nimbekar V. S. Review on development of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (M<sup>pro</sup>). *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2022, vol. 8, no. 1, art. 36. <https://doi.org/10.1186/s43094-022-00423-7>
9. Palacio-Rodriguez 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. 5142. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41594-3>
10. Genheden S., Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2015, vol. 10, no. 5, pp. 449–461. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936>
11. Zhang C. H., Stone E. A., Deshmukh M., Ippolito J. A., Ghahremanpour M. M., Tirado-Rives J., Spasov K. A. [et al.]. Potent noncovalent inhibitors of the main protease of SARS-CoV-2 from molecular sculpting of the drug peramppanel guided by free energy perturbation calculations. *ACS Central Sciences*, 2021, vol. 7, no. 3, pp. 467–475. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.1c00039>
12. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997, vol. 23, no. 1–3, pp. 3–25. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(96)00423-1)
13. Qamar M. T., Alqahtani S. M., Alamri M. A., Chen L.-L. Structural basis of SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup> and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2020, vol. 10, no. 4, pp. 313–319. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009>
14. Sharma G., First E. A. Thermodynamic analysis reveals a temperature-dependent change in the catalytic mechanism of *Bacillus stearothermophilus* tyrosyl-tRNA synthetase. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, vol. 284, no. 7, pp. 4179–4190. <https://doi.org/10.1074/jbc.m808500200>
15. 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

Андреанов Александр Михайлович – д-р хим. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: alexande.andriano@yandex.ru.

Фурс Константин Викторович – инженер-программист. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ky6ujlo@gmail.com.

Шульднов Никита Андреевич – инженер-программист. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nickshuldov29@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), Professor, Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alexande.andriano@yandex.ru.

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: ky6ujlo@gmail.com.

Shuldau Mikita A. – 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: nickshuldov29@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 547.787:615.281.873  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-207-213>

Поступило в редакцию 10.08.2022  
Received 10.08.2022

**Ф. Ф. Лахвич<sup>1</sup>, О. Н. Ринейская<sup>1</sup>, Н. С. Голяк<sup>1</sup>, Н. К. Юркштович<sup>2</sup>,  
Е. Е. Насенникова<sup>2</sup>, академик Ф. А. Лахвич<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Государственное предприятие «Академфарм», Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

### **ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНАЯ АКТИВНОСТЬ РИВАРОКСАБАНА IN SILICO И IN VITRO**

**Аннотация.** Впервые была исследована *in silico* и *in vitro* активность Ривароксабана как представителя оксазолидинонов по отношению к *Mycobacterium terrae*. В исследованиях *in silico* показана высокая аффинность Ривароксабана к β-кетоацил[ACP]синтазе I, которая участвует в биосинтезе миколовых кислот, являющихся компонентами клеточной стенки микобактерий. При помощи методов молекулярного докинга изучены два основных центра связывания Ривароксабана с протеином: минимальные энергии связывания –10,26 ккал/моль и –8,99 ккал/моль. Было показано, что раствор Ривароксабана (200 мкг/мл) угнетает рост культуры *Mycobacterium terrae*. Полученные данные открывают перспективу разработки новых эффективных противотуберкулезных лекарственных средств группы оксазолидинонов.

**Ключевые слова:** молекулярный докинг, оксазолидиноны, культура *Mycobacterium terrae*, противотуберкулезная активность, Ривароксабан

**Для цитирования.** Противотуберкулезная активность Ривароксабана *in silico* и *in vitro* / Ф. Ф. Лахвич [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 207–213. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-207-213>

**Todar T. Lakhvich<sup>1</sup>, Volha M. Ryneiskaya<sup>1</sup>, Natalia S. Golyak<sup>1</sup>, Nikolay K. Yurkshtovich<sup>2</sup>,  
Katsiaryna E. Nasennikava<sup>2</sup>, Academician Fiodar A. Lakhvich<sup>3</sup>**

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

<sup>2</sup>State company "Academpharm", Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

### **ANTI-TUBERCULOSIS ACTIVITY OF RIVAROXABAN IN SILICO AND IN VITRO**

**Abstract.** The activity of Rivaroxaban of oxazolidinone series against *Mycobacterium terrae* was investigated *in silico* and *in vitro*. *In silico* studies have shown a high binding affinity of Rivaroxaban to β-ketoacyl[ACP]synthase I that plays a key role in the biosynthesis of mycolic acids, being the components of the mycobacterial cell wall. In the molecular docking study, two main binding sites of Rivaroxaban with protein were predicted and evaluated: the minimum binding energies were found for the both sites with the values of –10.26 kcal/mol and –8.99 kcal/mol. A solution of Rivaroxaban (200 μg/ml) has been shown to inhibit the growth of a *Mycobacterium terrae* culture. The data obtained open up the prospect of developing new effective anti-tuberculosis drugs of oxazolidinone series.

**Keywords:** Anti-tuberculosis activity, molecular docking, *Mycobacterium terrae* culture, oxazolidinones, Rivaroxaban

**For citation.** Lakhvich T. T., Ryneiskaya V. M., Golyak N. S., Yurkshtovich N. K., Nasennikava K. E., Lakhvich F. A. Anti-tuberculosis activity of Rivaroxaban *in silico* and *in vitro*. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 207–213 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-207-213>

**Введение.** Бактериальная резистентность является актуальной проблемой современного здравоохранения. С конца прошлого века наблюдается резкий рост заболеваний туберкулезом, резистентным как к традиционному лечению лекарственными средствами (ЛС) первого ряда, так и к лечению резервными ЛС. Выделяют следующие варианты резистентных форм: туберкулез с устойчивостью к Рифампицину (Rifampicin-resistant tuberculosis (RR-TB)), туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB)) характеризу-

ется устойчивостью к Изониазиду и Рифампицину. При лечении такой формы используют ЛС второго ряда, что требует проведения длительной химиотерапии относительно дорогими и токсичными ЛС [1]. В ряде случаев развивается еще более резистентная форма заболевания – туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (Extensively drug-resistant TB (XDR-TB)). При данной форме пациенты не реагируют на лечение ЛС второго ряда. В 2018–2020 гг. по данным ВОЗ [2] в мире около 500 000 пациентов прошли лечение от RR-TB/MDR-TB, из них около 10 % составлял XDR-TB. В связи с резистентностью *Mycobacterium tuberculosis* к традиционным ЛС поиск новых противотуберкулезных ЛС среди представителей других классов соединений является актуальной проблемой для биомедицинской науки и практического здравоохранения [3].

Миколовые кислоты являются важнейшими компонентами клеточной стенки микобактерий. Благодаря разветвленности, большому числу атомов углерода, наличию эфирных и кетонных функциональных групп, циклопропановых фрагментов они обладают уникальными свойствами, которые обеспечивают высокую устойчивость микобактерий к химическим и физическим факторам и существенно затрудняют лечение пациентов, страдающих туберкулезом. Таким образом, синтез миколовых кислот имеет решающее значение для выживания микроорганизмов, и поиск ингибиторов отдельных этапов этого процесса открывает возможности для создания новых противотуберкулезных лекарственных средств.

Ранее нами было показано в исследовании *in silico* [4], что производные гидроксизонипекотиновых кислот с транс-диаксиальным расположением гидроксильных групп проявляют аффинность по отношению к природному и мимическому вариантам  $\beta$ -кетоацил[ACP]синтазы I, которая участвует в биосинтезе миколовых кислот. При этом зависимость влияния заместителей на активность была аналогичной исследованиям *in vitro* по отношению к *Mycobacterium tuberculosis* [4]. Выявление схожей зависимости как *in vitro*, так и *in silico* для комплекса с кодом белка 2WGF позволило использовать данный протеин в поиске структур-кандидатов для дальнейших стадий рационального драг-дизайна. В продолжение исследований нами изучались *in silico* соединения ряда оксазолидинонов [5]. С учетом использования антикоагулянтов в комплексной терапии осложнений туберкулеза [6], целью нашей работы явилось исследование *in silico* и *in vitro* активности Ривароксабана как представителя оксазолидинонов по отношению к *Mycobacterium terrae*.

**Материалы и методы исследования.** Информация о трехмерной структуре фермента  $\beta$ -кетоацил[ACP]синтазы I (код белка 2WGF, цепь A, 2WGE [7]) получена с сайта Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>). Для молекулярного докинга *in silico* использовался ряд специализированных программ: программный пакет ChemOffice, AutoDock Tools 1.5.7 [8], программа OpenBabelGUI, онлайн-серверы Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP) (<https://plip-tool.biotech.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) и Protein-Plus (<https://proteins.plus>).

Создание структурных формул соединений выполнено с помощью пакета программ ChemOffice. AutoDock 4 использовался для подготовки лигандов к стыковке с рецептором, расчета сетки потенциалов и непосредственно лиганд-белковых взаимодействий. При стыковке с целью оптимизации процесса в Autodock использовался генетический алгоритм поиска глобального минимума Ламарка (LGA) с числом прогонов 100, размером популяции 300 для жесткого рецептора и гибкого лиганда. Взаимодействие лиганда и белка (аффинность) оценивалось при помощи характеристик, полученных в результате докинга: энергии связывания и константы ингибирования ( $K_i$ ). В настоящей работе энергией связывания считали наименьшее значение изменения свободной энергии Гиббса при переходе комплекса лиганд–протеин из несвязанного состояния в связанное. Программа OpenBabelGUI использовалась в качестве конвертера форматов, требуемых AutoDock 4, PLIP и Protein-Plus. Поиск центров связывания, изучение характера взаимодействий лигандов с рецептором производились при помощи онлайн-серверов PLIP и Protein-Plus.

Исследование противотуберкулезной активности Ривароксабана (производитель компания Glenmark Life Sciences Limited, Индия) проводили на условно патогенном штамме *Mycobacterium terrae* 15755, который рекомендован в качестве модельного [9]. Проводили визуальную оценку роста *Mycobacterium terrae* в плотной питательной среде в чашках Петри. Был приготовлен исходный раствор Ривароксабана в диметилсульфоксиде (ДМСО) с концентрацией 2000 мкг/мл,

который затем добавляли в питательную среду Миддлбрука 7Н9 с глицерином (Middlebrook 7Н9 Broth with Glycerol) для получения концентрации 100 и 200 мкг/мл. Затем культуру микобактерий высевали во все анализируемые растворы. Эксперимент повторяли трижды для каждой концентрации Ривароксабана. В качестве эталона использовали Рифампицин, который применяется для лечения туберкулеза. Препарат Рифампицина для исследования готовился по вышеописанной методике. Для контроля влияния растворителя (ДМСО) проводился эксперимент с высеванием микобактерий на среду без Ривароксабана и Рифампицина. Проводился также контроль роста культуры. Все образцы выдерживали в термостате при 37 °С в течение трех недель.

**Результаты и их обсуждение.** Ривароксабан ((*S*)-5-хлор-N-((2-оксо-3-(4-(3-оксоморфолино)фенил)оксазолидин-5-ил)метил)-тиофен-2-карбоксамид) – это лекарственное средство, используемое в качестве антикоагулянта. По химическому строению относится к производным оксазолидинона. Ранее нами была показана возможность проявления антимикобактериальной активности близким по строению препаратом Линезолид путем воздействия на биосинтез миколовых кислот. Чтобы определить, является ли  $\beta$ -кетоацил[*ACP*]синтаза I мишенью Ривароксабана, проведен молекулярный докинг указанных протеина и лиганда.

Пространственная структура  $\beta$ -кетоацил[*ACP*]синтазы I (*2WGF*, *2WGE*) рассматривалась при помощи онлайн-средств визуализации для определения вероятных центров связывания. «Слепой» докинг Ривароксабана к протеину показал возможность взаимодействия лиганда в пределах двух карманов; при этом было выделено 33 варианта стыковки. В качестве референтного лиганда был взят тиолактомицин. Минимальное значение энергии связывания Ривароксабана –10,18 ккал/моль найдено для стыковки в пределах того же кармана (активного центра), который определен методом рентгеноструктурного анализа для комплекса *2WGE* и тиолактомицина ([7] и подтвержден нами *in silico* для комплекса *2WGF* и тиолактомицина (рис. 1)).

Был также выявлен карман 2 с минимальной энергией связывания –8,92 ккал/моль (рис. 1). Комплексы с минимальными энергиями были визуализированы и проанализированы в онлайн-сервисах PLIP и Protein-Plus. Информация о взаимодействиях между атомами лиганда и остатками аминокислот (АА) протеина представлена в табл. 1, 2.

Координаты атомов аминокислотных остатков, участвующих в связывании, использовались для расчета центров карманов, в пределах которых производился докинг.

Для выяснения характеристик связей лиганда в активном центре проводился докинг в ограниченной области протеина, совпадающей с выявленными центрами связывания. Пространство кармана 1: размер 40 × 40 × 40, координаты центра 18,183 × 33,451 × 18,084. Пространство кармана 2: размер 40 × 40 × 40, координаты центра 6,744 × 29,074 × 8,191. В результате эксперимента были получены показатели, близкие по значению к характеристикам слепого докинга с тенденцией к незначительному уменьшению минимальной энергии связывания. Так, минимальное

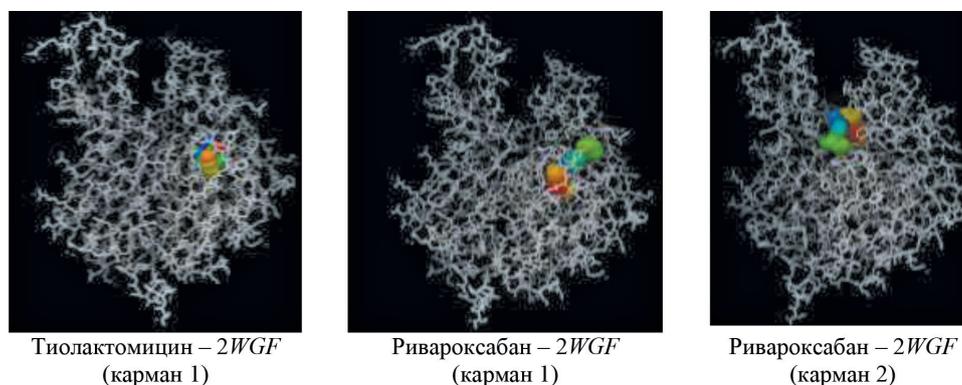


Рис. 1. Структурные комплексы лиганда и протеина *2WGF*, полученные методом молекулярного докинга и соответствующие разным кластерам с наиболее низкой энергией связывания

Fig. 1. Structural complexes of Rivaroxaban and *2WGF* protein obtained by molecular docking and corresponding to different clusters with the lowest binding energy

Т а б л и ц а 1. Показатели, характеризующие взаимодействия атомов лиганда и аминокислотных остатков протеина в центре связывания 1

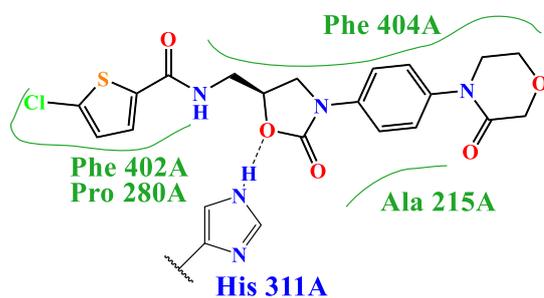
T a b l e 1. Parameters of ligand-amino acid interactions for binding center 1

AA	Тип взаимодействия Interaction type	Межатомное расстояние, Å Distances, Å	Координаты Coordinates		
			x	y	z
215 Ala	Гидрофобное	3,56	12,955	28,406	17,184
276 His	Галогеновая связь	3,75	25,195	28,329	16,373
280 Pro	Гидрофобное	3,91	20,123	34,765	17,96
315 Thr	Гидрофобное	3,16	12,943	32,605	20,236
317 Ile	Гидрофобное	3,74	20,336	32,614	20,946
402 Phe	Гидрофобное	3,21	17,547	43,989	15,807

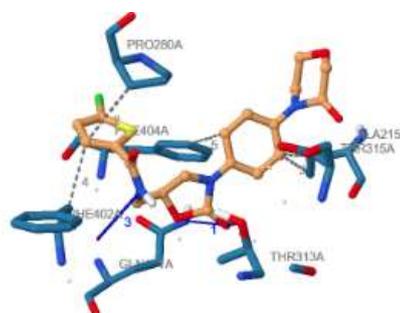
Т а б л и ц а 2. Показатели, характеризующие взаимодействия атомов лиганда и аминокислотных остатков протеина в центре связывания 2

T a b l e 2. Parameters of ligand-amino acid interactions for binding center 2

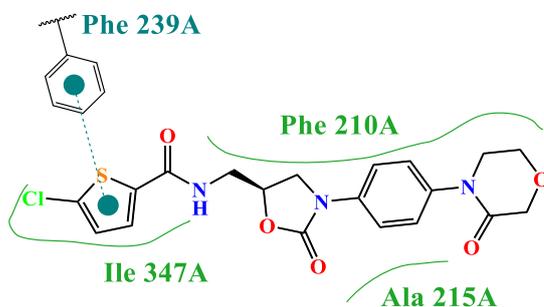
AA	Тип взаимодействия Interaction type	Межатомное расстояние, Å Distances, Å	Координаты Coordinates		
			x	y	z
199 Glu	Гидрофобное	3,73	7,210	32,496	3,732
210 Phe	Гидрофобное	3,92	-0,909	22,385	5,032
203 Glu	Водородная связь	3,32	11,685	29,280	10,316
239 Phe	$\pi$ -Стекинг	4,11	6,736	28,534	11,362
347 Ile	Гидрофобное	2,96	9,000	32,674	10,512



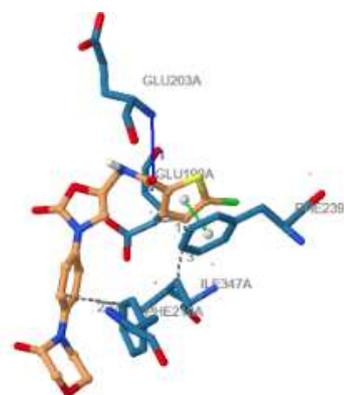
Карман 1 (Protein-Plus)



Карман 1 (PLIP)



Карман 2 (Protein-Plus)



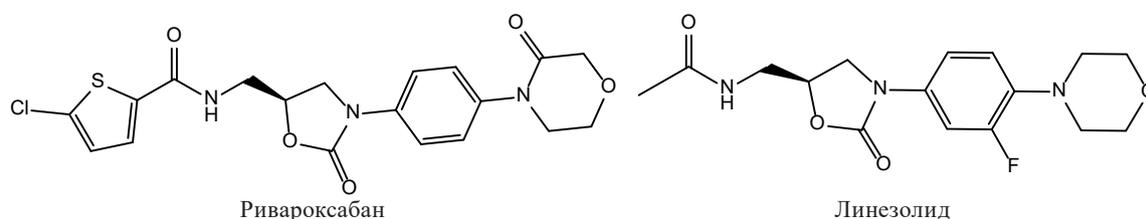
Карман 2 (PLIP)

Рис. 2. 2D- и 3D-визуализация связывания лиганда с протеином

Fig. 2. 2D and 3D visualization of ligand-protein binding

значение энергии связывания для Ривароксабана в кармане 1 составило  $-10,26$  ккал/моль;  $K_i = 30,05$  нМ, в кармане 2 –  $-8,99$  ккал/моль;  $K_i = 9,99$  нМ. Большинство типов взаимодействий совпадает с результатами «слепого» докинга. Дополнительные взаимодействия не меняют расположения лиганда в карманах и вносят незначительный вклад в общую энергию связывания (рис. 2).

Следует отметить, что гидрофобные взаимодействия играют исключительно важную роль в формировании аффинности лиганда к рецептору в пределах обоих карманов. Так, остатки фенилаланина, аланина и пролина для кармана 1 и фенилаланина и изолейцина для кармана 2 формируют протяженную гидрофобную матрицу, вдоль которой «вытягивается» молекула Ривароксабана. При этом в кармане 1 гидрофобная матрица «захватывает» молекулу лиганда с обеих сторон бензольного кольца, что, возможно, и приводит к более сильному связыванию с рецептором. Влияние гидрофильных взаимодействий и галогеновой связи носит вспомогательный характер и не является определяющим для формирования аффинности к ферменту. Исходя из вышесказанного, можно предположить, что существенное повышение сродства Ривароксабана к рецептору по сравнению с Линезолидом [6] является следствием добавления гидрофобного тиофенового фрагмента в ацильный остатке и повышение конформационной жесткости и гидрофобности оксазинового цикла за счет замены вторично-аминового на амидный фрагмент:



Выявленные карманы и альтернативные позиции связывания могут использоваться в дальнейших исследованиях для поиска модифицированных структур с более высокой активностью и изучения механизма возникновения физиологического отклика. Для оценки перспективности этих исследований *in silico* проведено испытание антибактериальной активности по отношению к *Micobacterium terrae*.

Т а б л и ц а 3. Антимикобактериальные свойства Ривароксабана в сравнении с Рифампицином

T a b l e 3. Antimycobacterial properties of Rivaroxaban compared to Rifampicin

Название исследуемого соединения Name of the test compound	100 мкг/мл 100 µg/ml	200 мкг/мл 200 µg/ml
1. Ривароксабан	+	–
	+	–
	+	–
2. Рифампицин	–	–
	–	–
	–	–
3. Контроль растворителя (ДМСО)	++++	
4. Контроль культуры ( <i>M. terrae</i> 15755)	++++	

П р и м е ч а н и е. «++++» – обильный рост, «+++» – сильный рост, «++» – слабый рост, «+» – незначительный рост, «–» – отсутствие роста.

N o t e. «++++» – abundant growth, «+++» – strong growth, «++» – weak growth, «+» – slight growth, «–» – no growth.

Рифампицин в концентрации 100 и 200 мкг/мл полностью подавляет рост *Mycobacterium terrae*. Ривароксабан в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляет рост *Mycobacterium terrae*, а в концентрации 100 мкг/мл наблюдается торможение роста культуры, что свидетельствует о противотуберкулезной активности Ривароксабана. Однако установление минимальных ингибирующих концентраций требует дополнительных исследований.

Проведенные ранее испытания Ривароксабана не показали антибактериальной активности в отношении грамположительных бактерий [10]. Поэтому результаты нашего исследования с большой степенью вероятности подтверждают реализацию механизма антибактериального действия через ингибирование синтеза миколовых кислот.

**Закключение.** Установлена *in silico* высокая аффинность Ривароксабана к  $\beta$ -кетоацил[ACP] синтазе I. Наибольший вклад в энергию связывания Ривароксабана с протеином вносят гидрофобные взаимодействия, в том числе за счет тиофенового фрагмента. Показано, что раствор Ривароксабана (200 мкг/мл) вызывает угнетение роста культуры *Mycobacterium terrae*.

### Список использованных источников

1. Clinical outcome of individualized treatment of multidrug-resistant tuberculosis in Latvia: a retrospective cohort study / V. Leimane [et al.] // *Lancet*. – 2005. – Vol. 365, N 9456. – P. 318–326. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)17786-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)17786-1)
2. Global tuberculosis report 1997–2021 [Electronic resource] // World Health Organization. – Mode of access: [https://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/). – Date of access: 01.06.2022.
3. Multitarget Drug Discovery for Tuberculosis and Other Infectious Diseases / K. Li [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 57, N 7. – P. 3126–3139. <https://doi.org/10.1021/jm500131s>
4. Лахвич, Ф. Ф. Рациональный дизайн модели ациклических аналогов гидроксизонипекотиновых кислот / Ф. Ф. Лахвич, П. Ю. Зушчик, А. Ф. Лахвич // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики. – Минск, 2019. – Вып. 9. – С. 389–399.
5. Лахвич, Ф. Ф. Исследование *in silico* зависимости структура–активность оксазолидинонов в поиске противотуберкулезных лекарственных средств / Ф. Ф. Лахвич, М. И. Борова, О. Н. Ринейская // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики. – Минск, 2022. – Вып. 12, т. 2. – С. 200–205.
6. Thromboembolism in *Mycobacterium tuberculosis* Infection: Analysis and Literature Review / H. Ha [et al.] // *Infect. Chemother.* – 2019. – Vol. 51, N 2. – P. 142–149. <https://doi.org/10.3947/ic.2019.51.2.142>
7. Crystal structures of *Mycobacterium tuberculosis* KasA show mode of action within cell wall biosynthesis and its inhibition by thiolactomycin / S. R. Luckner [et al.] // *Structure*. – 2009. – Vol. 17, N 7. – P. 1004–1013. <https://doi.org/10.1016/j.str.2009.04.012>
8. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility / G. M. Morris [et al.] // *J. Computational Chem.* – 2009. – Vol. 30, N 16. – P. 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
9. Griffiths, P. A. *Mycobacterium terrae*: a potential surrogate for *Mycobacterium tuberculosis* in a standard disinfectant test / P. A. Griffiths, J. R. Babb, A. P. Fraise // *J. Hospital Infection*. – 1998. – Vol. 38, N 3. – P. 183–192. [https://doi.org/10.1016/s0195-6701\(98\)90273-0](https://doi.org/10.1016/s0195-6701(98)90273-0)
10. Assessment report Xarelto Rivaroxaban [Electronic resource] / European Medicines Agency. – Mode of access: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/xarelto-h-c-944-x-0010-epar-assessment-report-extension\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/xarelto-h-c-944-x-0010-epar-assessment-report-extension_en.pdf). – Date of access: 01.06.2022.

### References

1. Leimane V., Riekstina V., Holtz T., Zarovska E., Skripconoka V., Thorpe L. E., Laserson K. F., Wells C. D. Clinical outcome of individualized treatment of multidrug-resistant tuberculosis in Latvia: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2005, vol. 365, no. 9456, pp 318–326. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)17786-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)17786-1)
2. Global tuberculosis report 1997–2021. *World Health Organization*. Available at: [https://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/) (accessed 01 June 2022).
3. Li K., Schurig-Briccio L. A., Feng X., Upadhyay A., Pujari V., Lechartier B., Fontes F. L. [et al.]. Multitarget Drug Discovery for Tuberculosis and Other Infectious Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, vol. 57, no. 7, pp. 3126–3139. <https://doi.org/10.1021/jm500131s><https://doi.org/10.3947/ic.2019.51.2.142>
4. Lakhvich T. T., Zushchik P. Yu., Lakhvich A. T. Rational design of the model of acyclic analogues of hydroxyisonipicotinic acids. *BGMU v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki* [Advances in medicine and medical sciences: collection of Belarusian state medical university]. Minsk, 2019, vol. 9, pp. 389–399 (in Russian).
5. Lakhvich T. T., Borava M. I., Ryneiskaya V. M. *In silico* SAR studies of oxazolidinones as potential anti-tuberculosis drugs. *BGMU v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki* [Advances in medicine and medical sciences: collection of Belarusian state medical university]. Minsk, 2019, iss. 12, vol. 2, pp. 200–205 (in Russian).
6. Ha H., Kim K. H., Park J. H., Lee J. K., Heo E. Y., Kim J. S., Kim D. K., Choi I. S., Chung H. S., Lim H. J. Thromboembolism in *Mycobacterium tuberculosis* Infection: Analysis and Literature Review. *Infection and Chemotherapy*, 2019, vol. 51, no. 2, pp. 142–149. <https://doi.org/10.3947/ic.2019.51.2.142>
7. Luckner S. R., Machutta C. A., Tonge P. J., Kisker C. Crystal structures of *Mycobacterium tuberculosis* KasA show mode of action within cell wall biosynthesis and its inhibition by thiolactomycin. *Structure*, 2009, vol. 17, no. 7, pp. 1004–1013. <https://doi.org/10.1016/j.str.2009.04.012>
8. Morris G. M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M. F., Belew R. K., Goodsell D. S., Olson A. J. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 2009, vol. 30, no. 16, pp. 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>

9. Griffiths P. A., Babb J. R., Fraise A. P. *Mycobacterium terrae*: a potential surrogate for *Mycobacterium tuberculosis* in a standard disinfectant test. *Journal of Hospital Infection*, 1998, vol. 38, no. 3, pp 183–192. [https://doi.org/10.1016/s0195-6701\(98\)90273-0](https://doi.org/10.1016/s0195-6701(98)90273-0)

10. Assessment report Xarelto Rivaroxaban. *European Medicines Agency*. Available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/xarelto-h-c-944-x-0010-epar-assessment-report-extension\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/xarelto-h-c-944-x-0010-epar-assessment-report-extension_en.pdf) (accessed 01 June 2022).

### Информация об авторах

*Лаквич Федор Федорович* – канд. хим. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [lakhvichtt@gmail.com](mailto:lakhvichtt@gmail.com).

*Рынейская Ольга Николаевна* – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [ryneiskaya@mail.ru](mailto:ryneiskaya@mail.ru).

*Голяк Наталья Степановна* – канд. фармацевт. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [goliakns@mail.ru](mailto:goliakns@mail.ru).

*Юркишович Николай Константинович* – канд. хим. наук, заместитель директора. Государственное предприятие «Академфарм» (ул. Купревича, 5/3, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [yurkshtovich@academpharm.by](mailto:yurkshtovich@academpharm.by).

*Насенникова Екатерина Евгеньевна* – начальник лаборатории. Государственное предприятие «Академфарм» (ул. Купревича, 5/3, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [nasennikova@academpharm.by](mailto:nasennikova@academpharm.by).

*Лаквич Федор Адамович* – академик, д-р хим. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [lakhvich@iboch.by](mailto:lakhvich@iboch.by).

### Information about the authors

*Lakhvich Todor T.* – Ph. D. (Chemistry), Associate Professor, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [lakhvichtt@gmail.com](mailto:lakhvichtt@gmail.com).

*Ryneiskaya Volha M.* – Ph. D. (Medicine), Associate Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [ryneiskaya@mail.ru](mailto:ryneiskaya@mail.ru).

*Golyak Natalia S.* – Ph. D. (Pharmacy), Associate Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [goliakns@mail.ru](mailto:goliakns@mail.ru).

*Yurkshtovich Nikolay K.* – Ph. D. (Chemistry), Deputy Director. State company “Academpharm” (5/3, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [yurkshtovich@academpharm.by](mailto:yurkshtovich@academpharm.by).

*Nasennikova Katsiaryna E.* – Head of the Laboratory. State company “Academpharm” (5/3, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [nasennikova@academpharm.by](mailto:nasennikova@academpharm.by).

*Lakhvich Fiodar A.* – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [lakhvich@iboch.by](mailto:lakhvich@iboch.by).

**БИОЛОГИЯ****BIOLOGY**

УДК 633.111.1:631.523.4

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-214-221>

Поступило в редакцию 26.09.2022

Received 26.09.2022

**В. А. Лемеш<sup>1</sup>, академик С. И. Гриб<sup>2</sup>, Е. В. Лагуновская<sup>1</sup>, В. Н. Кипень<sup>1</sup>,  
А. А. Булойчик<sup>1</sup>, В. Н. Буштевич<sup>2</sup>, В. И. Сакович<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по земледелию,  
Жодино, Республика Беларусь

**KASP-ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ЛОКУСОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРИЗНАКОМ  
«МАССА 1000 ЗЕРЕН» МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)**

**Аннотация.** С использованием технологии KASP определен аллельный состав локусов *TaTGW6-A1*, *TaGASR7-A1*, *TaCKX6-D1*, *TaGs3-D1*, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», у 25 сортов и сортообразцов мягкой яровой пшеницы белорусской и зарубежной селекции. Подобраны аннотированные ДНК последовательности для моделирования и синтеза праймеров KASP. Показано, что исследованные генотипы несут как благоприятные аллели, ассоциированные с увеличением массы 1000 зерен, так и аллели, оказывающие негативное влияние на исследуемый признак. Выделено 6 образцов пшеницы белорусской селекции, несущих комплекс аллелей, положительно коррелирующих со значением массы 1000 зерен: сорт Весточка-17, сортообразцы Э-2318, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2695.

**Ключевые слова:** мягкая яровая пшеница, масса 1000 зерен, молекулярные маркеры, ген, локус, аллель, KASP-генотипирование

**Для цитирования.** KASP-генотипирование локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен» мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) / В. А. Лемеш [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 214–221. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-214-221>

**Valiantsina A. Lemesh<sup>1</sup>, Academician Stanislau I. Gryb<sup>2</sup>, Alena V. Lagunovskaya<sup>1</sup>, Viachaslau N. Kipen<sup>1</sup>,  
Andrei A. Bulochik<sup>1</sup>, Victor N. Bushtevich<sup>2</sup>, Valiantsina I. Sakovich<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Arable Farming,  
Zhodino, Republic of Belarus

**KASP GENOTYPING OF LOCI ASSOCIATED WITH THE “1000-GRAIN WEIGHT” TRAIT  
IN COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)**

**Abstract.** Using the KASP technology, the allelic composition of *TaTGW6-A1*, *TaGASR7-A1*, *TaCKX6-D1*, and *TaGs3-D1* loci associated with the 1000-grain weight trait was identified in 25 varieties and variety accessions of the common wheat of Belarusian and foreign breeding. Annotated DNA sequences were selected for modeling and synthesis of KASP primers. It was demonstrated that the examined genotypes had carried both favorable alleles associated with 1000-grain weight, and the alleles producing a negative effect on the trait under study. Six wheat accessions of Belarusian breeding were identified. They carried a complex of alleles positively correlating with the 1000-grain weight trait: variety Vestochka-17, accessions E-2318, E-2263, E-2298, E-1569, and E-2695.

**Keywords:** common wheat, 1000-grain weight, molecular markers, a gene, a locus, allele, KASP genotyping

**For citation.** Lemesh V. A., Gryb S. I., Lagunovskaya A. V., Kipen V. N., Bulochik A. A., Bushtevich V. N., Sakovich V. I. KASP genotyping of loci associated with the “1000-grain weight” trait in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 214–221 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-214-221>

**Введение.** Один из подходов в современной селекции растений – идентификация в селекционном материале генов, отвечающих за хозяйственно важные признаки. Генотипическая характеристика селекционного образца является частью практически каждого эксперимента, связанного с направленным отбором растений. Понимание функций генов и доступ к полногеномным последовательностям ДНК открыли новые аспекты для улучшения сельскохозяйственных культур [1]. В основе маркирования генов, идентификации их различных аллельных вариантов и разработки технологий ускоренного и направленного отбора исходного и селекционного материала лежит полиморфизм ДНК (маркер-ассоциированная и геномная селекция). Аллельные вариации в геноме одного и того же вида можно разделить на три основные группы: различия в количестве tandemных повторов в определенном гене, сегментные вставки/делеции и однонуклеотидные полиморфизмы [2]. К настоящему времени разработано множество молекулярных маркеров для обнаружения полиморфизмов, возникающих в результате этих трех типов генетических изменений. Маркеры однонуклеотидного полиморфизма (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) оказались наиболее универсальными и распространенными формами генетической изменчивости среди особей одного и того же вида [3]. Хотя SNP менее полиморфны, чем маркеры SSR, из-за своей диаллельной природы, они компенсируют этот недостаток тем, что являются многочисленными, повсеместными и поддающимися автоматизации при генотипировании с высокой пропускной способностью.

Конкурентная аллель-специфическая ПЦП (KASP – Kompetitive Allele Specific PCR) считается эталоном для генотипирования SNP для целей селекции из-за высокой производительности, чувствительности, специфичности, сравнительно низкой стоимости и простоты использования [4]. Технология позволяет проводить биаллельную оценку однонуклеотидных полиморфизмов, а также вставок и делеций в определенных генах. Ключевое свойство технологии KASP – использование системы детекции на основе FRET-кассет (Fluorescence Resonant Energy Transfer). В реакции KASP применяются аллель-специфичные праймеры с заданной концевой последовательностью, которые соответствуют одной из двух FRET-кассет: один меченый красителем FAM, другой – HEX. Распознавание биаллельных полиморфизмов осуществляется за счет конкурентного связывания двух аллель-специфичных прямых праймеров. Технология KASP-генотипирования имеет существенные преимущества в стоимости, и, в сочетании с микрообъемами реакционной смеси, представляет собой исключительно точное, гибкое и экономичное решение для генотипирования и, следовательно, может широко использоваться в селекционной практике.

Многочисленные исследования по разработке функциональных маркеров KASP и создание соответствующих баз данных сделало их легко доступными для использования в маркер-ассоциированной селекции растений [5; 6]. В частности, за последнее десятилетие разработано множество функциональных маркеров KASP для генотипирования аллельных вариаций, которые ассоциированы с экономически важными признаками пшеницы [4; 7; 8]. Технология KASP весьма эффективна для мягкой пшеницы, поскольку среди злаков геном пшеницы оценивается как один из наименее полиморфных.

Признак «масса 1000 зерен» является одним из основных количественных показателей, определяющих урожайность пшеницы. Он позволяет оценить содержание запасных питательных веществ в зерне, а также рассчитать оптимальную норму посева. Данный показатель находится под контролем различных генов, контролирующих как морфометрические параметры (длина, ширина и толщина зерновки), так и активность различных ферментов растений, в частности, ключевых энзимов, участвующих в углеводном обмене. Ряд локусов, связанных с массой зерна и урожайностью у пшеницы, являются ортологами генов риса. Эти локусы обеспечивают генетическую основу для накопления благоприятных аллелей, лежащих в основе признака «масса 1000 зерен» [9]. К генам, контролирующим массу 1000 зерен, относятся, в частности, *TaTGW6-A1*, *TaGASR7-A1*, *TaCKX6-D1*, *TaGs3-D1*. Установлено, что определенные SNP, инсерции и делеции в последовательностях этих генов оказывают значительное влияние на активность кодируемых ими ферментов, и, как следствие, величину параметра «масса 1000 зерен» [10]. Проведение KASP-генотипирования пшеницы по генам, ассоциированным с признаком «масса 1000 зерен»

с целью выявления генотипов с благоприятными аллелями и включения их в систему скрещиваний, позволит ускорить получение высокоурожайных сортов пшеницы.

Цель данной работы состояла в изучении аллельного состава локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», у сортов и сортообразцов мягкой яровой пшеницы с использованием высокопроизводительной технологии KASP для ускоренного выявления новых доноров и селекционно ценных форм.

**Материалы и методы исследования.** Материалом для исследований служили 25 сортов и сортообразцов мягкой яровой пшеницы белорусской и зарубежной селекции (табл. 1), представленные РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию».

Т а б л и ц а 1. Генотипы мягкой яровой пшеницы, исследуемые по аллельному составу генов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен»

T a b l e 1. Common wheat genotypes studied according to the allelic composition of genes associated with the 1000-grain weight trait

Сорт Variety	Сортообразец Variety sample		
KWS Akvilon	Э-2334	Э-2946	Л. 19
KWS Sunny	Э-2318	Э-2925	
Kitri	Э-1665	Э-2695	
Тоссата	Э-2263	Э-2911	
Любава	Э-2298	Э-2810	
Вена	Э-1420	Э-2518	
Восточка-17	Э-1569	636/17	
Зорка	Э-2492	Л. 15-77	

Выделение ДНК у пшеницы проводили из пяти индивидуальных зерновок стандартным фенол-хлороформным методом [11]. Отбирали зерновки, типичные для конкретного образца. Анализ качества и количества выделенной ДНК проверяли в 1 %-ном агарозном геле, а также с использованием спектрофотометрии. Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре N50-Touch (Implen, Германия).

KASP-генотипирование образцов проводили по четырем локусам, влияющим на признак «масса 1000 зерен» (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Локусы, ассоциированные с признаком «масса 1000 зерен» у пшеницы

T a b l e 2. Loci associated with the 1000-grain wheat trait

Локус Locus	Хромосома Chromosome	Белок // контролируемый параметр Protein // controlled parameter
<i>TaTGW6-A1</i>	3A	ИУК-гликозилгидролаза // масса зерна
<i>TaGASR7-A1</i>	7A	Сигнальный белок Snakin/GASA // длина зерновки и масса зерна
<i>TaCKX6-D1</i>	3D	Цитокинооксидаза/дегидрогеназа // размер зерновки
<i>TaGs3-D1</i>	7D	Гетеротримерный G-белок сигнального комплекса // размер зерновки

Для определения аллельных вариантов отобранных генов методом KASP-генотипирования с использованием различных баз данных (GenBank, GrainGenes, Gramene, European Wheat Database) и литературных источников нами подобраны аннотированные ДНК последовательности для моделирования и синтеза KASP праймеров.

ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 10 мкл, содержащей следующие компоненты: 30x KASP by Design Primer Mix (содержит аллель-специфичные праймеры: 3 KASP праймера, специальным образом синтезированных для анализа целевого участка с SNP или вставкой/делецией (LGC Biosearch Technologies, Великобритания)) – 0,14 мкл; KASP Master mix LGC Biosearch Technologies (Великобритания) – 2x/5,0 мкл; ДНК исследуемых генотипов пшеницы 15–30 нг / 2 мкл, бидистиллированная вода – до конечного объема. Для проведения амплификации с детекцией в режиме реального времени программировали прибор CFX96 Real-time PCR Detection System

(Bio-Rad, США) следующим образом: 94,0 °С – 15 мин, [94,0 °С – 20 с, 61,0 °С – 60 с (–0,6 °С/цикл)] – 10 циклов, [94,0 °С – 20 с, 55,0 °С – 60 с] – 26 циклов, шаг считывания флуоресцентного сигнала на 37 °С в течение 1 мин.

Пост-ПЦР (плавление ампликона) проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, включающей: ПЦР-смесь – 10 мкл, флуоресцентный интеркалирующий краситель EvaGreen 500 мкМ / 0,05 мкл, бидистиллированную воду – 9,95 мкл. Условия плавления ампликона: 95,0 °С – 30 с; 60,0 °С – 1 мин; повышение температуры с 65,0 до 95,0 °С с приращением в 0,5 °С/шаг и одновременным считыванием флуоресцентного сигнала в канале FAM/SYBR в течение 10 с. Для каждого гена установлена температура плавления ампликона. Вывод о накоплении специфического продукта ПЦР делали на основании анализа графиков плавления ампликона на пост-ПЦР стадии: пик, характеризующий температуру плавления специфического ампликона для каждого гена, должен соответствовать определенной температуре, а интенсивность значения  $d(RFU) / dT$  (характеризует изменение уровня флуоресцентного сигнала с изменением температуры) должна быть не менее 300 ед.

Визуализацию результатов осуществляли с использованием программы CFX Maestro™, BioRad. Результаты генотипирования оценивали на основании анализа 2D-графика аллельной дискриминации, на котором по оси X показаны стандартизованные данные финального уровня флуоресценции для первого флуорофора FAM (RFU<sup>1</sup>, относительные единицы флуоресценции), по оси Y – для второго флуорофора HEX (RFU<sup>2</sup>).

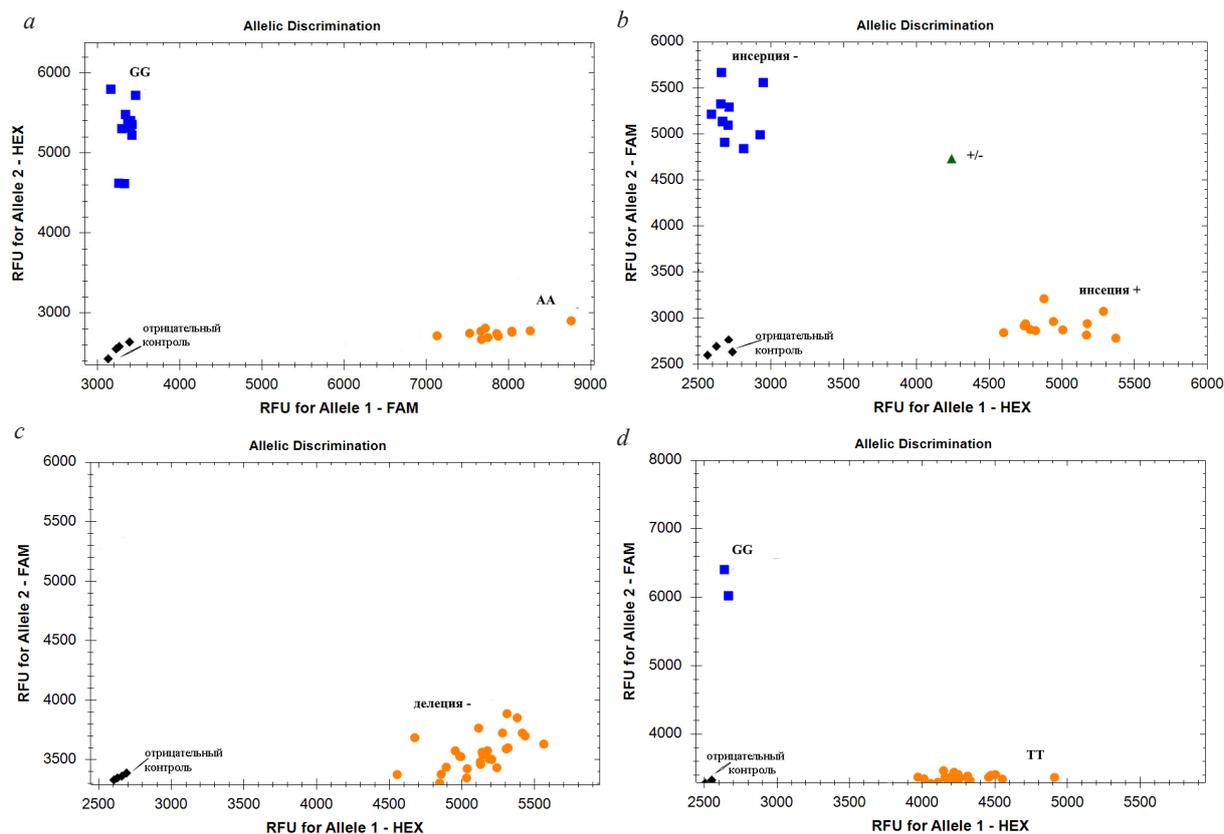
На первом этапе исследования каждая проба представляла собой пул из ДНК пяти индивидуальных растений одного генотипа. Если в результате генотипирования проба определялась как гетерозигота, проводили повторное генотипирование с использованием ДНК каждого индивидуального растения в отдельности. В зависимости от значений уровней флуоресценции RFU<sup>1</sup> и RFU<sup>2</sup>, а также от соотношения RFU<sup>1</sup>/RFU<sup>2</sup> для каждого исследуемого образца пшеницы устанавливали определенный генотип.

**Результаты и их обсуждение.** Для выявления сортов и сортообразцов пшеницы, несущих благоприятные аллели генов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», проведено KASP-генотипирование исследуемых образцов по локусам *TaTGW6-A1*, *TaGASR7-A1*, *TaCKX6-D1*, *TaGs3-D1*.

Локус *TaTGW6-A1* у пшеницы расположен на длинном плече хромосомы 3A и кодирует фермент ИУК-гликозил-гидролазу. Выявлено три SNP между сортами с более высокой и низкой массой 1000 зерен, которые в результате образуют два аллеля: *TaTGW6-A1a* и *TaTGW6-A1b*. Наличие аллеля *TaTGW6-A1a* коррелирует с увеличением массы 1000 зерен [12]. При генотипировании может быть определен генотип: G/G (благоприятный аллель *TaTGW6-A1a*, повышающий массу 1000 зерен), G/A (гетерозигота, несущая оба аллеля), A/A (неблагоприятный аллель *TaTGW6-A1b*, снижающий массу 1000 зерен). Среди исследуемых генотипов обнаружены как образцы с генотипом G/G (аллель *TaTGW6-A1a*), так и образцы с генотипом A/A (аллель *TaTGW6-A1b*). Гетерозигот не выявлено. Благоприятный аллель *TaTGW6-A1a* несли 14 образцов: 4 сорта (Любава, KWS Akvilon, Вена, Зорка) и 10 сортообразцов (Э-2334, Э-2318, Э-2263, Э-1420, Э-1569, Э-2492, Э-2695, Э-2911, Э-2810, Э-2518) (рис. а).

Локус *TaGASR7-A1* является гомологом гена *GASR7* риса, связанного с длиной зерновки. У пшеницы располагается на хромосоме 7A, влияет как на длину зерновки, так и на массу 1000 зерен. Описаны 2 основных гаплотипа (*H1c* и *H1g*), различающихся наличием либо отсутствием инсерции размером 1495 п. н. в 5'-проксимальной области в положении 124 п. н. перед стартовым кодоном. Гаплотип *H1c* коррелирует с большей длиной зерновки и увеличением массы 1000 зерен [13]. Для каждого образца может быть определен генотип, несущий инсерцию размером 1475 п. н. в 5'-проксимальной области (благоприятный гаплотип *H1c*, увеличивающий длину зерновки и повышающий массу 1000 зерен); генотип, несущий оба аллеля (гетерозигота); генотип, у которого отсутствует инсерция размером 1475 п. н. (неблагоприятный гаплотип *H1g*, уменьшающий длину зерновки и снижающий массу 1000 зерен).

Благоприятный гаплотип *H1c* нами выявлен у 14 генотипов: 4 сортов (KWS Sunny, Toccata, Kitri, Восточка-17) и 10 сортообразцов (Э-2318, Э-1665, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2946, Э-2695,



2D-график аллельной дискриминации: *a* – для однонуклеотидной замены G>A в локусе *TaTGW6-A1*; *b* – для наличия/отсутствия инсерции в локусе *TaGASR7-A1*; *c* – для наличия/отсутствия делеции в локусе *TaCKX6-D1*; *d* – для однонуклеотидной замены G>T в локусе *TaGs3-D1*

2D-diagram of allele discrimination: *a* – for single nucleotide substitution of G>A in the *TaTGW6-A1* locus; *b* – for the presence/absence of insertion in the *TaGASR7-A1* locus; *c* – for the presence /absence of deletion in the *TaCKX6-D1* locus; *d* – for single nucleotide substitution of G>T in the *TaGs3-D1* locus

636/17, Л. 15-77, Л. 19). Неблагоприятный гаплотип *Hlg* выявлен у 10 образцов. Сортообразец Э-1420 был неоднороден, что подтверждено отдельным генотипированием каждого индивидуального растения. Четыре из пяти проанализированных индивидуальных растений несли инсерцию (гаплотип *Hlc*), у одного растения она отсутствовала (гаплотип *Hlg*). На 2D-графике аллельной дискриминации этот сортообразец представлен как гетерозигота (обозначен треугольником) (рис. *b*).

Локус *TaCKX6-D1* расположен на хромосоме 3D пшеницы. Мультигенные семейства генов *CKX* кодируют белки цитокининоксидазы/дегидрогеназы, которые регулируют содержание цитокининов в органах развивающихся растений. Подтверждено, что они играют важную роль в продуктивности растений. В зависимости от наличия/отсутствия делеции во втором интроне выделяют 2 аллеля *TaCKX6-D1a* и *TaCKX6-D1b*. Благоприятным аллелем, влияющим на увеличение массы 1000 зерен, является *TaCKX6-D1a* [14]. Для каждого образца может быть определен генотип, несущий делецию 18 п. н. (благоприятный аллель *TaCKX6-D1a*, увеличивающий массу 1000 зерен); генотип, не несущий указанную делецию (неблагоприятный аллель *TaCKX6-D1b*, снижающий массу 1000 зерен), и генотип, несущий оба аллеля. В нашем исследовании не выявлены образцы с благоприятным аллелем *TaCKX6-D1a* (рис. *c*).

Локус *TaGs3-D1* также является гомологом гена риса, расположен на хромосоме 7D пшеницы и контролирует размер зерновки. Наличие SNP приводит к возникновению двух аллелей *TaGs3-D1a* и *TaGs3-D1b*. Благоприятным аллелем, влияющим на увеличение массы 1000 зерен, является аллель *TaGs3-D1a* [15]. При генотипировании для каждого образца может быть определен генотип: G/G (благоприятный аллель *TaGs3-D1a*, увеличивающий размер зерновки и повышающий

массу 1000 зерен), G/T (гетерозигота), T/T (неблагоприятный аллель *TaGs3-D1b*, уменьшающий размер зерновки и снижающий массу 1000 зерен). Нами были обнаружены 2 образца с генотипом G/G (благоприятный аллель *TaGs3-D1a*) – сорт Восточка-17 и сортообразец Э-2298. Гетерозигот не выявлено (рис. d).

В табл. 3 представлены суммарные данные по каждому локусу для отдельных сортов и сортообразцов.

Т а б л и ц а 3. Аллельный состав локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», у сортов и сортообразцов яровой пшеницы белорусской и зарубежной селекции

Table 3. Allelic composition of loci associated with the 1000-grain wheat trait in varieties of common wheat of Belarusian and foreign breeding

Сорт/сортообразец Variety/Variety sample	Локус, ассоциированный с признаком «масса 1000 зерен» Locus associated with the trait “mass of 1000 grains”			
	<i>TaTGW6-A1</i>	<i>TaGASR7-A1</i>	<i>TaCKX6-D1</i>	<i>TaGs3-D1</i>
Любава	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
KWS Akvilon	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
KWS Sunny	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Kitri	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Тоската	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Вена	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Восточка-17	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1a</i>
Зорка	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2334	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2318	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-1665	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2263	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2298	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1a</i>
Э-1420	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c/H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-1569	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2492	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2946	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2925	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2695	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2911	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2810	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2518	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
636/17	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Л. 15-77	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Л. 19	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>

Анализ полученных результатов показал, что генотипы, несущие благоприятные аллели одних генов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», могут нести неблагоприятные аллели по другим генам, контролирующим этот сложный количественный признак. Нами выделено 6 образцов пшеницы белорусской селекции, несущих комплекс аллелей, положительно коррелирующих с признаком «масса 1000 зерен»: сорт Восточка-17, сортообразцы Э-2318, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2695.

**Заключение.** В связи с тем, что признак «масса 1000 зерен» определяет крупность зерна и вносит существенный вклад в урожайность яровой пшеницы, для создания новых сортов необходимо иметь источники, характеризующиеся высокой выраженностью этого признака. Установлено значительное количество локусов, ассоциированных с параметром «масса 1000 зерен» у пшеницы, позитивное или негативное влияние которых на конкретный морфометрический параметр зависит от определенных изменений в структуре этих генов.

Полученные нами данные позволили установить аллельный состав четырех локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен» у 25 сортов и сортообразцов мягкой яровой пшеницы белорусской и зарубежной селекции. Выделены образцы, несущие аллели, положительно коррелирующие с массой 1000 зерен. По локусу *TaTGW6-A1* аллель *TaTGW6-A1a*, положительно влияющий на исследуемый признак, несли 14 образцов (сорта Любава, KWS Akvilon, Вена, Зорка, сортообразцы Э-2334, Э-2318, Э-2263, Э-1420, Э-1569, Э-2492, Э-2695, Э-2911, Э-2810,

Э-2518). По локусу *TaGASR7-A1* благоприятный гаплотип *H1c* выявлен у 14 генотипов: 4 сортов (KWS Sunny, Тоската, Китри, Восточка-17) и 10 сортообразцов (Э-2318, Э-1665, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2946, Э-2695, 636/17, Л. 15-77, Л. 19). По локусу *TaGs3-D1* благоприятный аллель *TaGs3-D1a* несли 2 образца – сорт Восточка-17 и сортообразец Э-2298. В итоге, выделено 6 образцов белорусской селекции, несущих комплекс аллелей, положительно коррелирующих с признаком «масса 1000 зерен» (сорт Восточка-17 и сортообразцы Э-2318, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2695).

Таким образом, KASP-генотипирование пшеницы по генам, ассоциированным с признаком «масса 1000 зерен», позволяет достаточно быстро и точно выявлять генотипы с благоприятными аллелями, что ускоряет отбор растений по целевым генам для включения их в систему скрещиваний с последующей маркерсопутствующей селекцией и, в конечном итоге, создание новых высокоурожайных сортов.

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

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках мероприятия 5 «Разработать методику генотипирования KASP и применить в селекции мягкой яровой пшеницы при создании нового сорта» подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии» ГП «Научно-технологические технологии и техника» на 2021–2025 годы.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Acknowledgement.** The work was carried within the framework of program 5 “To develop the KAST genotyping methods and use them during selection of common wheat when creating a new variety” according to subprogram 1 “Innovation biotechnologies” of the State Program “High Technologies and Engineering” for the years 2021–2025.

### Список использованных источников

1. Abiotic stress signaling in wheat – an inclusive overview of hormonal interactions during abiotic stress responses in wheat / K. Abhinandan [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 734. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00734>
2. SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding / J. Mammadov [et al.] // *Int. J. Plant Genomics.* – 2012. – Vol. 2012. – Art. 728398. <https://doi.org/10.1155/2012/728398>
3. Morgil, H. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Plant Genetics and Breeding / H. Morgil, Y. Gercek, I. Tulum // *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms.* – 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91886>
4. Utilization of KASP technology for wheat improvement / B. Kaur [et al.] // *Cereal Res. Commun.* – 2020. – Vol. 48, N 4. – P. 409–421. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00057-6>
5. Global status of 47 major wheat loci controlling yield, quality, adaptation and stress resistance selected over the last century / J. Zhao [et al.] // *BMC Plant Biol.* – 2019. – Vol. 19, N 1. – Art. 5. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1612-y>
6. Molecular Characterization of 87 Functional Genes in Wheat Diversity Panel and Their Association with Phenotypes under Well-Watered and Water-Limited Conditions / M. Khalid [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2019. – Vol. 10. – Art. 717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00717>
7. Mapping quantitative trait loci for peroxidase activity and developing gene-specific markers for TaPod-A1 on wheat chromosome 3AL / J. Wei [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2015. – Vol. 128, N 10. – P. 2067–2076. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2567-0>
8. MASWheat [Electronic resource]. – Mode of access: <https://maswheat.ucdavis.edu/>. – Date of access: 06.09.2022.
9. Variation in allelic frequencies at loci associated with kernel weight and their effects on kernel weight-related traits in winter wheat / T. Li [et al.] // *Crop. J.* – 2019. – Vol. 7, N 1. – P. 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.08.002>
10. Genome-Wide Association Study of Kernel Traits Using a 35K SNP Array in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) / P. Wang [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2022. – Vol. 13. – Art. 905660. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.905660>
11. Дорохов, Д. Б. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов / Д. Б. Дорохов, Э. Клоке // *Генетика.* – 1997. – Т. 33, № 4. – С. 443–450.
12. TaGW6-A1, an ortholog of rice TGW6, is associated with grain weight and yield in bread wheat / M. Hanif [et al.] // *Mol. Breed.* – 2016. – Vol. 36, N 1. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0425-z>
13. Natural variation of TaGASR7-A1 affects grain length in common wheat under multiple cultivation conditions / L. Dong [et al.] // *Mol. Breed.* – 2014. – Vol. 34, N 3. – P. 937–947. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0087-2>
14. Specificity of expression of TaCKX family genes in developing plants of wheat and their co-operation within and among organs / H. Ogonowska [et al.] // *PLoS One.* – 2019. – Vol. 14, N 4. – Art. e0214239. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214239>
15. Cloning, characterization of TaGS3 and identification of allelic variation associated with kernel traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Yang [et al.] // *BMC Genet.* – 2019. – Vol. 20, N 1. – Art. 98. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0800-6>

### References

1. Abhinandan K., Skori L., Stanic M., Hickerson N. M. N., Jamshed M., Samuel M. A. Abiotic stress signaling in wheat – an inclusive overview of hormonal interactions during abiotic stress responses in wheat. *Frontiers in Plant Science*, 2018, vol. 9, art. 734. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00734>

2. Mammadov J., Aggarwal R., Buyyarapu R., Kumpatla S. SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding. *International Journal of Plant Genomics*, 2012, vol. 212, art. 728398. <https://doi.org/10.1155/2012/728398>
3. Morgil H., Gercek Y., Tulum I. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Plant Genetics and Breeding. *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms*, 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91886>
4. Kaur B., Mavi G. S., Gill M. S., Saini D. K. Utilization of KASP technology for wheat improvement. *Cereal Research Communications*, 2020, vol. 48, no. 4, pp. 409–421. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00057-6>
5. Zhao J., Wang Z., Liu H., Zhao J., Li T., Hou J., Zhang X., Hao C. Global status of 47 major wheat loci controlling yield, quality, adaptation and stress resistance selected over the last century. *BMC Plant Biology*, 2019, vol. 19, no. 1, art. 5. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1612-y>
6. Khalid M., Afzal F., Gul A., Amir R., Subhani A., Ahmed Z., Mahmood Z., Xia X., Rasheed A., He Z. Molecular Characterization of 87 Functional Genes in Wheat Diversity Panel and Their Association with Phenotypes under Well-Watered and Water-Limited Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10, art. 717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00717>
7. Wei J., Geng H., Zhang Y., Liu J., Wen W., Zhang Y., Xia X., Chen X., He Z. Mapping quantitative trait loci for peroxidase activity and developing gene-specific markers for TaPod-A1 on wheat chromosome 3AL. *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, vol. 128, no. 10, pp. 2067–2076. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2567-0>
8. *MASWheat* (2022) Available at: <https://maswheat.ucdavis.edu> (accessed 6 September 2022).
9. Li T., Liu H., Mai C., Yu G., Li H., Meng L., Jian D., Yang L., Zhou Y., Zhang H., Li H. Variation in allelic frequencies at loci associated with kernel weight and their effects on kernel weight-related traits in winter wheat. *The Crop Journal*, 2019, vol. 7, no. 1, pp. 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.08.002>
10. Wang P., Tian T., Ma J., Liu Y., Zhang P., Chen T., Shahinnia F., Yang D. Genome-Wide Association Study of Kernel Traits Using a 35K SNP Array in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2022, vol. 13, art. 905660. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.905660>
11. Dorokhov D. B., Klocke E. A rapid and economic technique for rapid analysis of plant genomes. *Russian Journal of Genetics*, 1997, vol. 33, no. 4, pp. 358–365.
12. Hanif M., Gao F., Liu J., Wen W., Zhang Y., Rasheed A., Xia X., He Z., Cao S. TaTGW6-A1, an ortholog of rice TGW6, is associated with grain weight and yield in bread wheat. *Molecular Breeding*, 2016, vol. 36, art. 1. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0425-z>
13. Dong L., Wang F., Liu T., Dong Z., Li A., Jing R., Mao L., Li Y., Liu X., Zhang K., Wang D. Natural variation of TaGASR7-A1 affects grain length in common wheat under multiple cultivation conditions. *Molecular Breeding*, 2014, vol. 34, no. 3, pp. 937–947. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0087-2>
14. Ogonowska H., Barchacka K., Gasparis S., Jablonski B., Orczyk W., Dmochowska-Boguta M., Nadolska-Orczyk A. Specificity of expression of TaCKX family genes in developing plants of wheat and their co-operation within and among organs. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 4, art. e0214239. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214239>
15. Yang J., Zhou Y., Zhang Y., Hu W., Wu Q., Chen Y., Wang X., Guo G., Liu Z., Cao T., Zhao H. Cloning, characterization of TaGS3 and identification of allelic variation associated with kernel traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genetics*, 2019, vol. 20, no. 1, art. 98. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0800-6>

### Информация об авторах

*Лемеш Валентина Александровна* – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.lemesh@igc.by.

*Гриб Станислав Иванович* – академик, д-р с.-х. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по земледелию (ул. Тимирязева, 1, 222160, Минская обл., г. Жодино, Республика Беларусь). E-mail: triticales@tut.by.

*Лагуновская Елена Владимировна* – ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.antonenko@igc.by.

*Кипень Вячеслав Николаевич* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.kipen@igc.by.

*Булочник Андрей Александрович* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.buloichik@igc.by.

*Буштевич Виктор Николаевич* – канд. с.-х. наук, доцент, заведующий лабораторией. НПЦ НАН Беларуси по земледелию (ул. Тимирязева, 1, 222160, Минская обл., г. Жодино, Республика Беларусь). E-mail: triticales@tut.by.

*Сакович Валентина Ивановна* – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.sakovich@igc.by.

### Information about the authors

*Lemesh Valiantsina A.* – Ph. D. (Biology), Assistant Professor, 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: v.lemesh@igc.by.

*Stanislav Gryb* – Academician, D. Sc. (Agrarian), Professor, Chief Researcher. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming (1, Timiryazev Str., 222160, Zhodino, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: triticales@tut.by.

*Lahunovskaya Alena V.* – Senior 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.antonenko@igc.by.

*Kipen Viachaslau N.* – 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: v.kipen@igc.by.

*Buloichik Andrei A.* – 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: a.buloichik@igc.by.

*Bushtevich Victor N.* – Ph. D. (Agrarian), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming (1, Timiryazev Str., 222160, Zhodino, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: triticales@tut.by.

*Sakovich Valiantsina I.* – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v.sakovich@igc.by.

**Н. В. Никитченко<sup>1</sup>, А. А. Яцкив<sup>1</sup>, Е. С. Синявская<sup>1</sup>, А. Г. Белькевич<sup>2</sup>,  
И. А. Козыро<sup>2</sup>, Н. Ю. Достанко<sup>2</sup>, В. Е. Ягур<sup>2</sup>, Р. И. Гончарова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

## **ПОЛИМОРФИЗМ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ JAK-STAT СИГНАЛЬНОГО ПУТИ И ЕГО РЕГУЛЯТОРОВ У ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ И ЛЮПУС НЕФРИТОМ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

*(Представлено академиком А. В. Кильчевским)*

**Аннотация.** Исследуемые гены *STAT4*, *PTPN2* и *PTPN22* являются звеньями JAK-STAT сигнального пути, одного из важных регуляторов функционирования иммунной системы. Опосредованное им повышение уровня интерферонов и экспрессии индуцируемых ими генов играет ключевую роль в развитии как системной красной волчанки (СКВ), так и ее проявления – люпус нефрита (ЛН). В работе определены частоты генотипов и аллелей в полиморфных локусах генов *STAT4* (rs7574865, rs3821236), *PTPN2* (rs2542151, rs7234029) и *PTPN22* (rs2476601) в группах детей ( $n = 37$ ) и взрослых ( $n = 63$ ) с СКВ и ЛН. В контрольную группу включены дети ( $n = 420$ ) и взрослые ( $n = 345$ ) без аутоиммунных заболеваний. Анализ объединенной группы пациентов детского и взрослого возраста позволил установить, что полиморфный локус rs7574865 гена *STAT4* является маркером риска развития СКВ (Т: OR 1,99 [1,42–2,79],  $p = 0,0001$ ; ТТ: OR 3,36 [1,64–6,87],  $p = 0,0018$ ) и ЛН (Т: OR 1,91 [1,32–2,78],  $p = 0,0008$ ; ТТ: OR 4,25 [2,02–8,95],  $p = 0,0004$ ). Эти ассоциации сохранялись и при анализе детской и взрослой групп пациентов с СКВ и ЛН по отдельности. При этом полиморфный локус rs7574865 гена *STAT4* является, по-видимому, общим генетическим фактором риска возникновения аутоиммунных заболеваний. Также выявлена ассоциация полиморфного локуса rs2542151 гена *PTPN2* с риском развития СКВ (G: OR 1,66 [1,12–2,47],  $p = 0,014$ ; GT: OR 1,74 [1,10–2,77],  $p = 0,021$ ) и ЛН (G: OR 1,87 [1,21–2,88],  $p = 0,006$ ; GT: OR 1,90 [1,13–3,18],  $p = 0,017$ ) в объединенной группе пациентов. Полиморфные локусы rs7234029 гена *PTPN2* и rs2476601 гена *PTPN22* не были ассоциированы с СКВ или ЛН вне зависимости от возраста пациентов.

**Ключевые слова:** системная красная волчанка, люпус нефрит, *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22*

**Для цитирования.** Полиморфизм некоторых генов JAK-STAT сигнального пути и его регуляторов у пациентов с системной красной волчанкой и люпус нефритом в Республике Беларусь / Н. В. Никитченко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 222–230. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-222-230>

**Natallia V. Nikitchenko<sup>1</sup>, Hanna A. Yatskiu<sup>1</sup>, Elizabeth S. Siniauskaya<sup>1</sup>, Hanna G. Bialkevich<sup>2</sup>,  
Ina A. Kazyra<sup>2</sup>, Natalia Yu. Dostanko<sup>2</sup>, Victor E. Yagur<sup>2</sup>, Roza I. Goncharova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

## **POLYMORPHISM OF SOME JAK-STAT PATHWAY GENES AND ITS REGULATORS IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS AND LUPUS NEPHRITIS IN REPUBLIC OF BELARUS**

*(Communicated by Academician Alexander V. Kilchevsky)*

**Abstract.** Genes of interest – *STAT4*, *PTPN2* and *PTPN22* – are components of the JAK-STAT signaling pathway, one of the important regulators of the immune system. The JAK-STAT pathway plays a key role in the development of both systemic lupus erythematosus (SLE) and its manifestation, lupus nephritis (LN) by mediating interferon levels and promoting IFN-induced gene expression. We investigated the allele and genotypes frequencies at the polymorphic loci of the *STAT4* (rs7574865, rs3821236), *PTPN2* (rs2542151, rs7234029) and *PTPN22* (rs2476601) genes in groups of children ( $n = 37$ ) and adults ( $n = 63$ ) with SLE and LN. The control group included children ( $n = 420$ ) and adults ( $n = 345$ ) without autoimmune diseases. The analysis of the combined group of pediatric and adult patients revealed that the rs7574865 polymorphic locus of the *STAT4* gene is associated with the risk of developing SLE (T: OR 1,99 [1,42–2,79],  $p = 0,0001$ ; TT: OR 3,36 [1,64–6,87],  $p = 0,0018$ ) and LN (T: OR 1,91 [1,32–2,78],  $p = 0,0008$ ; TT: OR 4,25 [2,02–8,95],  $p = 0,0004$ ). These associations also persisted when analyzing the pediatric and adult groups of patients with SLE and LN separately. Moreover, the rs7574865 polymorphic locus of the *STAT4* gene appears to be a common genetic risk factor for autoimmune diseases development. The association of the poly-

morphic locus rs2542151 of the *PTPN2* gene with the SLE (G: OR 1,66 [1,12–2,47],  $p = 0,014$ ; GT: OR 1,74 [1,10–2,77],  $p = 0,021$ ) and LN (G: OR 1,87 [1,21–2,88],  $p = 0,006$ ; GT: OR 1,90 [1,13–3,18],  $p = 0,017$ ) susceptibility was also found in a combined group of patients. The polymorphic loci rs7234029 in the *PTPN2* gene and rs2476601 in the *PTPN22* gene were not associated with SLE or LN regardless of the age of the patients.

**Keywords:** systemic lupus erythematosus, lupus nephritis, *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22*

**For citation.** Nikitchenko N. V., Yatskiu H. A., Siniauskaya E. S., Bialkevich H. G., Kazyra I. A., Dostanko N. U., Yagur V. E., Goncharova R. I. Polymorphism of some JAK-STAT pathway genes and its regulators in patients with systemic lupus erythematosus and lupus nephritis in Republic of Belarus. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 222–230 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-222-230>

**Введение.** Системная красная волчанка (СКВ) – системное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, в основе которого лежит генетически обусловленное нарушение иммунной регуляции, определяющее образование органонеспецифических антител к антигенам ядер клеток и иммунных комплексов с развитием иммунного воспаления в тканях многих органов. Усредненный преваленс СКВ в Европе составляет примерно 40 на 100 000 населения, при этом около 15 % случаев диагностируют у пациентов в возрасте до 18 лет [1]. Усредненный кумулятивный преваленс СКВ по обращаемости среди взрослого населения (2001–2005 гг.) Минска составил 21 на 100 000 населения, а инцидент – 4 на 100 000 населения [2].

Для СКВ характерен широкий спектр клинических проявлений и вовлечение в патологический процесс практически всех органов и систем организма. Люпус нефрит (ЛН) развивается примерно у 50–60 % взрослых пациентов и у 70–80 % пациентов в возрасте до 18 лет. В большинстве случаев ЛН формируется на ранних стадиях СКВ (в течение первых 3 лет процесса), но может манифестировать и в дебюте заболевания. По данным аутопсий ЛН обнаруживается почти у 95 % пациентов с СКВ, а отложения иммунных комплексов в ткани почек выявляются практически у всех пациентов с СКВ, несмотря на отсутствие изменений при световой микроскопии [1].

Образование и отложение в почках иммунных комплексов в результате нарушенного иммунологического ответа провоцируют высвобождение провоспалительных цитокинов и молекул клеточной адгезии, вызывающих воспаление, приводят к хемотаксису моноцитов и полиморфноядерных клеток. Последующее высвобождение протеаз сопровождается повреждением эндотелия и мезангиальной пролиферацией. Высвобождение дендритными клетками интерферона типа I вызывает созревание и активацию инфильтрирующих Т-клеток и амплификацию лимфоцитов Th2, Th1 и Th17. Это, в свою очередь, запускает процессы амплификации В-клеток и стимуляции макрофагов, приводя к выбросу еще большего количества провоспалительных молекул, способствуя пролиферации почечного эпителия и развитию фиброза.

Таким образом, пациенты с СКВ имеют нарушения во всех звеньях иммунной системы, включая врожденный иммунитет, процессы презентации антигена, апоптоз, формирование толерантности Т- и В-клеток, передачу цитокиновых и хемокиновых сигналов. СКВ следует рассматривать как недостаточность иммунной толерантности в одной или нескольких центральных или периферических контрольных точках, обусловленную суммарным эффектом нескольких генов, связанных с иммунным ответом.

Mohan С. и др. выделяют несколько групп генов, задействованных в патогенезе СКВ: 1) передача сигнала в лимфоцитах; 2) сигнальные пути врожденного иммунитета; 3) внутрипочечный сигналинг; 4) удаление иммунных комплексов [3].

К первой группе, среди прочих, относятся гены *STAT4*, *PTPN2* и *PTPN22*. Фосфорилирование *STAT4* является необходимым условием развития гуморального иммунного ответа. Негативными регуляторами JAK-STAT сигнального пути могут выступать протеин-тирозиновые фосфатазы (PTPs). Они способны дефосфорилировать STAT и ингибировать передачу сигнала. JAK-STAT опосредованное повышение уровня интерферонов и экспрессии индуцируемых ими генов (*IL6*, *IL12/23*, *IL17*) играют ключевую роль в развитии СКВ [4].

Результаты молекулярных исследований, в частности, полногеномный поиск ассоциаций GWAS (Genome-Wide Association Studies), позволили выявить более 100 локусов, демонстрирующих прочную связь с СКВ. При этом многие из них ассоциированы и с другими иммуноопосре-

дованными заболеваниями. Так, установлено, что одни и те же полиморфные варианты генов *STAT4* и *PTPN22* помимо СКВ ассоциированы с риском развития таких патологий аутоиммунного характера, как ревматоидный артрит (rs7574865, rs2476601), системный склероз (rs7574865, rs3821236), витилиго и сахарный диабет 1 типа (rs2476601). Для гена *PTPN2* в GWAS Catalog имеются данные о его связи с риском развития сахарного диабета 1 типа, ревматоидного артрита, псориаза и воспалительных заболеваний кишечника. Рядом исследований было показано, что характерной особенностью аутоиммунных заболеваний является наличие общих генетических факторов предрасположенности, ассоциированных с различными заболеваниями, что предполагает существование общего генетического компонента как основы патогенеза [5]. Поэтому можно предполагать, что полиморфные локусы гена *PTPN22* также могут вносить вклад в формирование предрасположенности к развитию СКВ и ЛН. В то же время феномен существования этнических различий относительно вклада идентичных локусов предрасположенности в риск появления конкретного заболевания обуславливает необходимость изучения их роли в различных популяциях, в том числе в европейских. Изучение полиморфных локусов генов *STAT4* (rs7574865, rs3821236), *PTPN2* (rs2542151 и rs7234029) и *PTPN22* (rs2476601) среди белорусских пациентов позволит не только подтвердить их значение в качестве маркеров риска развития СКВ и ЛН в исследуемой популяции, но и расширит наше представление об их роли как общих генетических факторов патогенеза аутоиммунных заболеваний. Цель данной работы заключалась в изучении ассоциаций полиморфных локусов генов *STAT4* (rs7574865, rs3821236), *PTPN2* (rs2542151 и rs7234029) и *PTPN22* (rs2476601) с СКВ и ЛН у детей и взрослых для выявления их рискованности по отношению к данным заболеваниям в белорусской популяции.

**Материалы и методы исследования.** Сотрудниками 1-й кафедры детских болезней и 2-й кафедры внутренних болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет» на базе педиатрического отделения № 1 (для нефрологических пациентов) УЗ «2-я городская детская клиническая больница» и ГУ «Минский НППЦ хирургии, трансплантологии и гематологии» сформированы группы пациентов и группы контроля. Включение в исследование пациентов с СКВ проводилось на основании достоверного диагноза СКВ в соответствии с классификационными диагностическими критериями ACR 1997 года. Демографическая характеристика групп пациентов представлена в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Характеристика групп пациентов с СКВ  
T a b l e 1. Characteristics of patients with SLE

Параметр Characteristics	Дети (<18 лет) Children (<18 years old)	Взрослые (≥18 лет) Adults (≥18 years old)
СКВ, <i>n</i>	37	61
Люпус нефрит, <i>n</i> (%)	26 (70,3)	47 (77,0)
Средний возраст, лет	14,2	38,4
Минимальный возраст, лет	4	18
Максимальный возраст, лет	17	72
Доля пациентов женского пола, %	88,0	95,0

В контрольные группы (1 – дети в возрасте от 5 до 17 лет, *n* = 420; 2 – взрослые в возрасте от 18 до 58 лет, *n* = 345) были включены условно здоровые лица, не имеющие аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний.

Биологический материал для молекулярно-генетического анализа – геномная ДНК, выделенная из венозной крови фенол-хлороформным методом. Исследование полиморфных локусов rs7574865 и rs3821236 гена *STAT4*, rs2542151 и rs7234029 гена *PTPN2*, rs2476601 гена *PTPN22* проводили методами ПЦР в реальном времени и ПЦР-ПДРФ, как описано ранее [6; 7].

Распределение частот генотипов в изученных выборках проверяли на соответствие закону Харди–Вайнберга с помощью критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ). Статистический анализ данных проводился с использованием пакета программ Statistica 7 и онлайн-программы SNPStats Каталонского института онкологии. Об ассоциации генотипов с заболеванием судили по величине отношения шансов (Odds Ratio, OR). Расчеты были произведены для пяти возможных моделей наследования

(кододоминантная, доминантная, рецессивная, мультипликативная и лог-аддитивная). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что аллель Т, а также генотипы, содержащие хотя бы один аллель Т полиморфного локуса rs7574865 гена *STAT4*, ассоциированы с риском развития СКВ в общей группе пациентов (Т: OR 1,99 [1,42–2,79],  $p = 0,0001$ , TT+GT vs. GG: OR 2,13 [1,37–3,31],  $p = 0,0008$ ; TT vs. GT+GG OR 3,36 [1,64–6,87],  $p = 0,0018$ ) (табл. 2).

Из данных табл. 3 и 4 видно, что данная ассоциация сохранялась и при анализе детской и взрослой групп пациентов с СКВ по отдельности, несмотря на уменьшение выборки (Т: OR 2,17 [1,30–3,6],  $p = 0,003$ ; TT+GT vs. GG: OR 2,99 [1,46–6,13],  $p = 0,0023$ ; GT vs. GG+TT: OR 2,28 [1,13–4,62] для детей; Т: OR 1,87 [1,19–2,83],  $p = 0,006$ ; TT vs. TG+GG: OR 4,73 [1,77–12,63],  $p = 0,0033$  для взрослых).

В группе детей с СКВ также был проведен молекулярно-генетический анализ по еще одному полиморфному локусу гена *STAT4* (rs3821236), по результатам которого выявлено, что генотипы AA+GA ассоциированы с повышенной чувствительностью к данному заболеванию (OR 2,05 [1,01–4,15],  $p = 0,047$ ).

Рядом авторов установлена связь некоторых полиморфных вариантов гена *STAT4* с риском развития и течением СКВ в различных популяциях. Один из вариантов, а именно rs7574865, по данным литературы ассоциирован с широким спектром аутоиммунных заболеваний. Мета-анализ 26 исследований, опубликованный в 2021 г., показал, что аллель Т в данном локусе является маркером предрасположенности к СКВ как в европейских (OR 1,54 [1,47–1,62],  $p < 0,001$ ), так и в азиатских популяциях (OR 1,55 [1,49–1,66],  $p < 0,001$ ) [8]. А. К. Abelson с соавт. показали, что наиболее эффективными маркерами для СКВ являются варианты rs3821236 и rs3024866, а также rs7574865 и rs1467199. При этом локусы rs3821236 и rs7574865 относятся к разным гаплотипам и обладают независимым генетическим эффектом, повышая уровень экспрессии *STAT4* в случае носительства минорных аллелей [9].

Локус rs7574865 в гене *STAT4* может быть также ДНК-маркером положительного ответа на терапию ингибитором янус-киназы (JAK) тофацитинибом. В клиническом исследовании небольшой группы из 30 пациентов было показано, что применение данного препарата приводило к улучшению профиля липопротеинов, а также к снижению активности IFN I типа и aberrантных реакций нейтрофилов, характерных для СКВ, только у носителей аллеля риска [10].

Таким образом, наши данные о значимости полиморфного локуса rs7574865 как фактора риска по отношению к СКВ согласуются с результатами, ранее полученными на других популяциях. И, кроме того, подтверждают данные, полученные В. Namjou и соавт., которые проанализировав по отдельности группы пациентов с дебютом заболевания в детском и взрослом возрасте показали, что значения  $p$  для полиморфных локусов в гене *STAT4* хорошо коррелируют между группами (значение коэффициента корреляции 0,84), что дает основания для их объединения [11].

Из данных табл. 2–4 видно, что аллель Т и генотипы, содержащие аллель Т полиморфного локуса rs7574865 гена *STAT4*, также были ассоциированы с повышенным риском развития ЛН у детей (Т: OR 2,15 [1,21–3,81],  $p = 0,01$ ; TT+GT vs. GG: OR 2,47 [1,08–5,63],  $p = 0,03$ ; TT vs. GT+GG: OR 3,69 [1,21–11,25],  $p = 0,03$ ) и у взрослых (Т: OR 1,77 [1,08–2,90],  $p = 0,026$ ; TT vs. GT+GG: OR 5,34 [1,91–14,95],  $p = 0,003$ ), а также в объединенной группе (Т: OR 1,91 [1,32–2,78],  $p = 0,0008$ , TT+GT vs. GG: OR 1,80 [1,09–2,95],  $p = 0,02$ ; TT vs. GT+GG: OR 4,25 [2,02–8,95],  $p = 0,0004$ ), что согласуется с результатами масштабного исследования пациентов европейского происхождения К. Е. Taylor и др., выявивших связь этого локуса с СКВ, характеризующейся наличием антител к двуспиральной ДНК, развитием ЛН и возрастом начала заболевания до 30 лет [12].

Анализ отдельных локусов генов из группы тирозинфосфатаз, а именно *PTPN2* (rs2542151, rs7234029) и *PTPN22* (rs2476601) выявил слабую ассоциацию локуса rs2542151 гена *PTPN2* с СКВ (GT vs. GG+TT: OR 1,97 [1,10–3,54],  $p = 0,025$ ; GT+GG vs. TT: OR 1,92 [1,08–3,44],  $p = 0,029$ ) и ЛН (GT vs. GG+TT: OR 1,99 [1,04–3,79],  $p = 0,04$ ; GT+GG vs. TT: OR 1,98 [1,05–3,76],  $p = 0,039$ ) у взрослых (табл. 4). При объединении групп пациентов разного возраста наблюдали более выраженную связь локуса rs2542151 гена *PTPN2* с риском развития заболевания (G: OR 1,66 [1,12–2,47],  $p = 0,014$ ; GT vs. TT+GG: OR 1,74 [1,10–2,77],  $p = 0,021$ ; GT+GG vs. TT: OR 1,81 [1,15–2,85],  $p = 0,012$

Таблица 2. Распределение частот генотипов/аллелей по локусам генов *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22* в общей группе пациентов с СКВ и ЛН  
 Table 2. Distribution of genotype/allele frequencies in the polymorphic loci of *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22* genes in the general group of patients with SLE and LN

Ген, SNP Gene, SNP	Генотип Genotype	Контроль Controls n (%)	СКВ SLE n (%)	ЛН LN n (%)	Общая группа Total group				
					Кодоминантная Codominant	Доминантная Dominant	Рецессивная Recessive	Сверхдоминантная Overdominant	Лог-аддитивная Log-additive
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	464 (61)	41 (43)	34 (47)	(1) 0,0003 4,35 [2,05–9,21]	(1) 0,0008 2,13 [1,37–3,31]	(1) 0,0018 3,36 [1,64–6,87]	(1) 0,081 (2) 0,71	(1) 0,0001 1,99 [1,42–2,79]
	GT	268 (35)	41 (43)	26 (36)	(2) 0,001 4,85 [2,22–10,57]	(2) 0,02 1,80 [1,09–2,95]	(2) 0,0004 4,25 [2,02–8,95]	(2) 0,71	(2) 0,0008 1,91 [1,32–2,78]
	TT	33 (4)	13 (14)	12 (17)					
<i>PTPN22</i> rs2476601	TT	565 (76)	66 (71)	45 (67)	(1) 0,46 (2) 0,21	(1) 0,42 (2) 0,2	(1) 0,27 (2) 0,13	(1) 0,64 (2) 0,43	(1) 0,3 (2) 0,11
	TG	166 (22)	24 (26)	19 (28)					
	GG	14 (2)	3 (3)	3 (5)					
<i>PTPN2</i> rs7234029	AA	300 (73)	63 (64)	44 (60)	(1) 0,26 (2) 0,082	(1) 0,16 (2) 0,045 1,75 [1,02–3,00]	(1) 0,3 (2) 0,18	(1) 0,24 (2) 0,092	(1) 0,12 (2) 0,029 1,76 [1,07–2,90]
	AG	109 (26)	33 (34)	27 (37)					
	GG	5 (1)	2 (2)	2 (3)					
<i>PTPN2</i> rs2542151	TT	625 (73)	57 (61)	41 (58)	(1) 0,041 1,79 [1,12–2,86]	(1) 0,012 1,81 [1,15–2,85]	(1) 0,43 (2) 0,24	(1) 0,021 1,74 [1,10–2,77]	(1) 0,014 1,66 [1,12–2,47]
	TG	208 (24)	34 (36)	27 (38)	(2) 0,021 1,99 [1,18–3,35]	(2) 0,0064 2,05 [1,24–3,41]		(2) 0,017 1,90 [1,13–3,18]	(2) 0,006 1,87 [1,21–2,88]
	GG	19 (2)	3 (3)	3 (4)					

Таблица 3. Распределение частот генотипов/аллелей по локусам генов *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22* среди педиатрических пациентов с СКВ и ЛН  
 Table 3. Distribution of genotype/allele frequencies in the polymorphic loci of *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22* genes in pediatric patients with SLE and LN

Ген, SNP Gene, SNP	Генотип Genotype	Контроль Controls n (%)	СКВ SLE n (%)	ЛН LN n (%)	Дети Children				
					Кодоминантная Codominant	Доминантная Dominant	Рецессивная Recessive	Сверхдоминантная Overdominant	Лог-аддитивная Log-additive
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	262 (62)	14 (38)	11 (42)	(1) 0,0085 3,80 [1,19–12,15]	(1) 0,0023 2,99 [1,46–6,13]	(1) 0,13 (2) 0,035 3,69 [1,21–11,25]	(1) 0,023 2,28 [1,13–4,62]	(1) 0,0033 2,17 [1,30–3,60]
	GT	136 (32)	18 (49)	10 (39)	(2) 0,037 4,83 [1,47–15,90]	(2) 0,030 2,47 [1,08–5,63]		(2) 0,35	(2) 0,01 2,15 [1,21–3,81]
	TT	22 (5)	5 (14)	5 (19)					
<i>STAT4</i> rs3821236	GG	274 (66)	19 (51)	13 (50)	(1) 0,13 (2) 0,19	(1) 0,047 2,05 [1,01–4,15]	(1) 0,75 (2) 0,46	(1) 0,056 (2) 0,13	(1) 0,08 (2) 0,08
	GA	119 (29)	16 (43)	11 (42)					
	AA	20 (5)	2 (5)	2 (8)					
<i>PTPN22</i> rs2476601	TT	295 (74)	20 (61)	12 (55)	(1) 0,71 (2) 0,2	(1) 0,98 (2) 0,22	(1) 0,42 (2) 0,1	(1) 0,8 (2) 0,55	(1) 0,79 (2) 0,11
	TG	95 (24)	11 (33)	8 (36)					
	GG	10 (3)	2 (6)	2 (9)					

<i>PTPN2</i> rs7234029	AA AG GG	234 (74) 77 (24) 4 (1)	25 (68) 12 (32) 0	17 (63) 10 (37) 0	(1) 0,45 (2) 0,27	(1) 0,35 (2) 0,16	(1) 0,45 (2) 0,52	(1) 0,3 (2) 0,13	(1) 0,43 (2) 0,21
<i>PTPN2</i> rs2542151	TT TG GG	243 (77) 69 (22) 5 (2)	25 (68) 10 (37) 2 (7)	16 (61) 8 (31) 2 (8)	(1) 0,38 (2) 0,16	(1) 0,26 (2) 0,11	(1) 0,26 (2) 0,14	(1) 0,47 (2) 0,3	(1) 0,18 (2) 0,062

Таблица 4. Распределение частот генотипов/аллелей по локусам генов *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22* в группах взрослых пациентов с СКВ и ЛН  
Table 4. Distribution of genotype/allele frequencies in the polymorphic loci of *STAT4*, *PTPN2*, *PTPN22* genes in adult patients with SLE and LN

Ген, SNP Gene, SNP	Генотип Genotype	Контроль Controls n (%)	СКВ SLE n (%)	ЛН LN n (%)	Взрослые Adults				
					Кодоминантная Codominant	Доминантная Dominant	Рецессивная Recessive	Сверхдоминантная Overdominant	Лог-аддитивная Log-additive
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	202 (59)	27 (47)	23 (50)	(1) 0,0082 5,39 [1,94–14,94]	(1) 0,052 1,73 [0,99–3,01]	(1) 0,0033 4,73 [1,77–12,63]	(1) 0,59 (2) 0,74	(1) 0,0072 1,87 [1,19–2,83]
	GT	132 (38)	23 (40)	16 (35)	(2) 0,012 5,56 [1,91–16,15]	(2) 0,23	(2) 0,003 5,34 [1,91–14,95]	(2) 0,74	(2) 0,026 1,77 [1,08–2,90]
	TT	11 (3)	8 (13)	7 (15)					
<i>PTPN22</i> rs2476601	TT	270 (78)	46 (77)	33 (73)	(1) 0,94 (2) 0,72	(1) 0,99 (2) 0,46	(1) 0,77 (2) 0,6	(1) 0,85 (2) 0,56	(1) 0,75 (2) 0,42
	TG	71 (21)	13 (22)	11 (24)					
	GG	4 (1)	1 (1)	1 (2)					
<i>PTPN2</i> rs7234029	AA	66 (67)	38 (62)	27 (59)	(1) 0,54 (2) 0,34	(1) 0,57 (2) 0,35	(1) 0,3 (2) 0,2	(1) 0,79 (2) 0,59	(1) 0,43 (2) 0,23
	AG	32 (32)	21 (34)	17 (37)					
	GG	1 (1)	2 (3)	2 (2)					
<i>PTPN2</i> rs2542151	TT	244 (71)	32 (56)	25 (56)	(1) 0,081 (2) 0,11	(1) 0,029 1,92 [1,08–3,44]	(1) 0,94 (2) 0,88	(1) 0,025 1,97 [1,10–3,54]	(1) 0,052 (2) 0,058
	TG	92 (27)	24 (42)	19 (42)					
	GG	9 (3)	1 (2)	1 (2)					

для СКВ и Г: OR 1,87 [1,21–2,88],  $p = 0,006$ ; GT+GG vs. TT: OR 2,05 [1,24–3,41],  $p = 0,0064$ ; GT vs. TT+GG: OR 1,99 [1,18–3,35],  $p = 0,021$  для ЛН), что, вероятно, обусловлено увеличением выборки (табл. 2).

Клетки иммунной системы характеризуются экспрессией большего числа РТР-генов, чем клетки других тканей организма. Важная роль *PTPN2* в воспалении и поддержании толерантности Т-клеток также показана в работах на мышах с делецией *Ptpn2*: у них развивается прогрессирующее системное воспаление [13]. С. Сиссаси и др. исследовали полиморфные локусы rs2542151 и rs7234029 на предмет ассоциации с СКВ в итальянской популяции, но статистически значимых различий не обнаружили ( $p = 0,38$  и  $p = 0,48$  соответственно) [14]. На сегодняшний день свидетельства об ассоциации rs2542151 *PTPN2* с СКВ в литературе не представлены, однако GWAS, проведенное The Wellcome Trust Case Control Consortium, выявило ассоциацию полиморфного локуса rs2542151 с такими аутоиммунными заболеваниями, как болезнь Крона, сахарный диабет и ревматоидный артрит [15].

Полиморфный вариант гена *PTPN22* (rs2476601) является одним из локусов восприимчивости к аутоиммунным заболеваниям, выявленных в GWAS-исследованиях, и ассоциирован с сахарным диабетом 1 типа, ревматоидным артритом, витилиго и СКВ, однако точный механизм его влияния на функцию *PTPN22* не известен. В работах ряда авторов доказана значительная ассоциация с развитием СКВ как для генотипа TT (OR 2,04 [1,09–3,82],  $p = 0,030$ ), так и для аллеля T (OR 1,51 [1,34–1,71],  $p = 2,931 \cdot 10^{-11}$ ) [16]. Тем не менее, в нашем исследовании полиморфный локус rs2476601 гена *PTPN22*, как и локус rs7234029 в гене *PTPN2* не были связаны с СКВ или ЛН вне зависимости от возраста.

Таким образом, ассоциация полиморфного локуса rs7574865 гена *STAT4* с рядом аутоиммунных заболеваний, в том числе с СКВ и ЛН, которая ранее была продемонстрирована для разных по происхождению популяций (европеоидов и азиатов), выявлена нами и для белорусской популяции. В то же время настоящее исследование не подтвердило связи rs2476601 гена *PTPN22* с СКВ и ЛН, но позволило впервые установить связь полиморфного локуса rs2542151 гена *PTPN2* с повышенным риском развития СКВ в белорусской популяции.

**Заключение.** Посредством анализа полиморфизма некоторых генов JAK-STAT сигнального пути и его регуляторов выявлены молекулярные маркеры риска развития СКВ и ЛН. В белорусской популяции подтверждена ассоциация локуса rs7574865 гена *STAT4* и впервые показана связь полиморфного варианта в локусе rs2542151 гена *PTPN2* с повышенным риском развития СКВ и ЛН. Литературные данные и результаты исследований, ранее полученные нами на белорусской популяции, дают основания полагать, что полиморфный локус rs7574865 гена *STAT4* является, по-видимому, общим генетическим фактором предрасположенности к возникновению не только СКВ, но и других аутоиммунных заболеваний [17]. Стратификация пациентов в зависимости от наличия у них конкретных генетических факторов риска открывает значительные перспективы для подбора наиболее эффективной терапии.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность всем медицинским работникам, а также сотрудникам лаборатории молекулярных основ стабильности генома, принявшим участие в исследовании. Работа выполнена в рамках заданий 6.4 С-Г НТП Союзного государства «ДНК-идентификация» и задания 2.37 ГПНИ «Биотехнологии» на 2016–2020 гг.

**Acknowledgments.** The authors express their gratitude to all medical workers, as well as to the staff of the Laboratory of Molecular Basis of Genome Stability, who took part in the study. The work was carried out within the framework of tasks 6.4 of the U-S STP of the Union State “DNA-identification” and task 2.37 of the SPSR “Biotechnologies” for 2016–2020.

#### Список использованных источников

1. Козыро, И. А. Системная красная волчанка с поражением почек у детей / И. А. Козыро, А. В. Сукало. – Минск, 2021. – 214 с.
2. Первичная и общая заболеваемость ревматоидным артритом и системными заболеваниями соединительной ткани среди взрослых в г. Минске по данным официальной статистики за 2001–2005 годы / В. Е. Ягур [и др.] // Здравоохранение. – 2009. – № 2. – С. 39–42.
3. Mohan, C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis / C. Mohan, C. Putterman // Nature Reviews Nephrology. – 2015. – Vol. 11, N 6. – P. 329–341. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.33>
4. JAK inhibitor has the amelioration effect in lupus-prone mice: the involvement of IFN signature gene downregulation / K. Ikeda [et al.] // BMC Immunol. – 2017. – Vol. 18, N 1. – Art. 41. <https://doi.org/10.1186/s12865-017-0225-9>

5. Yamamoto, K. Shared genetic factors and their causality in autoimmune diseases / K. Yamamoto, Y. Okada // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2019. – Vol. 78, N 11. – P. 1449–1451. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-215099>
6. Полиморфизм генов иммунного и воспалительного ответа у детей с суставным синдромом / А. А. Яцкив [и др.] // *Молекулярная и прикладная генетика*. – Минск, 2019. – Т. 27. – С. 5–16.
7. Полиморфизм генов *STAT4*, *PD-I*, *PD-L1* у детей, страдающих системной красной волчанкой и люпус нефритом / Е. С. Синявская [и др.] // *Молекулярная и прикладная генетика*. – Минск, 2019. – Т. 27. – С. 25–32.
8. Wang, J.-M. Association of *STAT4* gene rs7574865, rs10168266 polymorphisms and systemic lupus erythematosus susceptibility: A meta-analysis / J.-M. Wang, W.-D. Xu, an-F. Huang // *Immunological Investigations*. – 2021. – Vol. 50, N 2–3. – P. 282–294. <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1752712>
9. *STAT4* associates with systemic lupus erythematosus through two independent effects that correlate with gene expression and act additively with IRF5 to increase risk / A. K. Abelson [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2009. – Vol. 68, N 11. – P. 1746–1753. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.097642>
10. Hagberg, N. Immunogenetics in Systemic Lupus Erythematosus: Transitioning from Genetic Associations to Cellular Effects / N. Hagberg, C. Lundtoft, L. Rönnblom // *Scandinavian Journal of Immunology*. – 2020. – Vol. 92, N 4. – Art. e12894. <https://doi.org/10.1111/sji.12894>
11. High-density genotyping of *STAT4* reveals multiple haplotypic associations with systemic lupus erythematosus in different racial groups / B. Namjou [et al.] // *Arthritis Rheum*. – 2009. – Vol. 60, N 4. – P. 1085–1095. <https://doi.org/10.1002/art.24387>
12. Specificity of the *STAT4* genetic association for severe disease manifestations of systemic lupus erythematosus / K. E. Taylor [et al.] // *PLoS Genetics*. – 2008. – Vol. 4, N 5. – Art. e1000084. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000084>
13. Chistiakov, D. A. T-cell protein tyrosine phosphatase: a role in inflammation and autoimmunity / D. A. Chistiakov, E. I. Chistiakova // *Int. J. Diabetes Mellit*. – 2010. – Vol. 2, N 2. – P. 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.ijdm.2010.05.012>
14. A multilocus genetic study in a cohort of Italian SLE patients confirms the association with *STAT4* gene and describes a new association with *HCP5* gene / C. Ciccacci [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 11. – Art. e111991. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111991>
15. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls / WTCCC (Wellcome Trust Case Control Consortium) // *Nature*. – 2007. – Vol. 447. – P. 661–678.
16. Associations between *PTPN22* and *TLR9* polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a comprehensive meta-analysis / L. Y. Hu [et al.] // *Arch. Dermatol. Res*. – 2017. – Vol. 309, N 6. – P. 461–477. <https://doi.org/10.1007/s00403-017-1745-0>
17. AB0016 Genetic variants of predisposition to rheumatoid arthritis in Belarusian population [EULAR Annual Congress, Copenhagen, June 1–4, 2022] / E. Siniauskaya [et al.] // *Ann. Rheum. Dis*. – 2022. – Vol. 81, N 1. – Art. 1143. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2022-eular.4519>

## References

1. Kozyro I. A., Sukalo A. V. *Systemic lupus erythematosus with kidney damage in children*. Minsk, 2021. 214 p. (in Russian).
2. Yagur V. E., Chizh K. A., Soroka N. F., Dostanko N. Yu., Apanasovich V. G., Tarasevich T. V. Primary and general incidence of rheumatoid arthritis and systemic connective tissue diseases among adults in Minsk according to official statistics for 2001–2005. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2009, no. 2, pp. 39–42 (in Russian).
3. Mohan C., Putterman C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nature Reviews Nephrology*, 2015, vol. 11, no. 6, pp. 329–341. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.33>
4. Ikeda K., Hayakawa K., Fujishiro M., Kawasaki M., Hirai T., Tsushima H., Miyashita T., Suzuki S., Morimoto S., Tamura N., Takamori K., Ogawa H., Sekigawa I. JAK inhibitor has the amelioration effect in lupus-prone mice: the involvement of IFN signature gene downregulation. *BMC Immunology*, 2017, vol. 18, no. 1, art. 41. <https://doi.org/10.1186/s12865-017-0225-9>
5. Yamamoto K., Okada Y. Shared genetic factors and their causality in autoimmune diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2019, vol. 78, no. 11, pp. 1449–1451. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-215099>
6. Yatskiv A. A., Kuzhir T. D., Sechko E. V., Chichko A. M., Myslivets M. G., Chizhevskaya I. D., Bil'skaya N. L., Sukalo A. V., Goncharova R. I. Polymorphism of immune and inflammatory response genes in children with articular syndrome. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika* [Molecular and Applied Genetics], 2019, vol. 27, pp. 5–16 (in Russian).
7. Sinyavskaya E. S., Kozyro I. A., Sukalo A. V., Goncharova R. I. Polymorphism of *STAT4*, *PD-I*, *PD-L1* genes in children with systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika* [Molecular and Applied Genetics], 2019, vol. 27, pp. 25–32 (in Russian).
8. Wang J.-M., Xu W.-D., Huang an-F. Association of *STAT4* gene rs7574865, rs10168266 polymorphisms and systemic lupus erythematosus susceptibility: A meta-analysis. *Immunological Investigations*, 2021, vol. 50, no. 2–3, pp. 282–294. <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1752712>
9. Abelson A. K., Delgado-Vega A. M., Kozyrev S. V., Sánchez E., Velazquez-Cruz R., Eriksson N., Wojcik J. [et al.] *STAT4* associates with systemic lupus erythematosus through two independent effects that correlate with gene expression and act additively with IRF5 to increase risk. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2009, vol. 68, no. 11, pp. 1746–1753. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.097642>

10. Hagberg N., Lundtoft C., Rönnblom L. Immunogenetics in Systemic Lupus Erythematosus: Transitioning from Genetic Associations to Cellular Effects. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2020, vol. 92, no. 4, art. e12894. <https://doi.org/10.1111/sji.12894>
11. Namjou B., Sestak A. L., Armstrong D. L., Zidovetzki R., Kelly J. A., Jacob N., Ciobanu V. [et al.]. High-density genotyping of *STAT4* reveals multiple haplotypic associations with systemic lupus erythematosus in different racial groups. *Arthritis & Rheumatology*, 2009, vol. 60, no. 4, pp. 1085–1095. <https://doi.org/10.1002/art.24387>
12. Taylor K. E., Remmers E. F., Lee A. T., Ortmann W. A., Plenge R. M., Tian C., Chung S. A. [et al.]. Specificity of the *STAT4* genetic association for severe disease manifestations of systemic lupus erythematosus. *PLoS Genetics*, 2008, vol. 4, no. 5, art. e1000084. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000084>
13. Chistiakova E. I., Chistiakov D. A. T-cell protein tyrosine phosphatase: a role in inflammation and autoimmunity. *International Journal of Diabetes Mellitus*, 2010, vol. 2, no. 2, pp. 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.ijdm.2010.05.012>
14. Ciccacci C., Perricone C., Ceccarelli F., Rufini S., Di Fusco D., Alessandri C., Spinelli F. R., Cipriano E., Novelli G., Valesini G., Borgiani P., Conti F. A Multilocus Genetic Study in a Cohort of Italian SLE Patients Confirms the Association with *STAT4* Gene and Describes a New Association with *HCP5* Gene. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 11, art. e111991. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111991>
15. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls / WTCCC (Wellcome Trust Case Control Consortium). *Nature*, 2007, vol. 447, pp. 661–678.
16. Hu L.-Y., Cheng Z., Zhang B., Yin Q., Zhu X.-W., Zhao P.-P., Han M.-Y., Wang X.-B., Zheng H.-F. Associations between *PTPN22* and *TLR9* polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a comprehensive meta-analysis. *Archives of Dermatological Research*, 2017, vol. 309, no. 6, pp. 461–477. <https://doi.org/10.1007/s00403-017-1745-0>
17. Siniauskaya E., Yatskiu H., Dostanko N., Yagur V., Goncharova R. AB0016 Genetic variants of predisposition to rheumatoid arthritis in Belarusian population [EULAR Annual Congress, Copenhagen, June 1–4, 2022]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2022, vol. 81, no. 1, art. 1143. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2022-eular.4519>

### Информация об авторах

*Никитченко Наталья Васильевна* – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: n.nikitchenko@igc.by.

*Яцкив Анна Андреевна* – ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.yatskiv@igc.by.

*Синявская Елизавета Сергеевна* – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.siniauskaya@igc.by.

*Белькевич Анна Геннадьевна* – канд. мед. наук, ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: belka99@mail.ru.

*Козыро Инна Александровна* – д-р мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kozyroia@mail.ru.

*Достанко Наталья Юрьевна* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: n.dostanko@tut.by.

*Ягур Виктор Евгеньевич* – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yagurl@tut.by.

*Гончарова Роза Иосифовна* – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: R.Goncharova@igc.by.

### Information about the authors

*Nikitchenko Natalia V.* – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.Nikitchenko@igc.by.

*Yatskiu Hanna A.* – Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.yatskiv@igc.by.

*Siniauskaya Elizabeth S.* – 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: e.siniauskaya@igc.by.

*Bialkevich Hanna G.* – Ph. D. (Medicine). Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: belka99@mail.ru.

*Kazyra Ina A.* – D. Sc. (Medicine). Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kozyroia@mail.ru.

*Dostanko Natalia Yu.* – Ph. D. (Medicine). Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n.dostanko@tut.by.

*Yagur Victor E.* – D. Sc. (Medicine), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yagurl@tut.by.

*Goncharova Roza I.* – D. Sc. (Biology), Professor, Chief Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: R.Goncharova@igc.by.

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

**МЕДИЦИНА**  
**MEDICINE**

УДК 616.24-002.5-002.5[576.8:579.716.5]  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-231-241>

Поступило в редакцию 19.09.2022  
Received 19.09.2022

**В. В. Слипень<sup>1</sup>, А. Э. Охремчук<sup>2</sup>, Л. К. Суркова<sup>1</sup>,  
член-корреспондент Г. Л. Гуревич<sup>1</sup>, академик Л. П. Титов<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
Минск, Республика Беларусь

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМА MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS  
ГЕНОТИПА BEIJING КЛАСТЕРА 100-32 С ПРЕ-ШИРОКОЙ  
ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ**

**Аннотация.** Проведено полногеномное секвенирование штамма *M. tuberculosis* 11502 (база биообразцов NCBI, код доступа SAMN17832565), отнесенного, на основании структуры MIRU-VNTR локусов ( $n = 24$ ), к генотипу Beijing подтипу B0/W148 кластеру 100-32 и проявлявшего пре-широкую лекарственную устойчивость. Штамм *M. tuberculosis* 11502 был резистентен к изониазиду, рифампицину, этамбутолу, левофлоксацину, этионамиду, что коррелировало с присутствием в резистоме мутаций в соответствующих генах: к рифампицину – мутации в генах *rpoB* (p.S450L), *rpoC* (p.I491T), к изониазиду – в промоторе гена *fabG1* (g.-8T>C), промоторе *katG* (p.S315T), к этионамиду – в *ethA* (делеция T в положении 4 335 027 (gatgc-gagc)); к фторхинолонам – в гене *gyrA* (p.D94G); к этамбутолу – в *embB* (p.M306I), к стрептомицину – в *rpsL* (p.K43R). Геном *M. tuberculosis* 11502 (код доступа GenBank NCBI – CP070338) содержит 4 420 561 пару оснований, 4 104 гена, 4 053 кодирующие последовательности (кодирующие белки – 3 874) и отличается от референтного штамма *M. tuberculosis* H37Rv присутствием 2 055 мутаций, при этом зарегистрирован незначительный дрейф мутаций в сторону накопления G+C, что свидетельствует о важности поддержания высокого содержания G+C в геноме микобактерий. Геном *M. tuberculosis* 11502 имеет большее количество мутаций в сравнении с ранее секвенированным штаммом *M. tuberculosis* 4860 (код доступа в GenBank, NCBI: CP053092.1), относящимся к генотипу LAM (2055 против 1577 мутаций), что может быть результатом более длительной или более активной циркуляции *M. tuberculosis* 11502, или существования биологических особенностей, обеспечивающих про-мутагенный эффект.

**Ключевые слова:** геном микобактерий туберкулеза, генотип Beijing подтип B0/W148, кластер 100-32, пре-широкая лекарственная устойчивость

**Для цитирования.** Характеристика генома *Mycobacterium tuberculosis* генотипа Beijing кластера 100-32 с пре-широкой лекарственной устойчивостью / В. В. Слипень [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 231–241. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-231-241>

**Veronika V. Slizen<sup>1</sup>, Artur E. Akhremchuk<sup>2</sup>, Larissa K. Surkova<sup>1</sup>, Corresponding Member Gennady L. Gurevich<sup>1</sup>,  
Academician Leonid P. Titov<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Republican Scientific and Practical Center of Pulmonology and Phthisiatry, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

**CHARACTERISTIC OF THE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS GENOME OF BEIJING GENOTYPE  
OF CLUSTER 100-32 DISPLAYING PRE-EXTENDED DRUG RESISTANCE**

**Abstract.** A whole genome sequencing was performed of strain *M. tuberculosis* 11502 (NCBI biosamples database, access code SAMN17832565) that was assigned to the Beijing genotype subtype B0/W148 of cluster 100-32, based on the MIRU-VNTR loci ( $n = 24$ ) structure, and that exhibited pre-extended drug resistance. *M. tuberculosis* 11502 was resistant to

isoniazid, rifampicin, ethambutol, levofloxacin, and ethionamide, which correlated with the presence of mutations in the genes: resistance to isoniazid – the mutations in the *fabG1* promoter (p.-8T>C), the *katG* promoter (p.S315T), to ethionamide – the mutations in *ethA* (deletion of T at position 4 335 027 (gatgc-gagc)); to fluoroquinolones – in the *gyrA* gene (p.D94G); to ethambutol – in the *embB* gene (p.M3061); to streptomycin – in the *rpsL* gene (p.K43R). *M. tuberculosis* 11502 genome (GenBank NCBI access code – CP070338) contained 4 420 561 base pairs, 4 104 genes, 4 053 CDSs (coding proteins – 3 874) and differed from reference strain *M. tuberculosis* H37Rv by the presence of 2 055 mutations. A slight drift of mutations towards the G+C accumulation was revealed, which indicates the importance of maintaining a high G+C content in the *Mycobacterium spp.* genome. Strain *M. tuberculosis* 11502 has a higher number of mutations in comparison to previously sequenced *M. tuberculosis* 4860 (GenBank Access Code, NCBI: CP053092) belonging to the LAM genotype (2055 vs. 1577 mutations), which may be a consequence of a longer circulation of *M. tuberculosis* 11502, or some biological features providing the promutagenic effect.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis* genome, genotype Beijing subtype B0/W148 cluster B100-32, pre-extended drug resistance

**For citation.** Slizen V. V., Akhremchuk A. E., Surkova L. K., Gurevich G. L., Titov L. P. Characteristics of the *Mycobacterium tuberculosis* genom of Beijing genotype of cluster 100-32 displaying pre-extended drug resistance. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 231–241 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-231-241>

**Введение.** За последние два десятилетия *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) с множественной (МЛУ), широкой (ШЛУ), чрезвычайной и тотальной лекарственной устойчивостью стали представлять угрозу для общественного здравоохранения во всем мире. В соответствии с прогнозами, в следующие 35 лет лекарственно устойчивый туберкулез (ТБ) может привести к смерти около 75 млн человек и обойдется мировой экономике в 16,7 трлн долларов [1].

Комбинация геномных, протеомных и биоинформатических подходов потенциально способна предоставить новую информацию о свойствах МБТ, которая позволит более полно охарактеризовать их биологические особенности, механизмы адаптации к меняющимся условиям, патогенез туберкулеза, механизмы латенции, а также разработать новые стратегии профилактики туберкулеза и новые противотуберкулезные лекарственные средства (ПТЛС) [2; 3].

Полногеномные, транскриптомные и полногеномные ассоциативные исследования, проведенные в последние годы, пролили свет на сложность механизмов лекарственной устойчивости МБТ и позволили лучше понять лежащие в ее основе молекулярные механизмы [2]. Было показано, как конкретные штаммы МБТ адаптируются и взаимодействуют с хозяином во время инфекции, что является ключевым фактором в поиске новых бактериальных детерминант, на которые можно ориентироваться при разработке новых противотуберкулезных препаратов или терапии [1]. В свою очередь, генетические исследования МБТ подтвердили клоальность возбудителя и позволили оценить географическое распространение различных клонов [4]. На данный момент актуальным направлением исследований МБТ является характеристика не только быстро распространяющихся подтипов генотипа Beijing B0/W148 и 94-32, но и других его подтипов [4].

Цель – провести анализ генома *M. tuberculosis* генотипа Beijing подтипа B0/W148, генетического кластера 100-32 и установить связь генотипа с наблюдаемым фенотипом лекарственной устойчивости.

**Материалы и методы исследования.** Исследован штамм МБТ с лабораторным номером 11502, относившийся к пре-ШЛУ и выделенный из мокроты от пациента (мужчины) с впервые диагностированным ТБ легких. Изолят МБТ 11502 проявлял устойчивость к изониазиду (0,2 мкг/мл), рифампицину (40,0 мкг/мл), этамбутолу (2,0 мкг/мл), левофлоксацину (2,0 мкг/мл), этионамиду (40,0 мкг/мл).

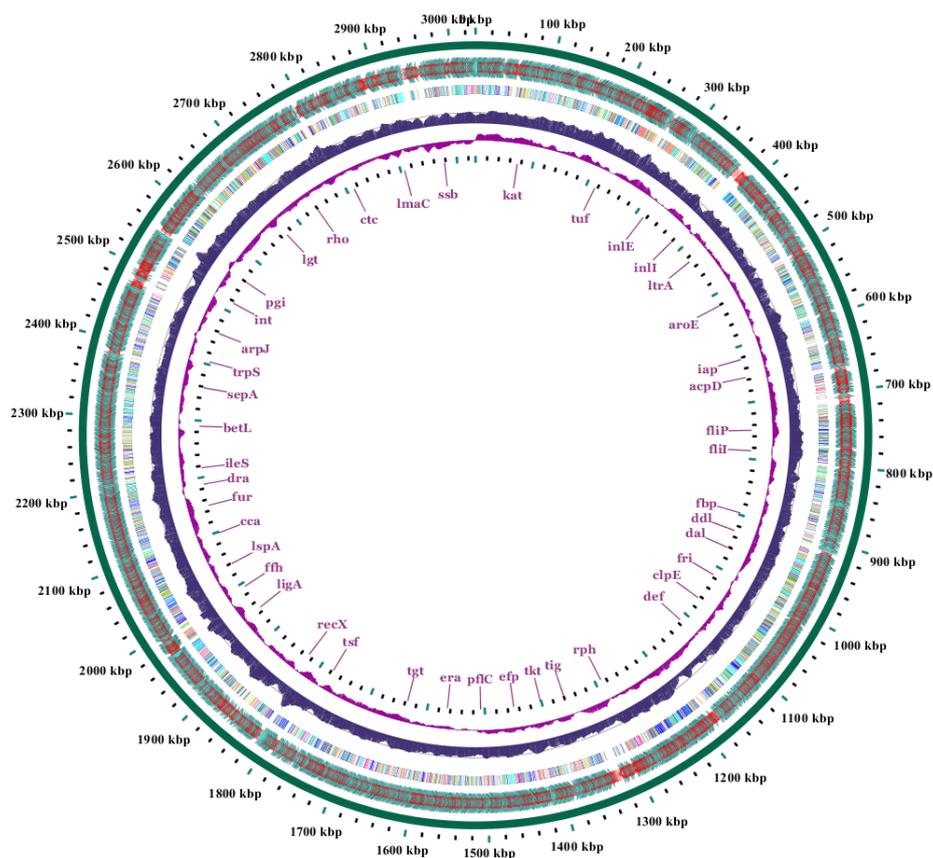
Выделение, идентификация, определение устойчивости МБТ к ПТЛС проводились в соответствии с «Руководством по лабораторной диагностике туберкулеза» (приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 22.03.2013 № 377). С помощью ранее описанного метода [5; 6] изолят МБТ 11502 был типирован как относящийся к генотипу Beijing подтипу B0/W148. Информация об исследуемом штамме МБТ 11502 была загружена в международный банк данных о биологическом образце – код доступа в NCBI: SAMN17832565. Выделение ДНК проводили с использованием набора QIAGEN Blood Cell Culture DNA MaxiKit (Cat. No./ID: 13362), либо QIAamp DNA MiniKit (Cat. No./ID: 51304) согласно прилагающейся инструкции. Все этапы под-

готовки библиотек ДНК выполняли в соответствии с инструкцией фирмы-производителя наборов реактивов Nextera XT DNA Library Preparation Kit (FC – 131-1024, Illumina) и Ligation Sequencing Kit (SQK-LSK109, Oxford Nanopore). Высокопроизводительное секвенирование нового поколения (ВСП) выполняли с использованием приборов MiSeq (Illumina) с помощью реактивов MiSeq Reagent Kit v3, позволяющих получать прочтения длиной  $2 \times 301$  нуклеотид, и MinION (МК 1B, Oxford Nanopore Technologies) с проточной ячейкой R9.4.1. Для сортировки полученных прочтений с помощью секвенатора MinION применяли программу Barapost v.2020-11-16. *De novo* сборка осуществлена с использованием программ Flye v. 2.8.2; SPAdes v.3.14.1. Для аннотирования использован веб-сервер RAST (<https://rast.nmpdr.org>). Визуализация генетической карты хромосомы осуществлена с помощью онлайн программы GView (<https://server.gview.ca>). Для расчета средней идентичности нуклеотидов в сравнении с референтным геномом использовали ANI-calculator (<http://enve-omics.ce.gatech.edu/ani/index>). Геномный показатель дельта-расстояния (GS-DD), основанный на выявлении внутригеномных вариаций в содержании динуклеотидов, тетра-нуклеотидов, определяли программой  $\delta^*$ -differences (<https://www.cmbi.luga.edu/software/delta-differences.html>). Для оценки удельного веса нуклеотидов (A, T, G, C), кодонов в структуре генома применяли программу «codon usage» ([https://www.cmbi.luga.edu/software/codon\\_usage.html](https://www.cmbi.luga.edu/software/codon_usage.html)). Автоматизированный расчет резистентности проводили с помощью ResFinder4.1 (<https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/>), схожести последовательностей ДНК – Nucleotide Blast (NCBI). Выравнивание геномов и их сравнительный анализ проводили с использованием MSA Viewer, BLAST, NCBI. С помощью программы Unipro Ugene определяли количество и состав tandemных повторов в 24 MIRU-VNTR локусах. Выявление фагов выполняли с помощью онлайн сервиса PHASTER (<https://phaster.ca>). Аннотацию и анализ кластеров генов биосинтеза вторичных метаболитов осуществляли при помощи веб-сервиса antiSMASH (<https://antismash.secondarymetabolites.org>). Для сравнения генетических свойств микобактерий кроме МБТ 11502 использовали ранее секвенированные штаммы МБТ 4860 (код доступа GenBank, NCBI-CP049108) и МБТ 5005 (код доступа GenBank, NCBI-CP053092).

**Результаты и их обсуждение.** Секвенированный геном МБТ 11502 был загружен в GenBank, NCBI – код доступа CP070338. По данным программы PGAP5.1 (NCBI), геном содержит 4 420 561 пару оснований (п. о.), и в нем аннотировано 4 104 гена, 4 053 кодирующие последовательности, из которых кодирующими белок (БКП) являются 3 874. Кодирование РНК осуществляет 51 ген: 45 генов детерминирует тРНК, по одному гену кодируют рРНК – 5S, 16S, 23S рибосомную РНК (всего 3 гена), 3 гена кодируют нкРНК. Всего в структуре генома аннотировано 179 псевдогенов, при этом 110 псевдогенов содержат мутации рамки считывания, 66 из 179 псевдогенов неполные, 23 имеют внутренние нонсенс-мутации (стоп-кодона), в 16 генах определены множественные проблемы. В геноме МБТ 11502 выявлен 1 CRISPR элемент. Карта генома МБТ 11502 представлена на рисунке.

Содержание GC в одной цепи генома МБТ 11502 составляло 65,6 % (C – 33,0 %, G – 32,6 %), при этом количество A и T – 760 898 и 759 469 нуклеотидов соответственно. Геном МБТ 11502 сравнили с ранее секвенированными другими штаммами, изолированными на территории Беларуси: сходство с МБТ 5005 составляло 99,99 % (были выравнены 4 296 754 из общего количества нуклеотидов 4 420 561), с МБТ 4860 – 99,91 % (выравнены 4 249 923 из 4 420 561 нуклеотидов). Сходство с референсным штаммом МБТ H37Rv – 99,90 % (выравнены 4 247 266 из 4 420 561 нуклеотидов). Средняя идентичность аминокислот МБТ 11502 и МБТ H37Rv составила 99,98 %. Отличие по количеству встречающихся динуклеотидов МБТ 11502 и ранее секвенированных МБТ 5005 и 4860, и референс-генома МБТ H37Rv приведены в табл. 1.

Из 3874 аннотированных генов 1500 принадлежали к следующим группам генов: контролирующие кофакторы, витамины, простетические группы, пигменты ( $n = 142$ ,  $11 \pm 1,69$  %), синтез компонентов клеточной стенки/капсулы ( $n = 27$ ,  $1,8 \pm 0,72$  %), вирулентность и защиту ( $n = 43$ ,  $2,87 \pm 0,9$  %), метаболизм калия ( $n = 7$ ,  $0,47 \pm 0,37$  %), фотосинтез ( $n = 0$ ,  $0$  %), фаги, профаги, мобильные элементы, плазмиды ( $n = 2$ ,  $0,13 \pm 1,69$  %), мембранный транспорт ( $n = 25$ ,  $1,67 \pm 0,69$  %), захват железа и его метаболизм ( $n = 2$ ,  $0,13 \pm 0,2$  %), метаболизм РНК ( $n = 44$ ,  $2,93 \pm 0,91$  %), синтез нуклеозидов и нуклеотидов ( $n = 68$ ,  $4,53 \pm 1,12$  %), обмен белков ( $n = 165$ ,  $11,0 \pm 1,69$  %), деле-



Графическое отображение секвенированного генома *M. tuberculosis* 11502 (веб-сервис GView). Отображены начала и концы рамок считывания на двух цепочках кольцевой ДНК, аннотированные гены, содержание GC, GC разброс (положительный и отрицательный)

Graphical representation of the sequenced *M. tuberculosis* 11502 genome (GView web service). Displayed start and end of reading frames on two strands of cDNA, annotated genes, GC content, GC deviation (positive and negative)

Т а б л и ц а 1. Сравнительная характеристика содержания динуклеотидов и их удельный вес в геноме *M. tuberculosis* 11502

T a b l e 1. Comparative characteristics of the dinucleotide content and their proportion in the *M. tuberculosis* 11502 genome

Тип Type	МБТ 11502		МБТ 5005		МБТ 4860		МБТ H37Rv	
	Количество Quantity	% ± tm						
AA	137 302	3,12 ± 0,02	137 259	3,12 ± 0,02	136 941	3,12 ± 0,02	137 526	3,12 ± 0,02
AC	261 732	5,92 ± 0,02	261 626	5,92 ± 0,02	258 556	5,88 ± 0,02	259 705	5,89 ± 0,02
AG	198 171	4,48 ± 0,02	198 044	4,48 ± 0,02	197 228	4,49 ± 0,02	198 099	4,49 ± 0,02
AT	163 692	3,7 ± 0,02	163 600	3,7 ± 0,02	162 744	3,7 ± 0,02	163 226	3,7 ± 0,02
CA	278 696	6,3 ± 0,02	278 599	6,31 ± 0,02	275 438	6,27 ± 0,02	276 641	6,27 ± 0,02
CC	418 821	9,47 ± 0,03	418 498	9,47 ± 0,03	413 572	9,41 ± 0,03	414 971	9,41 ± 0,03
CG	562 701	12,73 ± 0,02	562 519	12,73 ± 0,02	559 468	12,73 ± 0,02	561 855	12,74 ± 0,02
CT	197 376	4,46 ± 0,02	197 241	4,46 ± 0,02	195 964	4,46 ± 0,02	196 602	4,46 ± 0,02
GA	269 954	6,11 ± 0,02	269 780	6,11 ± 0,02	268 738	6,12 ± 0,02	269 787	6,12 ± 0,02
GC	507 675	11,48 ± 0,03	507 537	11,49 ± 0,03	504 699	11,49 ± 0,03	506 864	11,49 ± 0,03
GG	405 336	9,17 ± 0,03	405 089	9,17 ± 0,03	405 197	9,22 ± 0,03	407 404	9,23 ± 0,03
GT	259 632	5,87 ± 0,02	259 487	5,87 ± 0,02	259 733	5,91 ± 0,02	260 657	5,91 ± 0,02
TA	74 945	1,7 ± 0,01	74 891	1,7 ± 0,01	74 352	1,69 ± 0,01	74 602	1,69 ± 0,01
TC	269 366	6,09 ± 0,02	269 194	6,09 ± 0,02	267 616	6,09 ± 0,02	268 528	6,09 ± 0,02
TG	276 389	6,25 ± 0,02	276 244	6,25 ± 0,02	276 474	6,29 ± 0,02	277 356	6,29 ± 0,02
TT	138 768	3,14 ± 0,02	138 698	3,14 ± 0,02	137 431	3,13 ± 0,02	137 881	3,13 ± 0,02

ние клеток и клеточный цикл ( $n = 0, 0\%$ ), подвижность и хемотаксис ( $n = 0, 0\%$ ), регуляцию и передачу сигналов клеток ( $n = 102, 6,8 \pm 1,36\%$ ), вторичный метаболизм ( $n = 1, 0,07 \pm 0,14\%$ ), метаболизм ДНК ( $n = 84, 5,6 \pm 1,24\%$ ), синтез жирных кислот, липидов и изопреноидов ( $n = 141, 9,4 \pm 1,57\%$ ), метаболизм азота ( $n = 20, 1,33 \pm 0,62\%$ ), образование покоящихся форм ( $n = 1, 0,07 \pm 0,14\%$ ), дыхание ( $n = 73, 4,87 \pm 1,16\%$ ), контролирующие стресс-реакцию ( $n = 27, 1,8 \pm 0,72\%$ ), метаболизм ароматических соединений ( $n = 7, 0,47 \pm 0,37\%$ ), аминокислот и их производных ( $n = 263, 17,53 \pm 2,05\%$ ), обмен серы ( $n = 7, 0,47 \pm 0,37\%$ ), обмен фосфора ( $n = 27, 1,8 \pm 0,72\%$ ), синтез углеводов ( $n = 199, 13,27 \pm 1,8\%$ ).

В геноме МБТ 11502 выявлены элементы двух фагов. Один из этих профаговых регионов имеет размер 8700 п. о. (положение в геноме – 4084310–4093014), содержание G+C в нем – 65,54%. В этом локусе присутствует один ген тРНК, 7 БКП, схожих с фаговыми, и 1 – с бактериальной. На долю этих генов в структуре локуса приходится 87,5% информации, при этом профаг проявляет наибольшее подобие с PHAGE\_Staphy\_SPbeta\_like\_NC\_029119 или PHAGE\_Tsukam\_TRA4\_NC\_030916.

Второй возможный профаговый регион имеет размер 4 500 п. о. (место расположения – 2747186–2761777). Содержание G+C в этом локусе составляет 66,14%; в его составе находится 22 гена, 12 из которых кодируют фаговые белки, 5 – гипотетические белки, 5 генов – бактериальные белки. На долю этих генов приходится 77,2% информации локуса. Элементы фага проявляли наибольшее сходство с фагом PHAGE\_Gordon\_Zirinka\_NC\_031097(3) и PHAGE\_Gordon\_Attis\_NC\_041883(2), PHAGE\_Staphy\_SPbeta\_like\_NC\_029119(2).

С помощью веб-ресурса antiSMASH у МБТ 11502 были предсказаны гены, продукты которых отвечают за синтез 3 биологически активных метаболитов. Данные гены выявлены как у МБТ 11502, так и у МБТ 5005, МБТ 4860, МБТ Н37Rv. Вероятными метаболитами являются:

изонитрильные липопептиды (локализация синтетического кластера генов 88504–135346), продуцируемые нерибосомными пептидсинтазами;

метилованный алкил-резорцин/метилованный ацил-флороглюцин, относящийся к поликетидам (кластер генов поликетидсинтаз типа I и типа III, локализация – 1628786–1686913);

микобактин (кластер генов нерибосомной пептидсинтазы, локализация 2416401–2474538).

Также выявлены гены, кодирующие или отвечающие за синтез:

антибиотикоподобного белка TP-1161 из группы тиопептидов (положение 3611771–3634465), который проявляет сходство (12%) с кластером биосинтетических генов TP-1161 у *Nocardiopepsis* sp. ТФС65-07;

хопена (положение 3809354–3830262), относящегося к терпенам и проявляющего 15% подобия со *Streptomyces coelicolor* A3(2);

реверомицина А (положение 2053481–2105721), из группы поликетидов проявляющего идентичность с метаболитом *Streptomyces* sp. SN-593 (9% подобия);

метаболита BE-7585A (положение 1305988–1346116), синтез которого зависит от поликетидсинтаз III типа (сходство 11% с кластером генов *Amycolatopsis orientalis* subsp. *Vinearia*).

У МБТ 11502 отсутствовал ген, кодирующий вторичный метаболит, выявленный у МБТ Н37Rv, – BE-43547A1, относящийся к циклическим депсипетидам и поликетидам (модульный тип I) из группы поликетидсинтаз типа I.

Значение вторичных метаболитов, продуцируемых МБТ 11502, требует дальнейшего изучения.

Геномы МБТ 11502 и МБТ 5005 проявляли высокую степень сходства: их отличали 36 полиморфизмов единичных нуклеотидов (ПЕН). Были выявлены следующие мутации:  $a \rightarrow g - 2$ ,  $g \rightarrow a - 11$ ,  $c \rightarrow t - 8$ ,  $t \rightarrow c - 5$ ,  $g \rightarrow c - 5$ ,  $c \rightarrow a - 2$ ,  $c \rightarrow g - 1$ ,  $g \rightarrow t - 2$ . Суммарно было выявлено 7 мутаций с заменой на g и c, в то время как с заменой на t, a – 23 мутации. Между штаммами МБТ 11502 и МБТ 5005 выявлен дрейф мутаций в сторону накопления аденина и тимина. Сравнительный анализ геномов МБТ 11502 и МБТ Н37Rv свидетельствует о присутствии 2055 мутаций, отличающих их. Частота и тип замен нуклеотидов приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Характеристика ПЕН в геноме *M. tuberculosis* 11502 в сравнении с *M. tuberculosis* H37RvT a b l e 2. Characteristics of SNP in the genome of *M. tuberculosis* 11502 versus *M. tuberculosis* H37Rv

Нуклеотид/кол-во мутаций Nucleotide/quantity of mutations (n = 2055)	Замена Replacement	Кол-во Quantity		Нуклеотид/кол-во мутаций Nucleotide/quantity of mutations (n = 2055)	Замена Replacement	Кол-во Quantity	
		H37Rv- 11502**	11502-H37Rv*			H37Rv- 11502	11502- H37Rv
C (n = 590)* C (n = 553)**	C→Г	278	312	G+C (n = 1132)* G+C (n = 1200)**	T, C, A→G	610	579
	C→G	168	166		T, G, A→C	590	553
	C→A	107	112		T, A → G+C	866	798
G (n = 610)* G (n = 579)**	G→Г	116	112	T+A (n = 923)* T+A (n = 855)**	G, C, A→Г	428	447
	G→C	166	168		G, C, T→A	427	476
	G→A	297	330		G, C→Г+A	798	866
A (n = 427)* A (n = 476)**	A→Г	34	23	A (n = 404)* A (n = 442)**	A→C	112	107
	A→G	330	297		A→G	330	297
	A→C	112	107		T (n = 394)* T (n = 424)**	T→G	112
T (n = 428)* T (n = 447)**	T→G	112	116	G (n = 442)* G (n = 413)** C (n = 424)* C (n = 385)**	T→C	312	278
	T→A	23	34		G→A	297	330
	T→C	312	278		G→T	116	112
					C→A	107	112
C→T	278	312					

Примечание: \* – МБТ 11502, \*\* – МБТ H37Rv.

Note: \* – *M. tuberculosis* 11502, \*\* – *M. tuberculosis* H37Rv.

В целом замены нуклеотидов Т/А на G/C происходят чаще у МБТ 11502, чем G/C на Т/А (866 замен против 798), при этом количество замен А на G/C и Т на G/C сравнимо по частоте. Замены А на G происходят чаще, чем А на С, а замены Т на С, чаще, чем Т на G. Если рассматривать замены G/C на Т/А, то замена G на А происходит чаще, чем на Т, а мутации с заменой С на Т происходят чаще, чем С на А. Такой незначительный дрейф в сторону замен на G и С у МБТ может свидетельствовать о важности поддержания высокого содержания G+C в геноме МБТ.

Анализ групп микроорганизмов с различным содержанием G+C (*Bacillales* (с низким), *Enterobacteriales* (со средним), *Actinobacteria*, *Burkholderiales* (с высоким)) позволил ряду исследователей установить, что в геноме у микроорганизмов отмечается дрейф в сторону накопления T+A, что свойственно и для кладов, которые имеют как высокое, так и низкое содержание геномного G+C [7]. Как правило, мутационное смещение в сторону AT связано с более высокой частотой замен C/G на T. Такая модель изменений характерна для различных функциональных локусов геномов (межгенные локусы, синонимичные и несинонимичные локусы) [8]. Для объяснения вариации в GC-составе геномов было предложено несколько факторов: УФ-излучение, фиксация азота и паразитизм [8]. Доступность азота для пластического метаболизма может также объяснять смещение в заменах у близкородственных организмов, чей сходный образ жизни исключает альтернативные объяснения [9].

У МБТ 11502 в кодоне 95 гена *gyrA* находится мутация агс→асс, в 463 кодоне гена *katG* находится CTG (лейцин), что позволяет отнести их в группу 1, согласно предложенной классификации S. Sreevatsan и соавт. [10]. У этой группы отмечается вставка IS6110 между генами *dnaA* и *dnaN*. МБТ, относящиеся к группе 1, схожи по организации в кодоне 95 *gyrA* и кодоне 463 *katG* гена с *M. microti*, *M. bovis*, *M. africanum*, что позволяет считать их эволюционно более древними, чем МБТ группы 2 и 3, а следовательно, они могут иметь больший интервал времени для изменений и потому содержат большее количество мутаций [10]. Таким образом, большее количество мутаций в генах у МБТ 11502 и МБТ 5005 в сравнении с МБТ 4860 и МБТ H37Rv может быть обусловлено более ранним возникновением или более активным распространением в ходе эпидемического процесса, приводящим к более частым пассажам в системе паразит–хозяин.

**Резистом МБТ 11502.** ВSNП позволяет одновременно проводить детекцию мутаций во всех известных в настоящее время генах, ассоциированных с устойчивостью к ПТЛС. Изученный штамм МБТ 11502 имел генетические маркеры резистентности к рифампицину (*rpoB* (p.S450L), *rpoC* (p.I491T)), изониазиду (*fabG1*-promoter (g.-8T>C), *katG*-promoter (p.S315T)), стрептомицину

(*rpsL* (p.K43R)), этамбутолу (*embB* (p.M306I)), пиазинамиду (*pncA*-promoter (p.W68G)), фторхинолонам (*gyrA* (p.D94G)). Данные о мутациях резистентности получены на основании *in silico* анализа 36 генов, контролирующих резистентность к 17 ПТЛС, с помощью BLAST, NCBI (табл. 3) и веб-сервиса ResFinder 4.1 (позволяет проводить анализ генов *rpl, gidB, rpsA, iniA, rpsL, pncA, alr, rplC, rrs, thyA, Rv0678, thyX, ahpC, folC, panD, tlyA, katG, inhA, gyrB, gyrA, rpoC, rpoB, idsA2, ribD, ubiA, eis, embA, embB, embC, ethA, drrA, nuoA, fabG1, embR, kasA, ethR*) [11]. Результаты генетического определения резистентности совпадали с результатами фенотипического определения устойчивости к ПТЛС. Остальные мутации могут носить компенсаторный характер. Веб-сервис ResFinder 4.1 является информативным ресурсом, автоматизирующим процесс анализа устойчивости к ПТЛС.

**Идентификация генотипа *M. tuberculosis* 11502.** Анализ тандемных повторов в 24 MIRU-VNTR локусах позволил определить профиль изолята 3-4-4-2-3-3-3-4-2-6-4-4-4-2-5-2-7-3-3-5-3-7-2-3 (MIRU02-Mtub04-ETRC-MIRU04-MIRU40-MIRU10-MIRU16-Mtub21-MIRU20-QUB11b-ETRA-Mtub29-Mtub30-ETRB-MIRU23-MIRU24-MIRU26-MIRU27-Mtub34-MIRU31-Mtub39-QUB26-QUB4156-MIRU39). Такой профиль был идентифицирован путем сравнения с базой профилей на сервере <https://www.miru-vntrplus.org> как генотип Beijing кластер 100-32, но изученный изолят отличался количеством повторов в двух локусах MIRU24 и QUB4156.

МБТ имеют клональную структуру популяции. В распространении инфекции приобретают значение не только генотипы, но и клональные группы в составе генотипов. Генотип Beijing неоднороден, с помощью MIRU-VNTR в нем выявляется 24 типа, из которых типы 100-32 и 94-32 представляют самые многочисленные группы. Клон BeijingB0/W148 имеет разные MIRU-VNTR профили, и может относиться к клональным группам 100-32, 1066-32 при проведении MIRU-VNTR типирования [12]. Таким образом, изученный изолят МБТ 11502 принадлежит к одной из репрезентативных клональных групп генотипа Beijing подтипа B0/W148. Исследования последних лет показали, что генотип Beijing, особенно МЛЮ, имеет повышенную способность вызывать диссеминированные и внелегочные заболевания [11; 13], кластер 100-32 играет роль в развитии туберкулеза позвоночника и одновременно туберкулеза позвоночника и легких [11]. В работах Vyazova A. и соавт. было показано, что удельный вес МБТ генотипа Beijing кластера 100-32 в развитии спондилита составлял 29 %, при этом 87 % МБТ кластера 100-32 были МЛЮ [12]. Вторым по частоте кластером МБТ генотипа Beijing в развитии спондилита является кластер 1066-32, остальные МБТ могут иметь уникальные MIRU-VNTR типы [11]. Распространение клона 100-32 было описано в Португалии и Гвинеи-Бисау. Изоляты МБТ из Португалии и Гвинеи-Бисау относились к клональным группам GC1 ( $n = 121$ ) и GC2 ( $n = 39$ ), и имели ПЕН, характерные кладам 100-32/B0/W148 и 94-32 (Центрально-Азиатский, русский тип) соответственно. Исследования МБТ из разных регионов, проводимые в Португалии, показали, что к клону 94-32 относились 576 изолятов, к клону 100-32 – 302 изолята, к 2083-32 – 18, 9124-32 – 6, 4737-32 – 5, 9387-32 – 3 [14].

Исследования изолятов, выделенных в странах Центральной Азии (общее количество 607 изолятов: из них 235 – из Узбекистана, 206 – из Таджикистана и 166 – из Кыргызстана), показали, что МБТ генотипа Beijing преобладали (411/607). Среди МБТ генотипа Beijing большинство изолятов кластрировались в группы (349 из 411 изолятов Beijing), среди которых наиболее репрезентативными группами были Beijing 94–32 ( $n = 145$ ) и Beijing 100–32/B0/W148 ( $n = 70$ ), что свидетельствует о доминировании генотипа Beijing и его кластеров 94–32 и 100–32 в этиологической структуре туберкулеза в Центральной Азии [15].

За последние 30 лет расширились представления о вариабельности МБТ, если ранее, до появления генетических методов исследований, их считали «монолитным» возбудителем, для которого характерны варианты, отличающиеся резистентностью к ПТЛС, то в настоящее время стала очевидна генетическая клональность этих возбудителей, отличающихся делециями, мутациями, генетическими повторами [4]. Формирующиеся новые генетические клоны могут отличаться вирулентностью, иммуногенностью, и потому могут распространяться среди групп, которые ранее редко вовлекались в эпидемический процесс, тем самым поддерживая уровень заболеваемости. Изученный изолят МБТ 11502, относящийся к генотипу Beijing подтипу B0/W148 и кластерной группе 100-32, подтверждает наличие гетерогенности среди подтипа B0/W148. Выделение этого

Таблица 3. Гены и мутации, ассоциированные с устойчивостью к ПТЛС *M. tuberculosis* H1502  
 Table 3. Genes and mutations associated with the resistance to anti-TB drugs in *M. tuberculosis* H1502

Ген Gene	Мишень Target	Мутации Mutation	Ген Gene	Мишень Target	Мутации Mutation
Рифамицины					
<i>rpoB</i> Rv0667	РНК-полимераза TCG1349TTG (p.SER450LEU) GCT3225GCC (p.ALA1075ALA)		<i>katG</i> Rv1908c	Модификация каталазы-пероксидазы AGC944ACC (p.SER315THR) CGG1388CTG (p.ARG463LEU)	
<i>ponA?</i> (Rv0050)	Бифункциональный пенициллин-связывающий белок GCA732GCG (p.ALA386ALA) 1887–1889 инсерция tcc 1895–1900 инсерция cgcsgt (в участок с 9 остатками пролина)		<i>inhA</i> Rv1484	НАД Н-зависимый эноилацильный белок-носитель нет	
Деламаид, претоманид					
<i>Ddn</i> Rv3547	Окислительный стресс нет		<i>fbxA</i> Rv3261	2-фосфо-L-лактаг-трансфераза нет	
<i>fgdI</i> Rv0407	Окисление глюкозо-6-фосфата TTT960TTC (–p.PHE320PHE)		<i>fbxB</i> Rv3262	Ко-энзим F420 L-глутамаглизга нет	
<i>fbxD</i> Rv2983	Фосфонол-пируват-гуанилтрансфераза EC 2.7.7.105 нет		<i>fbxC</i> Rv1173	FO-синтаза нет	
Линезолид					
<i>rrlI</i>	Модификация 23S рРНК нет		<i>crfA</i>	Межген Rv2421c-Rv2422 A231C (+нить) p.AAT31ACT	Имипенем/циластатин
<i>rpIC</i> Rv0701	50S рибосомальный белок L3 нет			Амикацин, капреомицин, канамицин	
Пиразинамид					
<i>ppsA</i> Rv2043c	Пиразинамидаза TGG202GGG (p.TRP68GLY)		<i>rpsL</i> Rv0682	12S рибосомальный белок AAG128AGG (p.LYS43ARG)	Стрептомицин
<i>panD</i> Rv3601c	Аспартаг-декарбоксилаза нет		<i>rps</i> Rvnr01	Модификация 16S рРНК нет	
<i>rpsA</i> Rv1630	Рибосомальный белок S1 CGA636CGC (p.ARG212ARG)		<i>gidB</i> Rv3919c	7-метил-гуанозин метил-трансфераза GAA276GAC(p.GLU92ASP) GCA615GGC(p.ALA205ALA)	

Этамбутол		Этионамид, прогионамид	
<i>embSAВ-оперон</i> Rv3793-5	Арабинозил трансфераза CAA114CAG (p.GLN38GLN) TGC228TGT (p.CYS76CYS) TTG988CTG (p.LEU330LEU)	<i>ethA</i> Rv3854c	Моноксигеназа Делеция T в положении 4335027 gatgc-gagc (-нить)
<i>ubiA</i> Rv3806c	Приобретение функции синтеза арабиногалактана нет	<i>ethR</i> Rv3855	Транскрипционный регулятор репрессорного белка (TetR) нет
Леводофлоксацин, оксифлоксацин			
<i>gyrA</i> Rv0006	ДНК-гираза A GAC61CAG(p.ASP21GLN) GAC218GGC (p.ASP94GLY) AGC284ACC (p. SER95THR) GGC2003GAC (p.GLY668ASP)	<i>inhA</i> Rv1484	НАДН-зависимый эноил-ацильный белок-носитель нет
<i>gyrB</i> Rv0005	ДНК-гираза B нет	<i>folC</i> Rv2447c	Парааминосалициловая кислота Метаболизм фолата нет
<i>atpE</i> Rv1305	АТФ-синтаза нет	<i>dfrA</i> Rv2763c	Дигидрофолат-редуктаза нет
<i>pepQ</i> Rv2535c	Предположительная Хаа-Про-аминопептидаза нет	<i>thyA</i> Rv2764c	Тимидилат-синтаза нет
Rv0678 mmpR5	Транскрипционный регулятор mmpL5, эффлюкс нет	<i>thyX</i> Rv2754c	Образование фТМФ и тетрагидрофолата нет
mmpS5	Мембранный белок mmpS5 нет	<i>ribD</i> Rv2671	Фермент биосинтеза рибофлавина нет
<i>pepQ</i> Rv2535c	Влияние на предлогаемую Хаа-Про-аминопептидазу и эффлюкс нет	<i>eis</i> Rv2416c	Канамидин Модификация аминогликозид- ацетил-трансферазы нет
<i>sucA</i> Rv1704c	Бактериальный протонный симпортер D-серина / L- и D-аланина / глицина / D-цикloserина G278T, cegggg – cctggg	<i>ald</i> Rv2780	Модификация L-аланин- дегидрогеназы и шунтирование субстрата Делеция A28 (cc28aaaaa – cc28aaaa)
<i>alr</i> Rv3423c	Модификация аланин-рацемазы нет		

подтипа описано и в Российской Федерации, странах Центральной Азии, Португалии. Он способен вызывать внелегочные формы туберкулеза – туберкулезный спондилит. Изолят МБТ 11502 и МБТ 5005, относящихся к генотипу Beijing, подтипу B0/W148, схожи и отличались только 36 мутациями и профилем tandemных повторов. У МБТ 11502 количество мутаций ( $n = 2055$ ) больше, чем у ранее секвенированного изолята МБТ 4860 ( $n = 1577$ ), относящегося к генотипу LAM, при этом сдвиг типа мутаций происходит в сторону незначительного обогащения G+C. На основании структуры кодонов генов *gyrA* 95 и *katG* 463, МБТ 11502 может быть отнесен в генетическую группу 1, которая объединяет эволюционно более древние клоны МБТ, что может быть причиной большего количества мутаций в геноме МБТ 11502. Большее количество мутаций МБТ 11502 в сравнении с МБТ 4860 может быть связано с его более активной циркуляцией и передачей, а также наличием биологических свойств, обеспечивающих промутагенный эффект.

**Заключение.** ВСНП позволяет оценивать резистентность к ПТЛС, клональность, что важно для клинической практики и персонализации лечения пациентов, а также ВСНП позволяет изучать гетерогенность и изменчивость МБТ, что важно для изучения механизмов адаптации и эволюции МБТ. Распространение клона 100-32 с лекарственной устойчивостью может привести к росту внелегочных форм туберкулеза, включая менингит и спондилит.

### Список использованных источников

1. Allué-Guardia, A. Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains and their adaptation to the human lung environment / A. Allué-Guardia, J. I. García, J. B. Torrelles // *Front. Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 612675. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.612675>
2. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence / S. T. Cole [et al.] // *Nature.* – 1998. – Vol. 393. – P. 537–544. <https://doi.org/10.1038/31159>
3. Biofilm formation in the lung contributes to virulence and drug tolerance of *Mycobacterium tuberculosis* / P. Chakraborty [et al.] // *Nat. Commun.* – 2021. – Vol. 12, N 1. – Art. 1606. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21748-6>
4. Evolution and diversity of clonal bacteria: the paradigm of *Mycobacterium tuberculosis* / T. Dos Vultos [et al.] // *PLoS One.* – 2008. – Vol. 3, N 2. – Art. e1538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001538>
5. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains by real-time PCR / D. Hillemann [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44, N 2. – P. 302–306. <https://doi.org/10.1128/jcm.44.2.302-306.2006>
6. Russian “successful” clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multiplex PCR assay for rapid detection and global screening / I. Mokrousov [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2012. – Vol. 50, N 11. – P. 3757–3759. <https://doi.org/10.1128/jcm.02001-12>
7. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison / M. Richter [et al.] // *Bioinformatics.* – 2016. – Vol. 32, N 6. – P. 929–931. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv681>
8. Hershberg, R. Evidence that mutation is universally biased towards AT in bacteria / R. Hershberg, D. Petrov // *PLoS Genetics.* – 2010. – Vol. 6, N 9. – Art. e1001115. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001115>
9. Seward, E. A. Dietary nitrogen alters codon bias and genome composition in parasitic microorganisms / E. A. Seward, S. Kelly // *Genome Biology.* – 2016. – Vol. 17, N 1. – Art. 226. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1087-9>
10. Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global dissemination / S. Sreevatsan [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 1997. – Vol. 94, N 18. – P. 9869–9874. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.18.9869>
11. Relationship between *Mycobacterium tuberculosis* genotype and the clinical phenotype of pulmonary and meningeal tuberculosis / G. Thwaites [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2008. – Vol. 46, N 4. – P. 1363–1368. <https://doi.org/10.1128/jcm.02180-07>
12. Tuberculous spondylitis in Russia and prominent role of multidrug-resistant clone *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 / A. Vyazovaya [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – Vol. 59, N 4. – P. 2349–2357. <https://doi.org/10.1128/aac.04221-14>
13. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes / B. Lopez [et al.] // *Clinical Experimental Immunology.* – 2003. – Vol. 133, N 1. – P. 30–37. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2003.02171.x>
14. Emergence of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* of the Beijing lineage in Portugal and Guinea-Bissau: a snapshot of moving clones by whole-genome sequencing / J. Perdigão [et al.] // *Emerging Microbes Infections.* – 2020. – Vol. 9, N 1. – P. 1342–1353. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1774425>
15. Population structure of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Central Asia / A. Engström [et al.] // *BMC Infectious Diseases.* – 2019. – Vol. 19, N 1. – Art. 908. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4480-7>

### References

1. Allué-Guardia A., García J. I., Torrelles J. B. Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains and their adaptation to the human lung environment. *Frontiers in Microbiology*, 2021, vol. 12, art. 612675. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.612675>

2. Cole S., Brosch R., Parkhill J., Garnier T., Churcher C., Harris D., Gordon S. V. [et al.]. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, 1998, vol. 393, no. 6685, pp. 537–544. <https://doi.org/10.1038/31159>
3. Chakraborty P., Bajeli S., Kaushal D., Radotra B. D., Kumar A. Biofilm formation in the lung contributes to virulence and drug tolerance of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Communications*, 2021, vol. 12, no. 1, art. 1606. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21748-6>
4. Dos Vultos T., Mestre O., Rauzier J., Golec M., Rastogi N., Rasolofy V., Tonjum T., Sola C., Matic I., Gicquel B. Evolution and diversity of clonal bacteria: the paradigm of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One*, 2008, vol. 3, no. 2, art. e1538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001538>
5. Hillemann D., Warren R., Kubica T., Rüsck-Gerdes S., Niemann S. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, vol. 44, no. 2, pp. 302–306. <https://doi.org/10.1128/jcm.44.2.302-306.2006>
6. Mokrousov I., Narvskaya O., Vyazovaya A., Otten T., Jiao W.-W., Gomes L. L., Suffys P. N., Shen A.-D., Vishnevsky B. Russian “successful” clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, vol. 50, no. 11, pp. 3757–3759. <https://doi.org/10.1128/jcm.02001-12>
7. Richter M., Rosselló-Móra R., Glöckner F. O., Peplies J. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison. *Bioinformatics*, 2016, vol. 32, no. 6, pp. 929–931. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv681>
8. Hershberg R., Petrov D. A. Evidence that mutation is universally biased towards AT in bacteria. *PLoS Genetics*, 2010, vol. 6, no. 9, art. e1001115. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001115>
9. Seward E. A., Kelly S. Dietary nitrogen alters codon bias and genome composition in parasitic microorganisms. *Genome Biology*, 2016, vol. 17, no. 1, art. 226. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1087-9>
10. Sreevatsan S., Pan X. L., Stockbauer K. E., Connell N. D., Kreiswirth B. N., Whittam T. S., Musser J. M. Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global dissemination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, vol. 94, no. 18, pp. 9869–9874. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.18.9869>
11. Thwaites G., Caws M., Chau T. T. H., D’Sa A., Lan N. T. N., Huyen M. N. T., Gagneux S. Relationship between *Mycobacterium tuberculosis* genotype and the clinical phenotype of pulmonary and meningeal tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, vol. 46, no. 4, pp. 1363–1368. <https://doi.org/10.1128/jcm.02180-07>
12. Vyazovaya A., Mokrousov I., Solovieva N., Mushkin A., Manicheva O., Vishnevsky B., Zhuravlev V., Narvskaya O. Tuberculous spondylitis in Russia and prominent role of multidrug-resistant clone *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2015, vol. 59, no. 4, pp. 2349–2357. <https://doi.org/10.1128/aac.04221-14>
13. Lopez B., Aguilar D., Orozco H., Burger M., Espitia C., Ritacco V., Barrera L., Kremer K., Hernandez-Pando R., Huygen K., Van Soolingen D. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes. *Clinical and Experimental Immunology*, 2003, vol. 133, no. 1, pp. 30–37. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2003.02171.x>
14. Perdigo J., Silva C., Maltez F., Machado D., Miranda A., Couto I., Rabna P. [et al.]. Emergence of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* of the Beijing lineage in Portugal and Guinea-Bissau: a snapshot of moving clones by whole-genome sequencing. *Emerging Microbes and Infections*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 1342–1353. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1774425>
15. Engström A., Antonenka U., Kadyrov A., Kalmambetova G., Kranzer K., Merker M., Kabirov O. [et al.]. Population structure of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Central Asia. *BMC Infectious Diseases*, 2019, vol. 19, no. 1, art. 908. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4480-7>

### Информация об авторах

Слизень Вероника Вячеславовна – канд. мед. наук, доцент, докторант. РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: veronal@tut.by. ORCID: 0000-0003-1846-6100.

Охремчук Артур Эдуардович – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: okhrem4uartur@gmail.com.

Суркова Лариса Константиновна – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: niipulm@tut.by.

Гуревич Геннадий Львович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: niipulm@tut.by. ORCID: 0000-0001-5683-2322.

Титов Леонид Петрович – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonidtitov@tut.by. ORCID: 0000-0002-4524-3730.

### Information about the authors

Slizen Veronika V. – Ph. D. (Medicine), Associate Professor, Doctoral Candidate. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiatry (157, Dolginovski tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: veronal@tut.by. ORCID: 0000-0003-1846-6100.

Akhremchuk Artur E. – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: okhrem4uartur@gmail.com.

Surkova Larisa K. – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiatry (157, Dolginovski tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niipulm@tut.by.

Gurevich Gennady L. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor, Director. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiatry (157, Dolginovski tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niipulm@tut.by. ORCID: 0000-0001-5683-2322.

Titov Leonid P. – Academician, D. Sc. (Medicine), Professor, Head of Laboratory. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonidtitov@tut.by. ORCID: 0000-0002-4524-3730.

**НАУКИ О ЗЕМЛЕ****EARTH SCIENCES**

УДК 551.1/551/71/551/26

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-242-249>

Поступило в редакцию 19.12.2022

Received 19.12.2022

**Д. А. Доминиковская***Институт геологии Научно-производственного центра по геологии, Минск, Республика Беларусь***ПЕРВИЧНАЯ ПРИРОДА, СОСТАВ И ЭВОЛЮЦИЯ ПРОТОКОРЫ  
РАННЕГО ДОКЕМБРИЯ ДРЕВНИХ ПЛАТФОРМ И ЭНДОГЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ  
ЕЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ***(Представлено академиком Р. Г. Гарецким)*

**Аннотация.** Рассмотрены вопросы образования земной коры в раннем докембрии: первичный состав протоматерии, время его возникновения и эволюция, участие эндогенных и космических сил в его преобразовании в два основных периода формирования протокры – догеологический (4,65–4,0 млрд лет) и геологический (4,0–1,65 млрд лет), состоящий из трех этапов. Описаны породные ассоциации, их минеральный и химический состав и последовательное преобразование в каждый этап, а также результаты петрологических исследований пород в процессе формирования земной коры. Обосновано проявившееся на Земле образование многообразия породных формаций из единого магматического протоматерии. Показано индикаторное значение кали-натровых отношений в породных ассоциациях для определения их формационной принадлежности, выявлены величины роста этих отношений в процессе эволюции и предложено использование их для оценки относительного возраста породных образований.

**Ключевые слова:** протокры Земли, протоматерия, породные ассоциации, мантия, фракционирование, магматическая дифференциация, кали-натровые отношения

**Для цитирования.** Доминиковская, Д. А. Первичная природа, состав и эволюция протокры раннего докембрия древних платформ и эндогенные процессы ее преобразования / Д. А. Доминиковская // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 242–249. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-242-249>

**Diana A. Dominikovskaya***Institute of Geology of the Research and Production Center for Geology, Minsk, Republic of Belarus***PRIMARY NATURE, COMPOSITION, AND EVOLUTION OF THE EARLY PRECAMBRIAN  
PROTOCORE IN ANCIENT PLATFORMS AND ENDOGENOUS PROCESSES  
OF ITS TRANSFORMATION***(Communicated by Academician Radim G. Garetsky)*

**Abstract.** The issues of formation of the earth's crust in the Early Precambrian are considered: the primary composition of a protomatter, the time of its occurrence and evolution, the participation of endogenous and cosmic forces in its transformation in two main periods of formation of the protocrust – pregeological (4.65–4.0 billion years) and geological (4.0–1.65 billion years) consisting of three stages. The rock associations, their mineral and chemical composition, and successive transformation at each stage, as well as the petrological results for rocks during the formation of the earth's crust are described. The formation of a variety of rock formations from a single igneous protomatter, which manifested itself on the entire planet Earth, is substantiated. The indicator value of potassium-sodium ratios in rock associations is shown to determine the formation of their belonging, the magnitudes of growth of these ratios in the process of evolution are revealed, and their use is proposed to assess a relative age of rock formations.

**Keywords:** Earth's proto-crust, protomatter, rock associations, mantle, fractionation, magmatic differentiation, potassium-sodium ratios

**For citation.** Dominikovskaya D. A. Primary nature, composition, and evolution of the early precambrian protocrust in ancient platforms and endogenous processes of its transformation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 242–249 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-242-249>

**Введение.** Земная кора нашей планеты постоянно привлекает внимание многих исследователей различных областей науки. Образование протокоры интересует ученых с различных важнейших аспектов: время возникновения протовещества, его первичный состав и эволюция, участие космических сил и влияние других планет на его формирование, столкновения между ними и Землей происходили многократно.

Цель работы – рассмотрение этих вопросов в свете достижений современной науки в изучении формирования, состава и эволюции протовещества кристаллических фундаментов древних платформ, дополненных исследованиями автора. Эти вопросы относятся к фундаментальным проблемам геологии докембрия и белорусскими исследователями освещались лишь частично на региональном материале Запада Восточно-Европейской платформы (ВЕП). Предпринят анализ сведений о протовеществе кристаллических фундаментов древних платформ всей Земли и обоснована закономерность происхождения многообразия породных образований фундаментов из единого магматического мантийного источника.

**Материалы и методы исследования.** Материалы исследования собирались в течение 30 лет при обработке результатов глубинного геологического картирования кристаллического фундамента масштаба 1 : 200 000 территории Беларуси и прилегающих регионов. После изучения геологического строения Антарктиды по литературным источникам автор детально ознакомилась с геологией Балтийского щита вдоль побережья Баренцева моря (район Линнахамари), а также с керном Кольской сверхглубокой скважины. Изучен кристаллический фундамент центральных районов Украины в обнажениях докембрийских пород. В результате этих исследований обнаружилось поразительное сходство докембрийских породных образований не только приполярных регионов планеты, но и территории Украины и Беларуси, что стимулировало интерес к изучению пород фундаментов древних платформ и протовещества планеты, из которого образовалась земная кора.

Основным методом исследования минерального состава породных образований было петрографическое и петрологическое изучение керна скважин и шлифов пород фундамента, а также использование традиционных физико-химических методов (рентгеноскопический, спектральный и др.). Анализ химического состава большого количества породных ассоциаций позволил автору разработать новый метод использования кали-натровых отношений в определении формационной принадлежности породных образований, их относительного возраста и степени последующих преобразований. Большой опыт исследований строения и состава протовещества позволил автору выделить два структурно-вещественных комплекса – гранулитовый и гранулитогнейсовый, провести их формационный анализ и определить роль каждого в строении протокоры Земли.

**Результаты и их обсуждение.** В истории развития протокоры планеты Земля в раннем докембрии выделены два главных периода – догеологический и геологический.

*Догеологический период (4,65–4,0 млрд лет).* В этот период происходило накопление огромных масс первопланетного протовещества пикрито-толеитовых базальтов, по составу близких к углистым хондритам. По итогам геолого-петрологических исследований в разных регионах планеты сделан вывод о том, что процессы дифференциации накопленного единого протовещества начались рано и завершились примерно около 4,0 млрд лет назад. Такой возраст определен предположительно для древних ультрабазитов Земли [1].

Значительное влияние на состояние протовещества оказывали метеоритные бомбардировки астероидов, активно происходившие в течение 500–600 млн лет. С момента завершения аккреции под действием космических сил на планете возникли высокие температуры до 1000–1200 °С и выше, вызвавшие расплавление и фракционирование протопланетного вещества [2].

Относительно первичного состава протовещества мнения исследователей кардинально расходятся: от осадочного до магматического. Изучение типовых разрезов кристаллических фундаментов платформ показало повсеместное нахождение в них одинаковых по петрологическим и геохимическим свойствам типов пород, что позволяет установить общие закономерности эволюции единого первопланетного вещества на всем пространстве Земли и, что особенно важно, существование единых процессов его преобразования.

*Геологический период (4,0–1,65 млрд лет).* По происходящим событиям геологический период разделяется на катархейско-раннеархейский, архейский и раннепротерозойский этапы.

*Катархейско-раннеархейский этап (4,0–3,15 млрд лет).* Наша планета как геологическое тело стала развиваться очень быстро, в ней активно происходили процессы фракционирования с последующей магматической дифференциацией расплавленного мантийного протовещества пикрито-толеитового состава, близкого хондритам. Этими образованиями, обогащенными магнием в виде гидросиликата магния  $Mg_2SiO_5H_2$  [3] были сложены первичные слои древних докембрийских платформ: Восточно-Европейской, Сибирской, Антарктической, Индийской, Австралийской и др. Сформированный первичный слой мантийного протовещества эндогенными процессами был разделен на нижний и верхний. В нижнем мантийном слое преобладало более высокотемпературное протовещество, отвечающее по составу оливиновым перидотитам и гарцбургитам, положившим начало возникновению мантии и первого мантийного меланократового слоя Земли, распространенного по всей ее поверхности. Продукты этого мантийного гранулитового комплекса сохранились в виде отдельных разнообразных по форме и размерам реликтов ультраосновных пород и небольших массивов, реже в пластинообразных телах, принимаемых за дайки.

В протовеществе верхнего мантийного слоя, близкого по составу толеитовым базальтам, процессы фракционирования и дифференциации привели к образованию мантийных дифференциатов: кристаллических сланцев, эндербитов и плагиогранитов с минимальным количеством калия, отраженного в низких кали-натровых отношениях (0,05–0,1 атм. %). Аналогичные отношения сохранились в породах, подстилающих дно океанов, вода в которых, по предположению ученых [3; 4], имеет эндогенный характер и первый океан образовался рано, что позволяет предполагать широкие масштабы распространения первых мантийных дифференциатов в самом раннем катархейско-раннеархейском этапе образования планеты. По мере истощения мантии и поступления из космоса лейкократовых элементов магматический вулканический расплав обогащался лейкократовыми компонентами, и прежде всего калием, что привело к росту кали-натровых отношений в последующих дифференциатах (0,1–0,25 атм. %). Процессы магматической дифференциации происходили неоднократно и их продукты отлагались по всему пространству растущей Земли. Поэтому на разных участках древних платформ планеты, разделенных тысячами километров, исследователи находят одинакового состава породные ассоциации, характеризующиеся близкими отношениями щелочей, что позволяет судить о едином источнике их образования и, возможно, о времени их возникновения [5]. Первые мантийные дифференциаты вулканического вещества катархейско-раннеархейского этапа сформировали породные ассоциации: кристаллические сланцы–эндербиты–плагиограниты, которые сохранились в виде останцов и скиалитов среди более поздних дифференциатов, обладающих более высокими отношениями щелочей. В итоге постоянного роста и развития протовещества планеты кристаллическими сланцами, эндербитами и плагиогранитами был образован мощный мантийно-коровый гранулитогнейсовый комплекс дифференциатов толеитовых базальтов, слагающих в катархейско-раннеархейский этап древние сегменты земной коры. Процессы дифференциации вулканических масс повторялись неоднократно и образовывали породные ассоциации в различных регионах Земли с кали-натровыми отношениями 0,1–0,25 атм. % и выше. В гранитах магматического генезиса величина кали-натровых отношений может вырасти до 1,5 атм. %, в осадочных породах отношения достигают 10 атм. %.

Дифференциаты гранулитогнейсового комплекса в разные периоды образовывали ряд: кристаллические сланцы–эндербиты–плагиограниты. Этими дифференциатами гранулитогнейсов, в составе которых кристаллические сланцы являлись типичными представителями, был сложен основной объем протокоры древних сегментов планеты, возраст пород которых исчисляется 3,75 млрд лет [6; 7]. Кристаллические сланцы мелко-тонкозернистые, почти черного цвета сложены плагиоклазом основного состава 30–65 %, гиперстеном 0–25, диопсид-авгитом не более 5, кварцем и биотитом 0–5, рудным минералом 0–3 %. Отличительной особенностью кристаллических сланцев являются изометричная форма зерен плагиоклаза и сохранившееся нередко их зональное внутреннее строение. По минеральному составу среди кристаллических сланцев выде-

ляют гиперстеновые, двупироксеновые, амфибол-двупироксеновые и другие, тесно пространственно ассоциирующие с массивами эндербитов и ортоклазовых плагиогранитов, сопоставимыми с гранулитогнейсовыми комплексами всех древних платформ. Среди наиболее высокотемпературных гиперстеновых кристаллических сланцев преобладали самые низкие кали-натровые отношения 0,04–0,07 атм. %. В процессе развития и роста протокрыши кристаллические сланцы образовывали многокилометровые слои в различных регионах древних платформ. Для них характерно повышенное содержание никеля, хрома, закисного железа, количество которого постоянно превышает окисное железо. Кристаллические сланцы на петрохимических диаграммах образуют плотное поле с преобладающими кали-натровыми отношениями 0,1–0,2 атм. %. Анализ химического состава кристаллических сланцев позволяет породы с содержанием кремнезёма 44–49 % относить к продуктам толеитовых базальтов, а содержащие кремнезёма 49–54 % и выше – к андезито-базальтам [8].

Вторым дифференциатом в составе гранулитогнейсового комплекса являются эндербиты, широко распространенные в кристаллическом фундаменте древних платформ. Диагностическими признаками пород служит макроскопическое присутствие в них голубого кварца и более лейкократовый облик по сравнению с кристаллическими сланцами. Породы окрашены в сероватый цвет с буроватым оттенком. Главные породообразующие минералы – плагиоклаз, гиперстен и кварц, количество которых может сильно варьировать. Содержание плагиоклаза (андезит-лабродор) 35–60 %, кварца 10–25, гиперстена 3–10, диопсид-авгита 0–5, калиевого полевого шпата криптопертита 0–5, сине-зеленой роговой обманки до 3, граната и биотита до 5 %.

Эндербиты образуют единые разрезы с кристаллическими сланцами и содержат их многочисленные ксенолиты от миллиметровых до километровых размеров. Между ними существуют постепенные переходы. Формирование эндербитов началось в ранний катархейский этап, продолжалось в архейский и завершилось в раннепротерозойский. Породы слагают огромные до 1000 км<sup>2</sup> мозаичные поля куполов и присутствуют почти во всех фундаментах древних платформ. Л. М. Степанюк получил возраст эндербитов от 3400 до 3800 млн лет [9], Е. В. Бибикова по ядру коричневатого (древнего) циркона из эндербитов определила Sm-Nd-методом возраст пород гайвороновского комплекса Украины 3650 млн лет [10].

Третьим дифференциатом мантийно-корового слоя выступают плагиограниты, находящиеся в тесной связи с эндербитами [11]. Породы образуют небольшие массивы изометричной формы, согласные тела и маломощные секущие прожилки, пронизывающие ранее образованные дифференциаты. Для пород характерно мелкозернистое, аплитовидное и равномернозернистое строение. Плагиограниты сложены плагиоклазом состава от олигоклаза до альбит-олигоклаза 20–60 %, кварцем 25–30, ортоклазом 10–15, гиперстеном, диопсид-авгитом около 5 %.

Анализ химического состава кристаллических сланцев, эндербитов и плагиогранитов показал близость в их составе некоторых компонентов: преобладание закисного железа над окисным, натрия над калием, близкие значения кали-натровых отношений (0,05–0,25; 0,08–0,26; 0,08–0,23 атм. %). Повышенное содержание Cr, Ni, Co, FeO. Дефицит кислорода подтверждает образование этих породных ассоциаций в глубинных горизонтах Земли из единого магматического источника. Наличие реликтов кристаллических сланцев всевозможных размеров и форм в эндербитах, эндербитов в плагиогранитах также подтверждает близость во времени их образования.

Использование разработанных автором кали-натровых отношений позволило на анализе большого количества материала различных регионов древних платформ от Восточно-Европейской до Сибирской установить и достоверно диагностировать формационную принадлежность и идентичность их породных ассоциаций и выделить ряд диагностических признаков, однозначных для всех регионов. Величины кали-натровых отношений кристаллических сланцев и эндербитов раннего этапа формирования практически идентичны 0,1–0,25 атм. %. Постоянное преобладание в породах закисного железа над окисным подтверждает их формирование в условиях дефицита кислорода и связь с мантией. Все дифференциаты, сформировавшие земную протокрышу на планете, – катархейско-раннеархейского этапа развития – кристаллизовались в спокойной тектонической обстановке при высоких температурах и давлениях [6].

*Архейский этап (3,15–2,50 млрд лет)* стал началом активного преобразования всей образовавшейся протокры гранулитового и гранулито-гнейсового комплексов на планете Земля. Этот единый для нее этап отражает завершение катархейско-раннеархейского формирования протокры и возникновение неоднородности ее мантийно-корового слоя, что привело к образованию многообразия. До появления зон тектономагматической активизации породы гранулитового и гранулито-гнейсового комплексов катархейского этапа почти полностью сохраняли первичные парагенезисы и минералы – плагиоклаз основного состава, гиперстен, диопсид-авгит и лишь в редких случаях в них происходило незначительное замещение пироксенов красновато-бурым биотитом.

К середине архея процессам преобразования подверглись все ранее образованные породы, оказавшиеся в условиях более низких температур и давлений. На значительных пространствах древних платформ проявились мощные процессы преобразования кристаллических сланцев в амфиболсодержащие, диопсид-авгитовые, амфиболовые и двупироксеновые, амфибол-плагиоклазовые и другие плагиогнейсы и амфиболиты. В эндебитах и происходили преимущественно процессы структурных преобразований: рассланцевания, кристаллизации и собирательной перекристаллизации. В породах происходило постепенное исчезновение пироксенов и замещение их зеленой роговой обманкой гастингситового ряда и красновато-бурым биотитом. Процессы преобразования в архейском этапе проходили повсеместно и долго в гранулитовом и гранулито-гнейсовом комплексах на всех древних платформах. Всевозможные процессы всех происходящих преобразований кристаллических сланцев в различные по минеральному составу плагиогнейсы подробно рассмотрены в [11].

Последовавшие усиления активных структурно-вещественных преобразований состава протокры, стимулированные воздействием на планету космических и эндогенных сил, привели к появлению в недрах планеты зон тектономагматической активизации и возникновению в них расплавленных толеит-андезитовых базальтов. Внедрение базальтов и их кристаллизация происходили на разных уровнях зон и сопровождалась поднятием магматических масс, образовавших различных размеров и состава диапиры и массивы эндебитов сложного состава, ставших ядрами консолидации земной коры. Диапиры образовывали преимущественно купольные структуры проявленными на поверхности массивами изометричной формы. Для эндебитов зон характерны калий-натровые отношения 0,3–0,4 атм. % и выше.

В этот период в кристаллическом фундаменте Запада ВЕП возникла обширная Центрально-Белорусская тектоническая зона северо-восточного простирания, ставшая в последующие этапы протерозойского и палеозойского развития Земли, по представлению авторов [12], зоной сближения в единый блок Фенноскандии, Сарматии и, возможно, Волго-Уралии. К середине архея в этой зоне активизировались процессы диапиризма, сопровождавшиеся внедрением крупных массивов эндебитов. Вмещающими породами служили мелкозернистые образования перетокской толщи. Среди эндебитовых массивов в центре зоны располагался крупный (1500 км<sup>2</sup>) Бобовнянский массив концентрически-зонального внутреннего строения с незначительными по объему округлой формы образованиями чарнокитов метасоматического происхождения. Породы, слагающие Бобовнянский массив, преимущественно крупнозернистые, порфирировидные, подвергшиеся плагиобластезу и метасоматическим процессам изменения. В рапакивиподобных частях массива калий резко преобладает над натрием. Породы порфирировидной или овоидной текстуры часто имеют вид очковых гнейсов, с мелкозернистым полевошпатовым или кварц-полевошпатовым агрегатом вокруг крупных образований.

В эндебитах этой тектонической зоны, образовавшихся в архее, не испытавших процессов калиевого метасоматоза, присутствует только криптопертитовый калиевый полевошпат и микроклин в пленочных образованиях, отмечается также обогащенность массива кальцием, стронцием и железом. Поэтому отнесение пород к гранитам некоторыми исследователями несколько некорректно.

В проявившихся к концу архейского этапа зонах тектономагматической активизации в кристаллических фундаментах почти всех древних платформ наблюдается появление в гнейсах новых пороодообразующих минералов: граната, кордиерита, силлиманита, андалузита, реже графита.

та. Состав гранат-биотитовых плагиогнейсов: плагиоклаз № 17-45 20–40 %, кварц 15–30, биотит 15–20, гранат 0–10, силлиманит-фибролит 0–0,5, калиевый полевой шпат и кордиерит 0–10 %, в незначительном количестве может присутствовать мусковит. Гиперстен, если присутствует в них, образует крупные зерна, переполненные микровключениями темноцветных и рудных минералов. Гранат, кордиерит и силлиманит выделяются также более крупными размерами зерен на фоне мелкоагрегатных масс плагиоклаза и кварца.

Протопородами рассмотренных выше гнейсов являлись кристаллические сланцы, эндрбиты и плагиограниты раннеархейского возраста, что подтверждается высоким содержанием в гнейсах железа и преобладанием закисной формы железа над окисной, а также низким содержанием калия в неремобилизованных породах. Особое внимание украинских геологов в течение более 100 лет привлекают «бердичевские граниты», уникальность которых в их составе: по содержанию главных породообразующих минералов – кварца, плагиоклаза и гиперстена – они близки к плагиогранитам, но содержат нехарактерные для гранитов гранат, кордиерит, силлиманит-фибролит, андалузит и графит. Эти образования занимают огромные пространства и объемы [1]. Бердичевские граниты, как и все другие породы в этом регионе, катаклазированы и милонитизированы, что подтверждается содержанием в них многочисленных угловатой формы ксенолитов мелкозернистых темных пород, между которыми и субстратом наблюдаются постепенные переходы. По химическому составу породы субстрата и ксенолитов одинаковые в каждом конкретном месте. Кали-натровые отношения в бердичевских гранитах около 0,3–0,35 атм. %. Температура образования гранат-кордиерит-биотитовых гнейсов определена 760–800 °С, давление в 800–1000 МПа [11].

Процессы активного преобразования огромных масс кристаллических сланцев, эндрбитов и плагиогранитов начались в середине архея. Они связаны с гранитизацией (чарнокитизацией), которая имела локальный характер и происходила в основном без летучих компонентов и водных растворов при незначительном участии щелочей. К этому периоду поменялось направление зон тектономагматической активизации с северо-восточного на субширотное.

*Раннепротерозойский этап (2,50–1,65 млрд лет).* С конца архейского этапа на Земле значительно усилились тектономагматические движения в кристаллических фундаментах всех древних платформ, сопровождавшиеся невиданным в истории Земли поступлением в ее недра растворов, насыщенных калием, что способствовало развитию мощных преобразовательных процессов протерозойской гранитизации и гранитообразования. Наступившие грандиозные события в раннем протерозое в развитии нашей планеты вызвали появление в большом объеме калия, метасоматоз и магмаобразование в возникших зонах, что привело к изменению структурного плана поверхности Земли и способствовало континентализации ее верхнего слоя. Этот процесс был долгим и проявленным на всех древних платформах с различной степенью интенсивности, зависящей от тектонического состояния региона и глубины проявления деструкций.

В раннепротерозойский этап в Осницко-Микашевичской зоне глубокого заложения ранее образованные дифференциаты – кристаллические сланцы, эндрбиты и плагиограниты под действием протерозойских растворов и пониженных температур были превращены в роговообманковые диориты, гранодиориты и плагиограниты. Все разновидности этих пород сохранили между собой постепенные переходы и значительное распространение. Диориты темно-серого, до черного, цвета с зеленоватым оттенком, тонко-среднезернистые, массивные или рассланцованные. В их составе присутствует основной плагиоклаз 45–50 %, обыкновенная и голубовато-зеленая роговая обманка 25–30, кварц 5–7, калиевый полевой шпат 1–3, биотит темно-бурого цвета 0–3 %.

Рассмотренные породные ассоциации прошли сложный путь преобразований, что проявлено в них присутствием всех породообразующих минералов в нескольких генерациях, коррозионными отношениями между плагиоклазом и темноцветными минералами. Во всех разновидностях пород от диорита до гранита наблюдаются реакционные взаимоотношения калиевого полевого шпата с плагиоклазом (калиевый метасоматоз).

Ремобилизованные в раннепротерозойском этапе эндрбиты, гранодиориты, граниты сложены плагиоклазом, кварцем, роговой обманкой и биотитом. В диоритах отмечены многочисленные темные реликтовые пятна тонкозернистой роговообманковой породы – ремобилизованных

кристаллических сланцев. Для диоритов (диорит-эндербитов) характерно присутствие выделений зерен голубого кварца округлой формы, который сохранился в породах даже при их активной калишпатизации. Местами наблюдается частичный переход пород в чарнокиты, при этом они приобретают серовато-розовый оттенок, становятся крупно- и среднезернистыми, массивными с характерными для них многочисленными реликтами пород более темного цвета. В диоритах прослеживается постепенный переход к более кислым гранодиоритам и плагиогранитам, значительно меняются кали-натровые отношения от 0,23 атм. % в диоритах до 0,47 в гранодиоритах калишпатизированных и в плагиогранитах 0,35 атм. %. Продолжаются структурные преобразования и изменяется их первичный минеральный состав: появляется зелено-бурый биотит вместо красновато-бурого, вместо гиперстена и основного плагиоклаза может образоваться гранат – типичный минерал мигматизированных эндербитов. Процессы преобразований раннепротерозойской гранитизации проявлялись в породах в виде окварцевания, калишпатизации, хлоритизации и других вторичных изменений.

### Выводы

1. Проведенные исследования позволяют утверждать, что все единое протовещество планеты возникло из расплавленных огромных по объему вулканоплутонических высокотемпературных масс, сформированных в условиях, близких гранулитовой фации метаморфизма.

2. По химическому составу протовещество планеты Земля соответствовало пикрито-толеитовым базальтам, из которых в процессе фракционирования образовалась мантия, первый меланократовый мантийный слой протокоры и два комплекса – гранулитовый и гранулитогнейсовый.

3. Процессы дифференциации протовещества начались около 4 млрд лет, продолжались неоднократно и первые мантийные дифференциаты – кристаллические сланцы, эндербиты и плагиограниты – имели минимальное содержание калия и низкие кали-натровые отношения, близкие породам дна океанов.

4. По мере истощения мантии и поступления из космоса лейкократовых компонентов, количество калия медленно возрастало и сопровождалось ростом кали-натровых отношений в формирующихся породах гранулитогнейсовых комплексов, что достаточно условно может отражать время формирования породных дифференциатов.

5. Применение в исследовании разработанных автором кали-натровых отношений в породных ассоциациях наглядно отражает смену их химического состава в процессе формирования и степень преобразования. Величины кали-натровых отношений сменялись от 0,05 до 0,1 атм. % в мантийных дифференциатах и до 0,3–0,4 атм. % и выше в диапирах эндербитов тектономагматических зон архея.

6. Многообразие породных образований, наблюдаемых в кристаллических фундаментах всех древних платформ, возникло в конце раннего архея в результате проявления архейской гранитизации (чарнокитизации). До этого процесса ранее образованные породы формировались в спокойной тектонической обстановке в условиях отсутствия летучих, водных и щелочных растворов.

7. Изучение преобразованных мантийно-коровых дифференциатов: кристаллических сланцев, эндербитов и плагиогранитов, сохранившихся до раннего протерозоя в виде роговообманковых диоритов, гранодиоритов и плагиогранитов, содержащих голубой кварц, позволяет предполагать их раннеархейский возраст. Многократные процессы их структурных и минеральных преобразований однозначно подтверждаются существованием в породах минералов в нескольких генерациях и коррозионными отношениями между лейкократовыми и меланократовыми минералами.

8. Образование многообразия породных формирований из единого протовещества является одним из законов природных явлений.

### Список использованных источников

1. Щербаков, И. Б. Петрология Украинского щита / И. Б. Щербаков. – Львов, 2005. – 366 с.
2. Яковлев, Б. Г. Эволюция гранулитового метаморфизма гипербазит-базальтовых комплексов раннего докембрия: автореф. дис. ... д-ра геол.-минер. наук / Б. Г. Яковлев. – Киев, 1992. – 48 с.

3. Оганов, А. Земля. Прятки под мантией / Артём Оганов // Наука и жизнь. – 2022. – № 4. – С. 2–8.
4. Говоров, И. Н. Происхождение океанических базальтов по петрографическим данным / И. Н. Говоров // Магматические и метаморфические породы дна океана и их генезис. – М., 1983. – С. 24–36.
5. Доминиковская, Д. А. Эволюция земной коры раннего докембрия / Д. А. Доминиковская, Г. Г. Доминиковский. – Минск, 1991. – 215 с.
6. Равич, М. Г. Кристаллический фундамент Антарктической платформы / М. Г. Равич, Е. Н. Каменев. – Л., 1972. – 658 с.
7. Артёмченко, Г. Ф. 3400 млн лет – минимальный возраст тоналитов Васильковского участка Орехово-Павлоградской зоны / Г. Ф. Артёмченко, В. В. Демидюк, Е. Н. Бартницкий // Геол. журн. – 2001. – № 2. – С. 88–95.
8. Доминиковская, Д. А. О первичной природе и формационной принадлежности кристаллических сланцев раннего докембрия Белоруссии и кали-натровых отношениях / Д. А. Доминиковская, А. С. Махнач // Докл АН БССР. – 1987. – Т. 31, № 8. – С. 736–739.
9. Степанюк, Л. М. Геохронология докембрия Западной части Украинского щита (архей – палеопротерозой): автореф. дис. ... д-ра геол.-минер. наук / Л. М. Степанюк. – Киев, 2000. – 34 с.
10. Эволюция во времени и металлогеническая специализация раннедокембрийской коры Украинского щита / Н. П. Щербак [и др.] // Минерал. журн. – 2003. – Т. 25, № 4. – С. 82–92.
11. Доминиковский, Г. Г. Петрология докембрия Белоруссии / Г. Г. Доминиковский, Д. А. Доминиковская. – Минск, 1978. – 195 с.
12. Глубинное строение Центрально-Белорусской шовной зоны по геофизическим данным / Р. Г. Гарецкий [и др.] // Литасфера. – 2006. – № 1 (24). – С. 101–112.

### References

1. Shherbakov I. B. *Petrology of the Ukrainian shield*. Lvov, 2005. 366 p. (in Russian).
2. Yakovlev V. G. *Evolution of granulite metamorphism in early Precambrian hyperbasic-basaltic complexes*. Kyiv, 1992. 48 p. (in Russian).
3. Oganov Artyom. Earth. Hide and seek under the mantle. *Nauka i zhizn'* [Science and Life], 2022, no. 4, pp. 2–8 (in Russian).
4. Govorov I. N. Origin of oceanic basalts according to petrographic data. *Magmaticheskiye i metamorficheskiye porody okeanicheskogo dna i ikh genezis* [Igneous and metamorphic rocks of the ocean floor and their genesis]. Moscow, 1983, pp. 24–36 (in Russian).
5. Dominikovskaya D. A., Dominikovskij G. G. *The evolution of the earth's crust of the early Precambrian*. Minsk, 1991. 215 p. (in Russian).
6. Ravich M. G., Kamenev E. N. *Crystalline basement of the Antarctic Platform*. Leningrad, 1972. 658 p. (in Russian).
7. Artyomenko G. F., Demidyuk V. V., Bortnitsky E. N. 3400 Ma is the minimum age of the tonalites of the Vasilkovsky section of the Orekhovo-Pavlograd zone. *Geologicheskii zhurnal = Geological Journal*, 2002, no. 2, pp. 88–95 (in Russian).
8. Dominikovskaya D. A., Makhnach A. S. On the primary nature and formation affiliation of crystalline schists of the Early Precambrian of Belarus and potassium-sodium relations. *Doklady Akademii nauk BSSR = Report of the Academy of Sciences of the BSSR*, 1987, vol. 31, no. 8, pp. 736–739 (in Russian).
9. Stepanyuk L. M. *Geochronology of the Precambrian of the Western part of the Ukrainian shield (Archaean – Paleoproterozoic)*. Kyiv, 2000. 34 p. (in Russian).
10. Shherbak N. P., Bibikova E. V., Skobelev V. M., Shherbak D. N. Time evolution and metallogenic specialization of the Early Precambrian crust of the Ukrainian Shield. *Mineralogicheskii zhurnal = Mineralogical Journal*, 2003, vol. 25, no. 4, pp. 82–92 (in Russian).
11. Dominikovskij G. G., Dominikovskaya D. A. *Petrology of the Precambrian of Belarus*. Minsk, 1978. 195 p. (in Russian).
12. Garetsky R. G., Karataev G. I., Golobokov S. V., Dankevich I. V. Depth structure of the Central-Belarusian suture zone from geophysical data. *Litasfera = Lithosphere*, 2006, no. 1(24), pp. 101–112 (in Russian).

### Информация об авторе

Доминиковская Диана Алексеевна – канд. геол.-минер. наук, доцент. Институт геологии Научно-производственного центра по геологии (ул. Купревича, 7, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dianadomini@gmail.com.

### Information about the author

Dominikovskaya Diana A. – Ph. D. (Geology), Associate Professor. Institute of Geology of the Research and Production Center for Geology (7, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dianadomini@gmail.com.

**ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ****TECHNICAL SCIENCES**

УДК 539.216,661.65,615.466

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-250-256>

Поступило в редакцию 10.05.2023

Received 10.05.2023

**М. И. Демиденко<sup>1</sup>, Д. В. Адамчук<sup>1</sup>, А. П. Русанов<sup>2</sup>, С. В. Сироткин<sup>2</sup>,  
Л. В. Иванько<sup>2</sup>, С. А. Максименко<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Институт ядерных проблем Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Завод «Электронмаш», Минск, Республика Беларусь*

**ЛЕГИРОВАННЫЙ БОРОМ ПИРОЛИТИЧЕСКИЙ УГЛЕРОД: МАТЕРИАЛ  
ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО И ИНЖЕНЕРНО-ТЕХНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

*(Представлено академиком О. Г. Пенязьковым)*

**Аннотация.** Представлено описание технологической установки и методики синтеза пиролитического углерода, легированного бором. Синтез такого материала основан на методе химического осаждения из газовой фазы (CVD). Синтез протекает на внутренней поверхности косвенно нагреваемой до 1450–1570 °С цилиндрической графитовой сборки, через которую пропускаются контролируемые газовые потоки азота, трихлорида бора и углеродсодержащих газов при низком давлении. Реализованная технология на базе разработанной установки позволяет синтезировать пластинки легированного бором пиролитического углерода, отмеченного совокупностью характеристик химической инертности и биосовместимости с высокими значениями твердости, упругости и длительности использования. Представлено исследование морфологии и состава материала, проведенное методами сканирующей электронной микроскопии и рамановской спектроскопии. Материал находит свое применение в качестве створок эндопротезов клапанов сердца на ОАО «Завод «Электронмаш».

**Ключевые слова:** пиролитический углерод, карбид бора, химическое осаждение из газовой фазы, высокотемпературный пиролиз, эндопротез клапана сердца

**Для цитирования.** Легированный бором пиролитический углерод: материал для биомедицинского и инженерно-технического применения / М. И. Демиденко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 250–256. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-250-256>

**Marina I. Demidenko<sup>1</sup>, Dmitry V. Adamchuk<sup>1</sup>, Andrey P. Rusanov<sup>2</sup>, Sergey V. Sirotkin<sup>2</sup>,  
Leonid V. Ivanko<sup>2</sup>, Sergey A. Maksimenko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Institute for Nuclear Problems of the Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Electronmash-plant, Minsk, Republic of Belarus*

**BORON-ENRICHED PYROLITIC CARBON: MATERIAL  
FOR BIOMEDICAL AND ENGINEERING APPLICATIONS**

*(Communicated by Academician Oleg G. Penyazkov)*

**Abstract.** The article describes a technological set-up and the synthesis methodology of boron-enriched pyrolytic carbon (B-PyC). The chemical vapor deposition (CVD) approach lies in the basis of the methodology. The synthesis occurs on the inner surface of a cylindrical graphite assembly indirectly heated to the temperatures of 1450–1570 °C. Controlled low-density flows of nitrogen, boron trichloride and carbonaceous gases react in the assembly, producing a B-PyC film deposited on the graphite substrate. The set-up has been designed to provide fabrication of B-PyC plates possessing features required for heart valve endoprosthesis: chemical inertia and biocompatibility combined with high hardness, high elasticity, and long operating life. The morphology and chemical composition of the material have been studied by electron scanning microscopy and Raman spectroscopy. The material is used at the “Electronmash Plant” for fabrication of heart valve endoprosthesis leaflets.

**Keywords:** pyrolytic carbon, boron carbide, chemical vapor deposition, high temperature pyrolysis, heart valve endoprosthesis

**For citation.** Demidenko M. I., Adamchuk D. V., Rusanov A. P., Sirotkin S. V., Ivanko L. V., Maksimenko S. A. Boron-enriched pyrolytic carbon: material for biomedical and engineering applications. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 250–256 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-250-256>

**Введение.** На сегодняшний день семейство углеродных материалов отличается огромным разнообразием форм: алмаз, графит, пиролитический углерод, углеродные волокна, сажа, различные наноразмерные структуры, такие как фуллерены, графен, углеродные нанотрубки, угле-

род луковичной структуры и т. п. Это разнообразие определяет и богатство инженерно-технических применений в различных отраслях, начиная от традиционной электротехники и далее в современных системах беспроводной связи, биомедицины и индустрии новых технологических материалов. Достаточно полный список работ по многим технологическим применениям углеродных структур представлен в [1]. В частности, в медицинских технологиях актуальной проблемой является разработка материалов с сочетанием таких характеристик, как высокая твердость, износостойкость и биосовместимость, химическая инертность. Конечно, этим характеристикам удовлетворяет алмаз, однако технически нет возможности синтезировать данный материал в необходимых количествах и формах. Поэтому возникает техническая задача синтеза углеродного материала с характеристиками, близкими к характеристикам алмаза, но при этом являющегося приемлемым по стоимости и допускающего до определенной степени формообразование и механическую обработку. Одним из важнейших направлений применения таких материалов является хирургия [2; 3] и, в частности, изготовление искусственных клапанов сердца [2; 4].

Графит не удовлетворяет указанным выше механическим характеристикам в силу слабой связи между слоями графена в его кристаллической структуре. Однако при определенных условиях межслоевые связи в графите могут быть существенно усилены путем его легирования атомами других элементов, что может изменить распределение электронов в графитовых плоскостях и потенциально улучшить механические характеристики и стойкость к высокотемпературному окислению.

Одним из перспективных химических элементов с этой точки зрения является бор, который соседствует с углеродом в периодической таблице Менделеева и, следовательно, обладает сходным размером атома. По этой причине замена атома углерода на атом бора не приводит к возникновению критических напряжений в кристаллической структуре материала. Теоретическое обоснование такого варианта решения задачи представлено в [5], где приведены расчетные значения механических характеристик различных бор-углеродных соединений.

Углеродные материалы, легированные бором  $B_xC_{1-x}$  ( $0 < x < 0,25$ ) изучались теоретически, методом численного моделирования электронной структуры [5–7] и экспериментально [8–11]. Было показано, что данный материал обладает высокими механическими характеристиками даже в окислительных средах в условиях высоких температур и является перспективным для использования в медицине, авиакосмической индустрии. Избыточная концентрация бора с большой вероятностью приводит к нарушению гексагональной решетки графита и появлению в структуре материала дефектов [2], т. е. к образованию монокристаллических включений карбида бора ( $B_4C$ ) [3].

Соединения  $B_xC_{1-x}$  с высокими концентрациями бора термодинамически метастабильны и могут быть получены только путем неравновесного химического синтеза, таким как метод химического осаждения из газовой фазы (Chemical Vapour Deposition, CVD) [9] и различные его модификации, например, пиролиз при температуре  $>2000$  °C для получения графитоподобного материала  $B_xC_{1-x}$  [11; 12]. Методами CVD были синтезированы материалы с концентрациями бора  $B_xC_{1-x}$  в диапазоне 15–19 ат. % [9; 13]. В [14] показано, что материалы  $B_xC_{1-x}$  с высоким содержанием бора (более 20 ат. %) обладают сверхвысокой твердостью и хрупкостью, что не позволяет использовать данный материал в механическом эндопротезе клапана сердца.

Задача разработки в Республике Беларусь технологии синтеза материала для изготовления створок эндопротезов клапанов сердца была поставлена перед НИИ ядерных проблем БГУ руководством ОАО «Завод «Электронмаш», входящего в состав научно-производственного холдинга точного машиностроения «Планар». На заводе имеется значительный опыт производства таких клапанов из импортируемого сырья. Именно возникший в последние годы дефицит поставок исходного материала на предприятие послужил мотивацией для организации работ. Экспериментальная лабораторная установка синтеза и технология разрабатывались в НИИ ЯП БГУ в тесной кооперации с указанным заводом. Для изготовления ряда узлов установки привлекались специалисты ООО «Вактайм» (г. Сморгонь).

**Материалы и методы исследования.** В представленной на рис. 1 установке синтез проводился на внутренней поверхности нагреваемой цилиндрической осесимметричной графитовой сборки.

Для обеспечения однородности синтезируемого материала ось графитовой сборки ориентирована вертикально. В этом случае образующиеся в горячем потоке газов агломераты падают на дно фильтра грубой очистки. В качестве углеродсодержащего газа использовались метан и пропан-бутановая смесь. Добавление последней составляющей приводит к существенному ускорению роста материала из-за наличия большего количества атомов углерода в заданном объеме. Источником бора является газообразный трихлорид бора.

Образующиеся в ходе реакции пары соляной кислоты утилизируются в адсорбере. Принципиальная схема процесса представлена на рис. 2.

Состав и структура бор-углеродного композиционного материала контролируются скоростью потока газа, типом участвующих в синтезе углеводородов, температурой и площадью поверхности подложки. Контроль скорости потока газа реализован регуляторами расхода газа, а также дроссельным клапаном на входе вакуумного насоса, которым можно снизить пропускную способность вакуумной магистрали и уменьшить скорость откачки газообразных продуктов реакции. Следует отметить, что в процессе синтеза образуется большое количество водорода, препятствующего осаждению из газовой фазы слоев пиролитического углерода с высокой степенью упорядоченности. Для откачки водорода предусмотрена возможность напуска азота в линию откачки.

В ходе работ было экспериментально установлено, что температура в реакторе является фактором, во многом определяющим механические характеристики синтезируемого материала. По этой причине контроль температуры синтеза и поддержание ее стабильности явились первоочередной задачей в процессе отработки технологии. В синтезированном материале концентрация бора поддерживалась на уровне 15–19 ат. %. Давление в реакторе устанавливалось в диапазоне 900–1300 Па (низкое абсолютное давление углеродсодержащего газа применяется для



Рис. 1. Внешний вид экспериментальной установки CVD синтеза обогащенного бором пиролитического углерода (НИИ ЯП БГУ)

Fig. 1. Appearance of the CVD set-up for boron-enriched pyrolytic carbon synthesis (Institute of Nuclear Problems of Belarusian University)

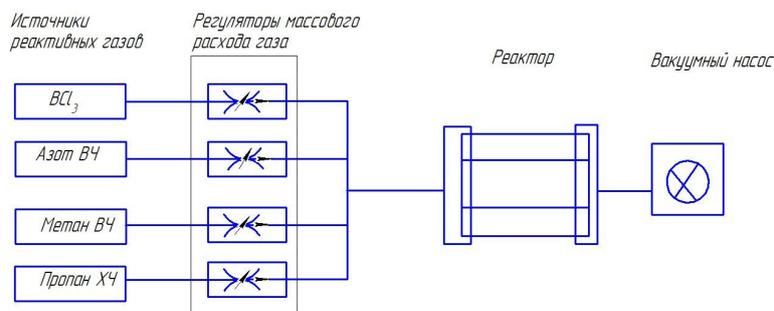


Рис. 2. Схема процесса синтеза пиролитического углерода, легированного бором

Fig. 2. Boron-enriched pyrolytic carbon synthesis scheme

избежания избыточного сажеобразования). Нами установлено, что при давлении менее 500 Па значительно снижается скорость роста материала, в то время как давление выше 2 кПа приводит к существенному снижению твердости. Отметим, что в отличие от температуры и состава газового потока, изменение давления в реакторе в указанном выше диапазоне не оказывает существенного влияния на структуру материала.

При температуре синтеза в диапазоне от 1420 до 1520 °C наблюдается формирование однородного материала с микротвердостью в диапазоне 60–150 HV. На рис. 3 представлена одна из шести пластинок материала (*a*), получаемого в ходе одного цикла синтеза, и створка эндопротеза клапана сердца (*b*).

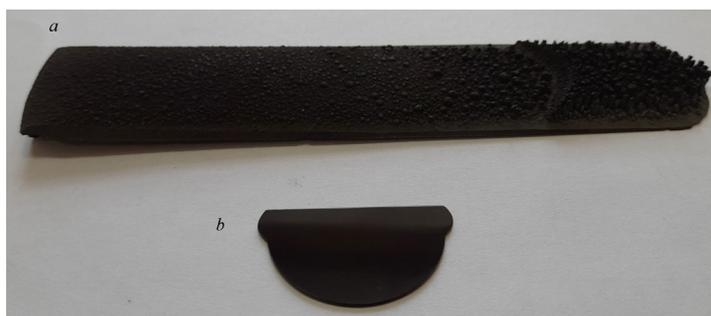


Рис. 3. *a* – пластинка легированного бором пиролитического углерода, размер пластины 130 × 25 × 2 мм. Температура синтеза  $T = 1570$  °C; *b* – створка клапана сердца, изготовленного из легированного бором пиролитического углерода

Fig. 3. *a* – 130 × 25 × 2 mm boron-enriched pyrolytic carbon plate. Synthesis temperature  $T = 1570$  °C; *b* – leaflet of heart valve fabricated from boron-enriched pyrolytic carbon

Исследование механических свойств синтезированного материала проводилось на микротвердометре HV-1000 при нагрузке 100 г и времени выдержки 1 мин. Нами установлено, что при температуре синтеза 1420 °C микротвердость материала не превышает величину 60–85 HV. С ростом температуры и времени синтеза твердость увеличивается до величины 130–150 HV, что удовлетворяет требованиям, предъявляемым к материалам для изготовления створок искусственного клапана сердца. Отметим, что синтезируемый материал полностью повторяет форму подложки. Это свидетельствует о поверхностном росте покрытия и, следовательно, об отсутствии диффузии ионов в объеме и на поверхности синтезируемого материала в процессе осаждения.

Из анализа микрофотографий образцов (рис. 4), полученных на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ, SEMS-4800 Hitachi), можно сделать вывод, что в результате CVD синтеза при низких температурах в микроструктуре материала наблюдается формирование крупных графитовых листов, которые снижают общую твердость материала. Влияние этого эффекта снижается с ростом температуры синтеза.

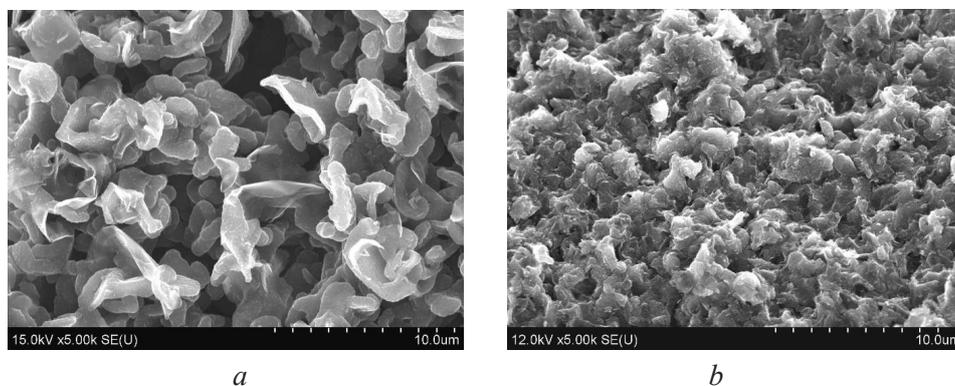


Рис. 4. Микроструктура легированного бором пиролитического углеродного материала, синтезированного при температуре 1420 °C (*a*) и 1570 °C (*b*). Изображения получены на СЭМ SEM S-4800 Hitachi

Fig. 4. Microstructure of boron-enriched pyrolytic carbon material synthesized at the temperatures of 1420°C (*a*) and 1570 °C (*b*). Pictures were obtained on SEM S-4800 Hitachi

Для увеличения твердости за счет обеспечения возможности поверхностной диффузии бора и его встраивания в решетку в процессе роста материала температура синтеза была повышена до 1570 °С. При этом наблюдается существенное изменение механизма роста покрытия. Поверхность синтезируемого материала покрыта сферическими выступами, что свидетельствует об островковом росте материала на поверхности графитовой подложки. Отдельные островки сливаются в процессе роста и формируют плотный материал. В результате синтезируется пленка с однородной структурой и значениями твердости 105–125 HV. Изображение микроструктуры при высокой температуре представлено на рис. 4, *b*.

Исследование полученных образцов пиролитического углерода проводилось методом спектроскопии комбинационного рассеяния света (КРС), которая является эффективным инструментом изучения фазового состава и структуры углеродных материалов, как объемных, так и двумерных [15; 16]. Спектры КРС были записаны с помощью конфокального микроскопа XploRA™ (HORIBA, Франция) с применением лазера с длиной волны возбуждения 532 нм. Все спектры были получены с использованием 100× фокусирующего объектива с  $NA = 0,95$  и дифракционной решетки со спектральным разрешением  $\sim 7 \text{ см}^{-1}$ . Для уменьшения эффектов, связанных с нагревом образца, время накопления на каждую точку составляло  $\sim 30 \text{ с}$ .

На рис. 5 представлены спектры КРС образцов пиролитического углерода с низкой (60 HV) и оптимальной для применения в кардиохирургии (120 HV) твердостью. Как известно, в спектрах КРС графеноподобных материалов наиболее интенсивными являются три линии, соответствующие D-, G- и 2D-модам. Линия на частоте  $\sim 1585 \text{ см}^{-1}$  (G-мода) обусловлена колебаниями атомов углерода, связанных  $sp^2$ -гибридизацией в плоскости решетки. В свою очередь, D-мода с частотой  $\sim 1345 \text{ см}^{-1}$  возникает из-за нарушения симметрии идеальной кристаллической структуры графита. Спектр комбинационного рассеяния пиролитического углерода включает в себя также обертона (2D и D+G линии) рассмотренных выше мод. Глубокий провал между D- и G-модами, наблюдаемый на рис. 5, а также наличие 2D-моды ( $\sim 2688 \text{ см}^{-1}$ ) на этом рисунке указывают на высокую кристалличность полученной структуры [15; 16]. Известно, что для графенового монослоя 2D-мода представляет собой одиночный, хорошо описываемый лоренцевым профилем пик на частоте  $\sim 2680 \text{ см}^{-1}$ . Увеличение числа слоев приводит к частотному сдвигу 2D-моды (наблюдаемому на рис. 5) с одновременным ее уширением и уменьшением интенсивности по сравнению с соответствующей модой графенового монослоя. Ширина линии на полувысоте для полученного образца с микротвердостью 60 HV составляет  $200 \text{ см}^{-1}$ , а для образца 120 HV –  $168 \text{ см}^{-1}$ . Таким образом, можно утверждать, что микроструктура полученного материала формируется многослойными графеновыми хлопьями, легированными бором и с малой долей аморфного углерода.

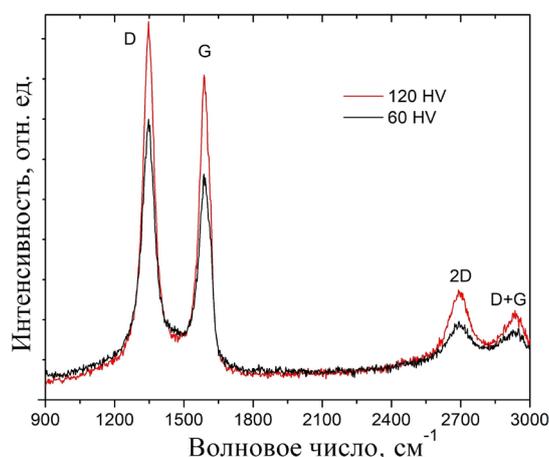


Рис. 5. Спектры комбинационного рассеяния полученных структур низкой (60 HV) и оптимальной (120 HV) твердости

Fig. 5. Combined scattering spectra of the obtained structures of low (60 HV) and optimal (120 HV) hardness

**Заклучение.** В нашей работе описан способ синтеза обогащенного бором углеродного материала с использованием метода химического осаждения из газовой фазы смеси трихлорид бора/метан/пропан/азот. Технология разработана в НИИ ЯП БГУ при активном участии специалистов ОАО «Завод «Электронмаш». Материал характеризуется повышенными значениями механических характеристик и их стабильностью в широком интервале температур, химической и биологической инертностью. В зависимости от условий синтеза твердость материала может достигать значений 100–135 НВ, что делает его пригодным для изготовления искусственных клапанов сердца. Изготовленные из полученного материала экспериментальные эндопротезы клапанов сердца прошли ресурсные испытания в лаборатории на заводе «Электронмаш» по утвержденным методикам. Внешний вид створки эндопротеза представлен на рис. 3, *b*. В Институте физиологии НАН Беларуси материал прошел испытания на биосовместимость. Основные характеристики материала: плотность – 1800–2100 кг/м<sup>3</sup>; микротвердость – 75–135 кгс/мм<sup>2</sup>; модуль упругости – 20–25 ГПа; прочность на изгиб – 250–450 МПа; содержание легирующего материала (бора) – 1–19 ат. %; электрические свойства близки к свойствам графита.

Можно предположить, что данный материал обладает высоким потенциалом для других биомедицинских применений. Отметим также, что высокие механические характеристики и химическая инертность материала, стабильность характеристик в широком диапазоне температур, вплоть до 3000 °С в бескислородной атмосфере и до 800 °С в присутствии кислорода, открывает перспективы использования этого материала в металлургии цветных металлов, авиакосмической инженерии, химически агрессивных технологиях и т. п. [2; 11].

#### Список использованных источников

1. Актуальные задачи использования композиционных и гибридных материалов на основе различных форм углерода в электромагнитных и биомедицинских приложениях / С. А. Максименко [и др.] // Журн. БГУ. Физика. – 2023. – № 1. – С. 55–69. <https://doi.org/10.33581/2520-2243-2023-1-55-69>
2. Золкин, П. И. Углеродные материалы в медицине / П. И. Золкин, В. С. Островский. – М., 2014. – 140 с.
3. Current use of carbon-based materials for biomedical applications – a prospective and review / G. Rajakumar [et al.] // Processes. – 2020. – Vol. 8, N 3. – Art. 355. <https://doi.org/10.3390/pr8030355>
4. Пироуглероды в сердечно-сосудистой хирургии / Л. А. Бокерия [и др.]. – М., 2020. – 54 с.
5. Li, M. M. First-principle calculations on the structural stability and electronic properties of superhard B<sub>x</sub>C<sub>y</sub> compounds / M. M. Li, X. Fan, W. T. Zheng // J. Phys. Condens. Matter. – 2013. – Vol. 25, N 42. – Art. 425502. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/25/42/425502>
6. First-principles studies of structural and electronic properties of hexagonal BC<sub>5</sub> / Q. Hu [et al.] // Phys. Rev. B. – 2006. – Vol. 73, N 21. – Art. 214116. <https://doi.org/10.1103/physrevb.73.214116>
7. Computational predictions and microwave plasma synthesis of superhard boron-carbon materials / P. Baker [et al.] // Materials. – 2018. – Vol. 11, N 8. – Art. 1279. <https://doi.org/10.3390/ma11081279>
8. Chasmawala, M. Synthesis of B/C materials from boron-containing phenyl acetylides / M. Chasmawala, T. C. Chung // Carbon. – 1997. – Vol. 35, N 5. – P. 641–650. [https://doi.org/10.1016/s0008-6223\(97\)00019-5](https://doi.org/10.1016/s0008-6223(97)00019-5)
9. Preparation and characterization of B<sub>x</sub>C<sub>1-x</sub> thin films with the graphite structure / B. M. Way [et al.] // Phys. Rev. B. – 1992. – Vol. 46, N 3. – P. 1697–1702. <https://doi.org/10.1103/physrevb.46.1697>
10. Lowell, C. Solid Solution of Boron in Graphite / C. Lowell // J. Am. Ceram. Soc. – 1967. – Vol. 50, N 3. – P. 142–144. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.1967.tb15064.x>
11. Hu, R. Synthesis and characterization of novel B/C materials prepared by 9-chloroborabluorene precursor / R. Hu, T. C. Chung // Carbon. – 1996. – Vol. 34, N 10. – P. 1181–1190. [https://doi.org/10.1016/0008-6223\(96\)00064-4](https://doi.org/10.1016/0008-6223(96)00064-4)
12. A novel graphite-like material of composition BC<sub>3</sub>, and nitrogen-carbon graphites / J. Kouvetakis [et al.] // J. Chem. Soc. Chem. Commun. – 1986. – N 24. – P. 1758–1759. <https://doi.org/10.1039/c39860001758>
13. An investigation of vapor deposited boron rich carbon—a novel graphite-like material—part I: the structure of BC<sub>x</sub> (C<sub>6</sub>B) thin films / C. T. Hach [et al.] // Carbon. – 1999. – Vol. 37, N 2. – P. 221–230. [https://doi.org/10.1016/s0008-6223\(98\)00166-3](https://doi.org/10.1016/s0008-6223(98)00166-3)
14. Evidence for the solubility of boron in graphite by electron energy loss spectroscopy / V. Serin [et al.] // Carbon. – 2000. – Vol. 38, N 4. – P. 547–554. [https://doi.org/10.1016/s0008-6223\(99\)00128-1](https://doi.org/10.1016/s0008-6223(99)00128-1)
15. Комбинационное рассеяние света в нанопористом углероде, получаемом из карбидов кремния и титана / А. М. Данишевский [и др.] // Физика твердого тела. – 2001. – Т. 43, № 1. – С. 132–139.
16. Raman spectroscopy of carbon materials and their composites: Graphene, nanotubes and fibres / Z. Li [et al.] // Progress in Materials Science. – 2023. – Vol. 135. – Art. 101089. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2023.101089>

#### References

1. Maksimenko S. A., Kulahava T. A., Okotrub A. V., Suslyaev V. I. Actual problems of the usage of composite and hybrid materials based on different forms of nanocarbons in electromagnetic and biomedical applications. *Journal of the Belarusian State University. Physics*, 2023, no. 1, pp. 55–69 (in Russian). <https://doi.org/10.33581/2520-2243-2023-1-55-69>

2. Zolkin P. I., Ostrovskii V. S. *Carbon materials in medicine*. Moscow, 2014. 140 p. (in Russian).
3. Rajakumar G., Zhang X.-H., Gomathi T., Wang S.-F., Ansari M. A., Mydhili G., Nirmala G., Alzohairy M. A., Chung I.-M. Current use of carbon-based materials for biomedical applications – a prospective and review. *Processes*, 2020, vol. 8, no. 2, art. 355. <https://doi.org/10.3390/pr8030355>
4. Bokeria L. A., Agafonov A. V., Kuznetsov V. O., Gorodkov A. Yu. *Pyrocarbons in cardiovascular surgery*. Moscow, 2020. 54 p. (in Russian).
5. Li M. M., Fan X., Zheng W. T. First-principle calculations on the structural stability and electronic properties of superhard  $B_xC_y$  compounds. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2013, vol. 25, no. 42, art. 425502. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/25/42/425502>
6. Hu Q., Wu Q., Ma Y., Zhang L., Liu Z., He J., Sun H., Wang H.-T., Tian Y. First-principles studies of structural and electronic properties of hexagonal  $BC_5$ . *Physical Review B*, 2006, vol. 73, no. 21, art. 214116. <https://doi.org/10.1103/physrevb.73.214116>
7. Baker P., Catledge S., Harris S., Ham K., Chen W.-C., Chen C.-C., Vohra Y. Computational predictions and microwave plasma synthesis of superhard boron-carbon materials. *Materials*, 2018, vol. 11, no. 8, art. 1279. <https://doi.org/10.3390/ma11081279>
8. Chasmawala M., Chung T. C. Synthesis of B/C materials from boron-containing phenyl acetylides. *Carbon*, 1997, vol. 35, no. 5, pp. 641–650. [https://doi.org/10.1016/s0008-6223\(97\)00019-5](https://doi.org/10.1016/s0008-6223(97)00019-5)
9. Way B. M., Dahn J. R., Tiedje T., Myrtle K., Kasrai M. Preparation and characterization of  $B_xC_{1-x}$  thin films with the graphite structure. *Physical Review B*, 1992, vol. 46, no. 3, pp. 1697–1702. <https://doi.org/10.1103/physrevb.46.1697>
10. Lowell C. Solid Solution of Boron in Graphite. *Journal of the American Ceramic Society*, 1967, vol. 50, no. 3, pp. 142–144. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.1967.tb15064.x>
11. Hu R., Chung T. C. Synthesis and characterization of novel B/C materials prepared by 9-chloroborabluorene precursor. *Carbon*, 1996, vol. 34, no. 10, pp. 1181–1190. [https://doi.org/10.1016/0008-6223\(96\)00064-4](https://doi.org/10.1016/0008-6223(96)00064-4)
12. Kouvetakis J., Kaner R. B., Sattler M. L., Bartlett N. A novel graphite-like material of composition  $BC_3$ , and nitrogen-carbon graphites. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 1986, no. 24, pp. 1758–1759. <https://doi.org/10.1039/c39860001758>
13. Hach C. T., Jones L. E., Crossland C., Thrower P. A. An investigation of vapor deposited boron rich carbon—a novel graphite-like material—part I: the structure of  $BC_x$  ( $C_6B$ ) thin films. *Carbon*, 1999, vol. 37, no. 2, pp. 221–230. [https://doi.org/10.1016/s0008-6223\(98\)00166-3](https://doi.org/10.1016/s0008-6223(98)00166-3)
14. Serin V., Brydson R., Scott A., Kihn Y., Abidate O., Maquin B., Derré A. Evidence for the solubility of boron in graphite by electron energy loss spectroscopy. *Carbon*, 2000, vol. 38, no. 4, pp. 547–554. [https://doi.org/10.1016/s0008-6223\(99\)00128-1](https://doi.org/10.1016/s0008-6223(99)00128-1)
15. Danishevskii A. M., Smorgonskaya É. A., Gordeev S. K., Grechinskaya A. V. Raman light scattering in nanoporous carbon obtained from silicon and titanium carbides. *Physics of the Solid State*, 2001, vol. 43, no. 1, pp. 137–144. <https://doi.org/10.1134/1.1340199>
16. Li Z., Deng L., Kinloch I. A., Young R. J. Raman spectroscopy of carbon materials and their composites: Graphene, nanotubes and fibres. *Progress in Materials Science*, 2023, vol. 135, art. 101089. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2023.101089>

### Информация об авторах

Демиденко Марина Ивановна – заведующий лабораторией. Институт ядерных проблем БГУ (ул. Бобруйская, 11, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [midemidenko67@gmail.com](mailto:midemidenko67@gmail.com).

Адамчук Дмитрий Вячеславович – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник. Институт ядерных проблем БГУ (ул. Бобруйская, 11, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [adamchuk.dzmitry@yahoo.com](mailto:adamchuk.dzmitry@yahoo.com). ORCID: 0000-0003-2845-4744.

Русанов Андрей Павлович – начальник КТБ. Завод «Электронмаш» (пр. Партизанский, 2, 220033, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [rusanovandrei94@mail.ru](mailto:rusanovandrei94@mail.ru).

Сироткин Сергей Владимирович – главный экономист. Завод «Электронмаш» (пр. Партизанский, 2, 220033, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [electronmash-plant@yandex.ru](mailto:electronmash-plant@yandex.ru).

Иванько Леонид Владимирович – и. о. директора. Завод «Электронмаш» (пр. Партизанский, 2, 220033, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [electronmash-plant@yandex.ru](mailto:electronmash-plant@yandex.ru).

Максименко Сергей Афанасьевич – д-р физ.-мат. наук, профессор, директор. Институт ядерных проблем БГУ (ул. Бобруйская, 11, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [sergey.maksimenko@gmail.com](mailto:sergey.maksimenko@gmail.com). ORCID: 0000-0002-8271-0449.

### Information about the authors

Demidenko Marina I. – Head of the Laboratory. Institute for Nuclear Problems of the Belarusian State University (11, Bobruiskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [midemidenko67@gmail.com](mailto:midemidenko67@gmail.com).

Adamchuk Dmitry V. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior Researcher. Institute for Nuclear Problems of the Belarusian State University (11, Bobruiskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [adamchuk.dzmitry@yahoo.com](mailto:adamchuk.dzmitry@yahoo.com). ORCID: 0000-0003-2845-4744.

Rusanov Andrey P. – Head of KTB. Electronmash-plant (2, Partizanski Ave., 220033, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [rusanovandrei94@mail.ru](mailto:rusanovandrei94@mail.ru).

Ivanko Leonid V. – Acting Director. Electronmash-plant (2, Partizanski Ave., 220033, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [electronmash-plant@yandex.ru](mailto:electronmash-plant@yandex.ru).

Maksimenko Sergey A. – D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Director. Institute for Nuclear Problems of the Belarusian State University (11, Bobruiskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [sergey.maksimenko@gmail.com](mailto:sergey.maksimenko@gmail.com). ORCID: 0000-0002-8271-0449.

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

**АГРАРНЫЕ НАУКИ**  
**AGRARIAN SCIENCES**

УДК 631.48  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-257-264>

Поступило в редакцию 26.09.2022  
Received 26.09.20223

**Т. А. Романова, Н. Н. Ивахненко, А. Н. Червань**

*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ГЕНЕЗИСА ПОЧВ БЕЛАРУСИ**

*(Представлено академиком В. В. Ланой)*

**Аннотация.** Рассмотрен массив данных для восьми почвенных разновидностей через спектр свойств, включенных в программу фундаментальных исследований по генетическому почвоведению. С целью расширения представлений о сущности почвообразования и природы почв; основы неистощительного землепользования изучались свойства почв автохтонного увлажнения, развитых на лессовидных суглинках, как основа диагностики их генезиса и разнообразия. Установлено отличие почв от почвоподобных тел, проведена идентификация генезиса почв как функции водного режима, определена роль микробиоты как основа превращения горной породы в почву, модели химической дифференциации профилей, биоэнергетический потенциал почв. Проведенные исследования способствуют повышению эффективности использования почв на основе их генезиса с диагностикой водного режима в качестве маркера, а также информативности почвенных карт, обеспечивающей разработку прецизионных систем земледелия.

**Ключевые слова:** почва, существенные свойства, почвообразование, биота (микробиота), глинистые минералы, водный режим, биоэнергетический потенциал

**Для цитирования.** Романова, Т. А. Диагностические маркеры генезиса почв Беларуси / Т. А. Романова, Н. Н. Ивахненко, А. Н. Червань // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 257–264. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-257-264>

**Tatiana A. Romanova, Nadezhda N. Ivakhnenko, Aliaksandr N. Chervan**

*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

**DIAGNOSTIC GENESIS MARKERS OF SOILS IN BELARUS**

*(Communicated by Academician Vitaly V. Lapa)*

**Abstract.** A set of data for eight soil varieties are considered using the spectrum of properties included into the program of fundamental research of genetic soil science. To expand our understanding of the essence of soil formation and soil nature, the sustainable land use principles, we studied the properties of autochthonous moistening of soils developed on loess-like loams as a basis of diagnosis of their genesis and diversity. It is found that soils differ from soil-like bodies. Soil genesis is identified as a function of water conditions. The role of microbiota are established as a basis of rock conversion into soil. The models for chemical differentiation of profiles and bioenergy potential of soils are analyzed. The studies performed favor increasing the utilization efficiency of soils based on their genesis together with diagnosis of water conditions as a marker and informing soil maps providing the development of precision farming systems.

**Keywords:** soil, vital properties, soil formation, biota (microbiota), clay minerals, water regime, bioenergetic potential

**For citation.** Romanova T. A., Ivakhnenko N. N., Chervan A. N. Diagnostic genesis markers of soil in Belarus. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 257–264 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-257-264>

**Введение.** Интерес к почве в XXI в., судя по публицистической и научной литературе [1–4], заметно оживился, хотя общее понятие «почва», по большей части, остается в его классическом, описательном варианте, включая ГОСТ, принятый «Стандартинформом» в 1988 г. и переизданный в 2008 и 2021 гг. Со временем разные направления изучения почв заметно расширились

и углублялись, но, чем более конкретными становились результаты, тем сложнее оказывалось их объединение в общей теории, вплоть до потери целостного системного взгляда на почву [5]. В 2019 г. опубликована статья [6], в которой показано неудовлетворительное состояние учета почв в земельном законодательстве России.

До настоящего времени использование почв в земледелии базируется на информации о гранулометрическом составе и, в меньшей мере, на общих представлениях об увлажненности почвы. Вместе с тем выделение почв из ряда себе подобных надежно обеспечивает только генезис как совокупность существенных свойств. Однако относительно генезиса и номенклатуры почв в современном почвоведении остается много неясностей [2; 3; 6], отмечавшихся также авторами данного сообщения. Это послужило поводом к рассмотрению на примере конкретного полигона природной сущности почвы – ее генезиса, а также сущности почвообразования и педосферы, в соответствии с общим уровнем развития почвоведения.

В Беларуси с 1960-х годов интерес к почвенным исследованиям носил преимущественно утилитарный характер в связи с развитием широкомасштабной гидромелиорации. С 1975 по 2000 г. собран значительный фактологический материал и получено достаточно полное представление не только о потребностях природных почв республики в гидромелиорации и об их изменениях под влиянием осушения, но и о водном режиме как существенном свойстве почвы [7; 8].

**Материалы и методы исследования.** Полигон исследований (далее полигон) представляет собой трансекту длиной 2,1 км и шириной 0,4 км на южном склоне Минской возвышенности на связных почвообразующих породах – валдайской морене, перекрытой легкими пылеватыми (лессовидными) суглинками, в условиях мягкого умеренно-континентального климата, характеризующегося годовым радиационным балансом 1500–1800 МДж/м<sup>2</sup> и суммой осадков 560–700 мм. Полигон репрезентативен для природных условий смешанных лесов и южной тайги гумидной зоны Евразии под естественной растительностью на лессовидных суглинках. Рис. 1 свидетельствует, что, согласно белорусской номенклатуре, все рассмотренные почвы, кроме разреза 84, относятся к категории дерново-подзолистых. В соответствии с международной классификацией [1], те же почвы следует относить к реферативным почвенным группам: Luvisols, Retisols, Podzols, Gleysols и Antrosols (рис. 1). Далее используется белорусская номенклатура почвенных единиц.

Характеристики исследуемых почв получены с соблюдением требований традиционной методологии и методов анализов, соответствующих ГОСТ, принятым в фундаментальных исследованиях. Полевые (натурные) исследования включали описания местоположений разрезов с полным перечнем растений, морфологию профилей, тестирование на вскипание и оглеение,

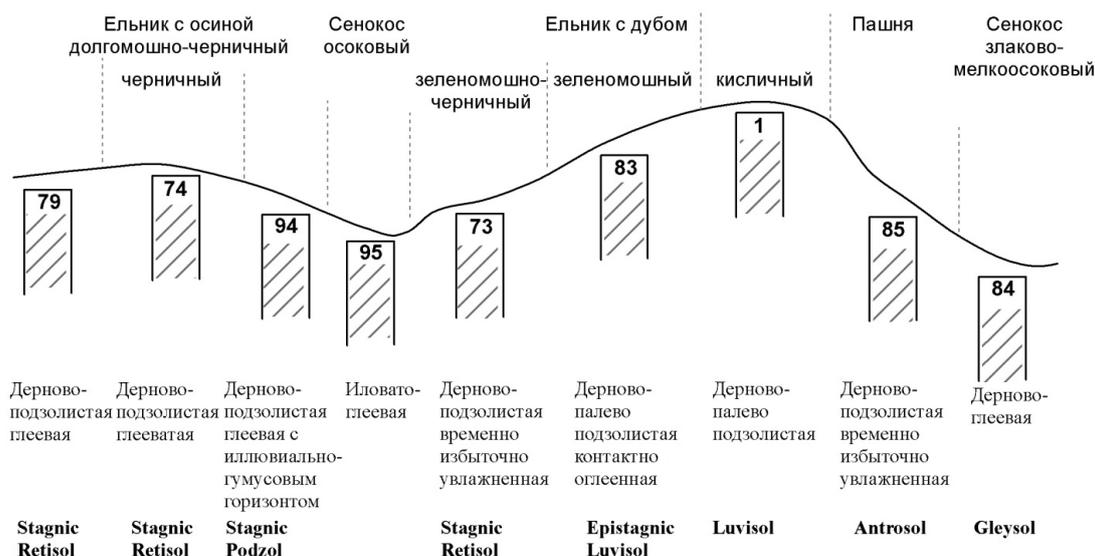


Рис. 1. Почвенная трансекта

Fig. 1. Soil transect

отбор образцов для определения водно-физических показателей (полевая влажность, объемная масса). Наблюдения за динамикой почвообразования выполнялись ежемесячно (30 раз) по генетическим горизонтам четырех разрезов. В камеральных условиях определялись физико-химические свойства, валовой химический состав общей массы почвы и ила (всего около 15000 показателей [7]), минералогический состав ила, описывалась микроморфология почв.

Немаловажное значение имело участие в исследованиях сотрудников лаборатории энзимологии почв Института ботаники Национальной академии наук Беларуси (руководитель Т. А. Щербакова).

Интерпретация собранных данных в соответствии с целью настоящего сообщения отличается некоторыми особенностями:

1. Объект исследований – педоэкологический ряд (катена), в котором каждый последующий член отличается от предыдущего на одну степень увлажнения, согласно градации, принятой в Беларуси.
2. Предмет исследований – существенные (главные) свойства почв.
3. Химическая дифференциация профилей – основа идентификации типов водного режима как маркеров генезиса почв.

**Результаты и их обсуждение.** Условия формирования почв полигона описываются высотным почвенно-геоботаническим профилем, указывающим на положение каждого разреза в ландшафте (рис. 1), морфология профилей отражена полевыми зарисовками почвенных разрезов, ранжированных по степени увлажнения (рис. 2). Свойства почв рассматриваются как общность, присущая одновременно всем объектам и каждому в отдельности. Исключением является органическое вещество, сложный состав которого не допускает обобщений (таблица). Обобщенные характеристики свойств почв – основа содержания данного сообщения.

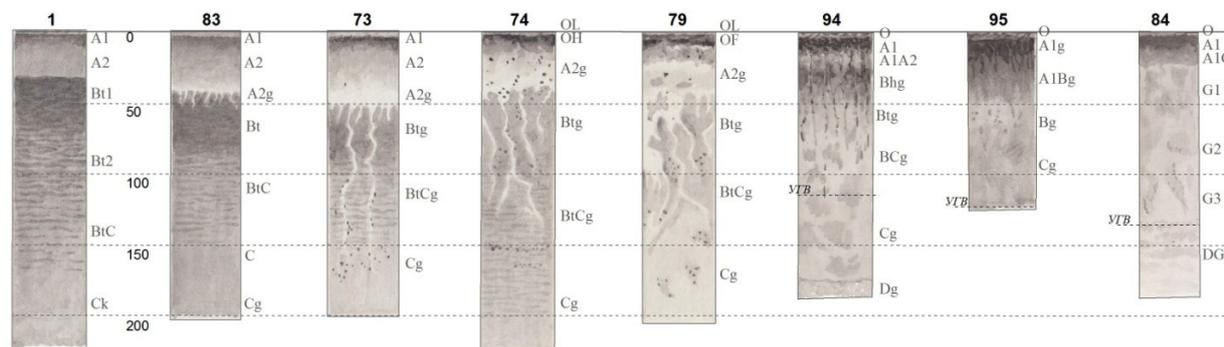


Рис. 2. Педоэкологический ряд и морфология профилей почв суглинистого гранулометрического состава

Fig. 2. Pedoecological series and morphology of soil profiles of loamy granulometric composition

**Аналитическая характеристика гумуса исследуемых почв**  
**Analytical characteristics of humus in the studied soils**

Показатель Index		Почва (номер разреза) Soil (section number)							
		83	73	74	79	94	95	84	
Гумус общий	Мощность A1, см	4	4	4	5	6	10	21	17
	Содержание гумуса, %	5,9	5,5	7,0	13,5	16,2	19,3	19,0	29,2
	Запасы в слое 0–20 см, т/га	31,2	43,0	75,0	105,4		152,3	144,0	239,8
Гумус групповой	Групповой состав	1,4	1,0	1,0	1,2		1,0*	1,1*	1,4
	Гумин, %	55,4	44,8	43,6	27,5	32,3	34,7	26,3	33,3
	Сг/Соб, %		22,5	22,4	28,4		33,0	37,0	38,0
Гумус фракционный	Сг1 от суммы Сг, %		52	67	54		71	59	24
	Сг2 от суммы Сг, %		2	0	6		12	12	41
	Сг3 от суммы Сг, %		46	33	40		17	29	3

*Морфологическая характеристика почв* обнаруживает в вертикальных профилях черты определенной организованности, сохраняющейся во времени и являющейся первым признаком и свойством почвы, противодействующим неорганизованности (накоплению энтропии), что согласно второму закону термодинамики, возможно только в открытой системе при поступлении дополнительной энергии извне. Этим утверждается общая энергообусловленная природа почвы, как таковой.

*Водно-физические свойства* представлены влажностью почв, которая основывается на натурных определениях полевой влажности. Для верификации представления о распределении влаги в профилях был применен статистический метод обработки данных по подвижности семи химических соединений ( $P_2O_5$ ,  $K_2O$ ,  $Fe_2O_3$ ,  $FeO$ ,  $Ca$ ,  $Mg$ ,  $Mn$ ) в трех почвах разной степени увлажнения (р. 83, 73, 74), позволивший установить в каждом профиле статистически достоверные глубины проникновения гидростатической влаги.

*Гранулометрический состав* почв полигона – лессовидные суглинки, довольно широко распространенные в плакорных условиях Беларуси. Их особенностью является текстурная дифференциация профилей – аккумуляция в средней их части физической глины (20–25 %) и ила (12–15 %), образующих горизонт Вt – иллювиально-глинистый [8]. Горные (почвообразующие) породы в результате физического выветривания измельчаются до частиц диаметром 0,001 мм, но дальнейшая дезинтеграция этих частиц до предколлоидных и коллоидных размерностей осуществляется микроорганизмами, что свидетельствует о биологической природе инициальной части гранулометрического состава почвы.

*Минералогический состав* лессовидных суглинков как почвообразующей породы отличается простотой, общая масса почв включает некоторые новообразованные минералы, минералогический состав ила представляют преимущественно новообразованные (почвенные) глинистые минералы, близкие к гидрослюдам. Для автоморфных почв (р. 1, 83) характерны минералы группы вермикулита, для полугидроморфных (р. 73, 74, 79, 94) – монтмориллонита и смешанно-слоистые хлоритподобные минералы. Связь трансформации гидрослюдов с гидроморфизмом почв и тот факт, что трансформация прогрессивно нарастает вверх по профилю, свидетельствует о почвенном происхождении ассоциаций глинистых минералов, об их соответствии гидротермическим условиям формирования.

Большинством исследователей, начиная с В. В. Докучаева, ведущая роль в трансформациях минералов признана за почвенной биотой и, в первую очередь, за микроорганизмами, за счет их способности к избирательному поглощению элементов – биофилов [4] с мобилизацией для своей жизнедеятельности энергии Солнца, атмосферы и разрушения минералов [9].

*Химический состав* почв использован в моделях химической дифференциации профилей. К наиболее информативным показателям относится валовое содержание оснований ( $CaO$  и  $MgO$ ) и полутораоксидов ( $Fe_2O_3$  и  $Al_2O_3$ ) в общей массе почвы и в иле, индекс разложения ила – ( $SiO_2:Al_2O_3$ ) и содержание аморфного железа по О. Тамму, а также содержание общего ила в почвообразующей породе (рис. 3). Физические модели визуализируются кривыми, характер и сочетания которых являются диагностическими признаками, или маркерами, почв. Две первые колонки на рис. 3 свидетельствуют, что по химическому составу общая масса почвы (фракция меньше 1 мм) мало информативна, тогда как валовой состав ила (фракция меньше 0,001 мм), напротив, четко отражает особенности почв. Так, в р. 73, 74, 83, несмотря на текстурную неоднородность профилей, химический состав ила и индексы  $SiO_2:Al_2O_3$  практически не изменяются по горизонтам (рис. 3). Это может свидетельствовать о лессиваже – передвижении тонких частиц без разрушения [8], хотя вопрос до сих пор остается дискуссионным. Разрез 94 отличается химически четко дифференцированным профилем с выраженными признаками разложения минералов ( $SiO_2 : Al_2O_3$ ). Гидроморфизм почв подчеркивается характером распределения в профилях аморфного железа. Таким образом, форма кривых в моделях отражает разграничения почв на основе конкретных результатов анализов, независимо от методов их получения.

*Органическое вещество (гумус)*. Содержание (%) и запасы гумуса в слое 0–20 см (т/га) указывают на тесную связь гумусонакопления с гидроморфизмом почв. Содержание гумина свидетельствует, что гумус исследуемых почв (кроме р. 94, 95) отличается низкой растворимостью и высокой степенью минерализации. Групповой состав гумуса – фульватно-гуматный ( $C_r : C_\phi = 1,0–1,2$ ). Доля

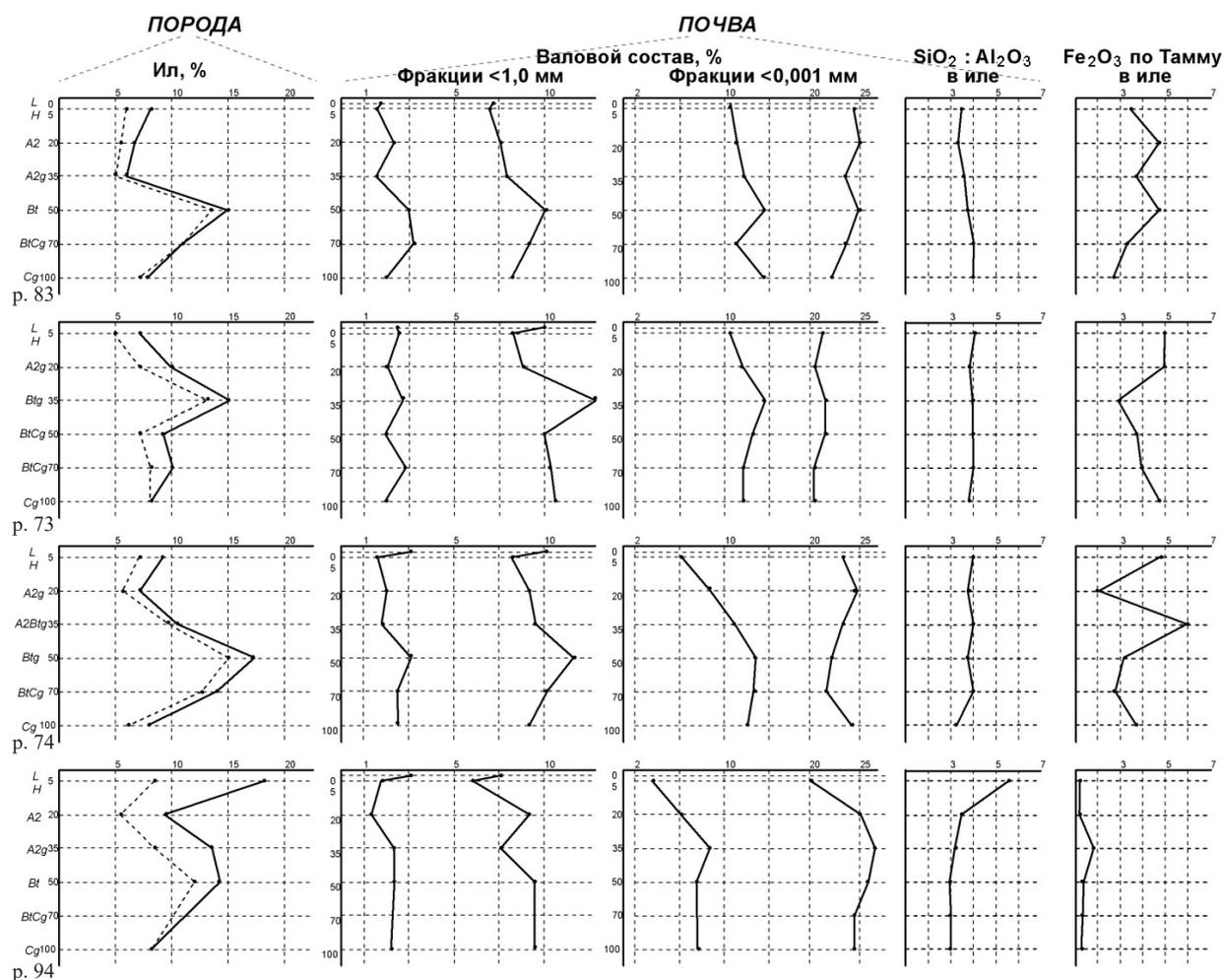


Рис. 3. Химическая дифференциация профилей почв

Fig. 3. Chemical differentiation of soil profiles

углерода гуминовых кислот в общем углероде почвы 20–30 % (таблица) соответствует климатическим условиям зоны широколиственных лесов. Фракционный состав гуминовых кислот детерминирован химизмом почвообразующих пород. В гумусе аккумулируется энергия Солнца и Земли, усваиваемая фито- и зоомассой, энергия атмосферы, в виде поступающей в почву влаги, и энергия разрушения минералов, что позволяет считать гумус показателем общей энергообеспеченности почвы [4].

Наблюдения за окислительно-восстановительным потенциалом ( $Eh$ ) и биологической активностью почв [10–12] показали, что наиболее заметна приуроченность активности  $Eh$  почвы к осеннему поступлению опада и отпада, к гумусовым горизонтам и подстилкам. Осенью  $Eh$  составлял 200 мВ, а во время весеннего переувлажнения – 500 мВ [7].

Водный режим, согласно А. А. Роде [11], рассмотрен в двух аспектах: 1) движение или застой влаги в профиле – тип водного режима почвы, 2) содержание влаги в профиле – влажность (увлажненность) почвы. Характеристика типов водного режима почв включает глубину промачивания, выраженность химической дифференциации профилей, отсутствие или наличие признаков полного разложения ила. Информация, изложенная в [8], позволяет дать характеристики типов водного режима почв с названиями, приближенными к используемым А. Роде, но уточненными на основе исследований, выполненных в Беларуси: непромывной, застойно-промывной, промывной, выпотной, застойный. На рис. 2 почвы с непромывным водным режимом представлены разрезами 1, 83; застойно-промывным – р. 73, 74, 79; промывным – р. 94; выпотным – р. 84; застойным – р. 95. Названия почв даны на рис. 1.

*Биологическая составляющая.* Исследования микрофлоры, ферментов и нуклеиновых кислот в разных типах лесов Беларуси [12] определенно указывают на связь биологического компонента с почвами. Наблюдения за ферментативной активностью почв полигона [10] и литература последних 50 лет однозначно свидетельствуют в пользу представления о почве как биокосной системе.

*Энергетика почвообразования.* В Беларуси опыт включения энергетической характеристики реализован для четырех разновидностей почв под естественной растительностью, для десяти вариантов пахотных высоко окультуренных почв [13] и для тех же почв в разной степени эродированных [14]. Энергия почв, по А. Е. Ферсману, учитывается через энергию кристаллической решетки химических элементов, входящих в составе минералов почвообразующих пород, и оценивается по количеству энергии, необходимой для полного их разрушения. Полную внутреннюю энергию (ккал/см<sup>2</sup>) можно считать резервом плодородия почвы – ее *биоэнергетическим потенциалом*. Биоэнергетический потенциал каждой почвы представляет ее индивидуальность – содержит сведения о субстрате, генезисе, природном плодородии и антропогенных изменениях [15].

Фактологические данные, характеризующие почвы, могут использоваться для получения новых данных, в которых объектом является, во-первых, почва сама по себе (как таковая), отличающаяся от почвоподобных тел, легитимной влагообеспеченностью растений; во-вторых, конкретные почвы, обладающие совокупностью свойств, без которых почва существовать не может и которые определяют генезис почвы. Сущность (генезис) почвы непосредственно не определяется, но устанавливается по наличию главных (существенных) свойств. В таком ключе уже энергетическая обусловленная морфология профиля является свойством, без которого почва не существует. Гранулометрический состав – наличие сверхтонких фракций, имеет признаки биокосной материи, переходной от горной породы к почве. Минералогический состав почвенного ила характеризуется новообразованием глинистых минералов, отличающих почву от горной породы. Органическое вещество (гумус) представляет сущность почвы по определению. Химический состав генетических горизонтов сам по себе главным свойством не является, но служит основой моделей химической дифференциации профилей и, соответственно, аналитической идентификации типа водного режима. Окислительно-восстановительный потенциал – надежный свидетель роли биоты в почвообразовании.

Участие микроорганизмов в новообразовании глинистых минералов и сверхтонких частиц позволяет рассматривать трансформацию минералов как одно существенное свойство.

Следовательно, к существенным (главным) свойствам почвы относятся: 1) трансформация минералов, 2) гумусообразование и 3) водный режим.

Обобщение информации, относящейся к почве как таковой, привело к выводу, что границей между почвой и почвоподобной породой служит влагообеспеченность – основное условие существования почвы как биокосной системы, содержащей в слое 0–20 см доступную растениям влагу в течение не менее 5 дней за вегетационный период среднего по водности года.

Результаты исследований по энергетике почв находятся на начальном этапе развития, но информация, закодированная в энергетической характеристике почвы, в перспективе может стать базой идентификации и инвентаризации почвенных ресурсов. Пока же совокупность данных подтверждает ведущую роль неземной и земной энергии в почвообразовании, ее связь с жизнедеятельностью биоты, и позволяет рассматривать почвообразование как природное явление, а педосферу как часть биосферы с концентрацией микробиоты в субаэральных условиях.

**Закключение.** Анализ собранной информации прежде всего привел к выводу, что границей между *почвой* и *почвоподобным телом* служит влагообеспеченность почвы – основное условие существования биокосной системы, содержащей в слое 0–20 см доступную растениям влагу в течение не менее 5 дней за вегетационный период среднего по водности года. Почва сама по себе, в отличие от почвоподобного тела, является компонентом биосферы. Конкретные почвы различаются по совокупности существенных свойств, составляющих их генезис, о котором мы судим по типам водного режима, поскольку он идентифицируется аналитически. В таком плане водный режим выступает в роли маркера, диагностирующего генезис. Вторая составляющая водного режима – увлажненность почв – параметризована числом дней за вегетационный период среднего по водности года, в течение которых в слое 0–20 см содержится доступная растениям влага [8].

*Сущность почвообразования* как природного явления – мобилизация биотой энергии Солнца, атмосферы и разрушения минералов исходных пород. *Сущность почвы* как твердой фазы – субстрат, измененный: а) трансформацией и разложением минералов, б) созданием и разрушением органического вещества (гумусообразованием), в) водным режимом. В общем виде почва может определяться как фрагмент местности, преобразованной действием внешних факторов в синергетическую систему, обладающую продукционной способностью – плодородием. Следует отметить, что почвы, при условии сохранения хотя бы части природного равновесия, относятся к числу восполнимых ресурсов.

*Агенты почвообразования*: а) биота (микрофлора, растения, грибы и животные, микрофауна, ферменты и другие биологически активные вещества), б) количество влаги и ее движение в почвенном профиле (водный режим). *Сущность педосферы* как почвенного покрова Земли – часть биосферы с концентрацией микробиоты в субэкральных условиях.

В аспекте отношения к почвам как природным ресурсам, значимым ориентиром является объективная диагностика генезиса и собственно водный режим (гидроморфизм) почв с перспективной оценки биоэнергетического потенциала как исчерпывающей информации о свойствах и природном плодородии почв. Научные знания о сущности почв – основа неистощительного природопользования.

### Список использованных источников

1. Мировая реферативная база почвенных ресурсов 2014: международная система почвенной классификации для диагностики почв и создания легенд почвенных карт: испр. и доп. версия, 2015 / науч. ред. пер. М. И. Герасимова, В. П. Красильников; пер. И. А. Спиридоновой. – М., 2017. – 216 с.
2. Почвообразовательные процессы и пространственно-временная организация почв / отв. ред. В. Н. Кудеяров; Ин-т физ.-хим. и биол. проблем почвоведения РАН. – М., 2006. – 508 с.
3. Соколов, И. А. Теоретические проблемы генетического почвоведения / И. А. Соколов. – Новосибирск, 2004. – 288 с.
4. Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере / Г. В. Добровольский [и др.]; отв. ред. Г. В. Добровольский. – М., 2003. – 364 с.
5. Корсунов, В. М. Педосфера земли / В. М. Корсунов, Е. Н. Красеха. – Улан-Удэ, 2010. – 471 с.
6. Чуков, С. Н. Категории почвы и земли в современном законодательстве России / С. Н. Чуков, А. С. Яковлев // Почвоведение. – 2019. – № 7. – С. 891–898.
7. Ивахненко, Н. Н. Мелиоративные особенности почв, развитых на лессовидных суглинках Центральной Белоруссии: дис. ... канд. с.-х. наук. – Минск, 1988. – 245 с.
8. Романова, Т. А. Диагностика почв Беларуси и их классификация в системе ФАО-WRB / Т. А. Романова. – Минск, 2004. – 432 с.
9. Вернадский, В. В. К вопросу о химическом свойстве почв / В. В. Вернадский // Почвоведение. – 1949. – № 7. – С. 810–815.
10. Щербакова, Т. А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества (в естественных и искусственных фитосенозах) / Т. А. Щербакова. – Минск, 1983. – 282 с.
11. Роде, А. А. Водный режим почв и его типы / А. А. Роде // Почвоведение. – 1956. – № 4. – С. 3–23.
12. Ефремов, А. Л. Зонально-типологический анализ биогенных процессов в почвах сосновых лесов Беларуси: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Минск, 1999. – 40 с.
13. Сергеевко, В. Т. Глинистые минералы почв Беларуси / В. Т. Сергеевко, В. Д. Лисица; под ред. А. Ф. Черныша. – Минск, 2011. – 278 с.
14. Черныш, А. Ф. Новые подходы к количественной оценке эрозионной деградации почв / А. Ф. Черныш, В. Т. Сергеевко, А. Г. Кондаурова // Почвоведение и агрохимия. – 2012. – № 1(48). – С. 7–17.
15. Тихонов, С. А. Энергетическая характеристика дерново-подзолистых почв БССР / С. А. Тихонов, Т. А. Романова // Почвоведение и агрохимия. – Минск, 1987. – Вып. 23. – С. 9–15.

### References

1. Gerasimova M. I., Krasilnikov P. V., eds. *World Reference Base of Soil Resources 2014: International system of soil classification for soil diagnostics and creation of legends for soil maps. Corrected and expanded version, 2015*. Moscow, 2017. 216 p. (in Russian).
2. Kudeyarov V. N., ed. *Soil-forming processes and spatial and temporal organization of soils*. Moscow, 2006. 508 p. (in Russian).
3. Sokolov I. A. *Theoretical problems of genetic soil science*. Novosibirsk, 2004. 288 p. (in Russian).
4. Dobrovolskiy G. V., Babyeva I. P., Bogatyreva D. G. [et al.]. *Structural and functional role of soils and soil biota in the biosphere*. Moscow, 2003. 364 p. (in Russian).

5. Korsunov V. M., Krasekha E. N. *Earth pedosphere*. Ulan-Ude, 2010. 471 p. (in Russian).
6. Chukov S. N., Yakovlev A. S. Soil and land categories in the modern legislation of Russia. *Eurasian Soil Science*, 2019, vol. 52, no. 7, pp. 865–870. <https://doi.org/10.1134/s1064229319070020>
7. Ivakhnenko N. N. *Ameliorative features of soils developed on loess-like loams of Central Belarus*. Minsk, 1988. 245 p. (in Russian).
8. Romanova T. A. *Soil diagnostics in Belarus and their classification in the FAO-WRB system*. Minsk, 2004. 432 p. (in Russian).
9. Vernadskiy V. V. On the question of the chemical properties of soils. *Pochvovedenie* [Eurasian Soil Science], 1949, no. 7, pp. 810–815 (in Russian).
10. Sherbakova T. A. *Enzymatic activity of soils and transformation of organic matter (in natural and artificial phytocenoses)*. Minsk, 1983. 282 p. (in Russian).
11. Rode A. A. Soil water regime and its types. *Pochvovedenie* [Eurasian Soil Science], 1956, no. 4, pp. 3–23 (in Russian).
12. Efremov A. L. *Zonal-typological analysis of biogenic processes in soils of pine forests in Belarus*. Minsk, 1999. 40 p. (in Russian).
13. Sergeenko V. T., Lisisca V. D. *Clay minerals of the soils of Belarus*. Minsk, 2011. 278 p. (in Russian).
14. Chernysh A. F., Sergeenko V. T., Kondaurova A. G. New methods of the measurement of soil erosion degradation. *Pochvovedenie i agrokimiya = Soil Science and Agrochemistry*, 2012, no. 1(48), pp. 7–17 (in Russian).
15. Tikhonov S. A., Romanova T. A. Energy characteristics of soddy-podzolic soils of the BSSR. *Pochvovedenie i agrokimiya = Soil Science and Agrochemistry*. Minsk, 1987, vol. 23, pp. 9–15 (in Russian).

### Информация об авторах

Романова Татьяна Александровна – д-р биол. наук, профессор. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 16, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: romanova.soil2017@yandex.ru.

Ивахненко Надежда Николаевна – канд. с.-х. наук. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 16, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nadezhda\_iva45@mail.ru

Червань Александр Николаевич – канд. с.-х. наук, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 16, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: chervan@bsu.by.

### Information about authors

Romanova Tatiyana A. – D. Sc. (Biology), Professor. Belarusian State University (16, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: romanova.soil2017@yandex.ru.

Ivakhnenko Nadezhda N. – Ph. D. (Agrarian). Belarusian State University (16, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nadezhda\_iva45@mail.ru.

Chervan Aliaksandr M. – Ph. D. (Agrarian), Head of the Department. Belarusian State University (16, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: chervan@bsu.by.