

# ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

2023. Т. 67. № 4

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. Волотовский** – Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси,  
Республика Беларусь

**С. В. Гапоненко** – Институт физики имени Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси, 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 республиканский фонд фундаментальных исследований, 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. № 4

*Выходит на русском, белорусском и английском языках*

---

Редактор Т. П. Петрович

Компьютерная верстка Ю. А. Агейчик

Сдано в набор 10.08.2023. Выпуск в свет 29.08.2023. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная. Печать цифровая.

Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 132 экз. Заказ 176.

Цена: индивидуальная подписка – 12,80 руб.; ведомственная подписка – 29,91 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. 4

---

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 Republican Foundation for Fundamental Research, Republic of Belarus

**Sergey V. Gaponenko** – B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, 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. 4

*Printed in Russian, Belarusian and English languages*

---

Editor T. P. Petrovich  
Computer Imposition Yu. A. Aheichyk

Sent for press 10.08.2023. Output 29.08.2023. Format 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Offset paper.  
Digital press. Printed sheets 10.23. Publisher’s signatures 11.3. Circulation 132 copies. Order 176.

Price: individual subscription – 12.80 BYN, departmental subscription – 29.91 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

- Берник В. И., Васильев Д. В., Калоша Н. И., Пантелеева Ж. И.** Метрическая теория диофантовых приближений и асимптотические оценки для количества многочленов с заданными дискриминантами, делящихся на большую степень простого числа..... 271

### ФИЗИКА

- Карпинский Д. В., Латушко С. И., Желудкевич Д. В., Чобот А. Н., Круплевич В. Ч., Долгий В. К., Латушко Т. В., Неклюдов К. П., Силибин М. В., Будемко Е. В.** Кристаллическая и магнитная структуры твердых растворов на основе  $\text{ViFeO}_3$ ..... 279

### ХИМИЯ

- Адзерихо И. Э., Кулак А. И., Владимирская Т. Э., Леончик Е. В., Чур С. Н., Минченя В. Т., Шилько С. В.** Эластификация артериальной стенки под действием высокоинтенсивного низкочастотного ультразвука ..... 287

- Жабинский В. Н., Маторин А. М., Савинова О. В., Бореко Е. И., Хрипач В. А.** Противокоронавирусные свойства брассиностероидов (на англ. яз.)..... 295

### БИОЛОГИЯ

- Михаленко Е. П., Щаюк А. Н., Никитинская Т. В., Полюхович Ю. В., Кубрак С. В., Шепетько М. Н., Кильчевский А. В.** Определение статуса метилирования промоторных областей генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* у пациентов с немелкоклеточным раком легкого ..... 300

### МЕДИЦИНА

- Кужель И. Д., Прибушена О. В., Наумчик И. В., Курлович И. В., Рябоконе Н. И.** Двунитевые разрывы ДНК спермиев у пациентов с нормозооспермией и патозооспермией ..... 307

- Денисов А. А., Никифоров А. В., Богданова А. В., Пашкевич С. Г., Сердюченко Н. С.** Анализ изображений клеток коры головного мозга *in vitro* с применением метода глубокого обучения..... 315

### ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Диулин Д. А., Прушак В. Я., Гегедеш М. Г.** Анализ напряженно-деформированного состояния проблемных мест шахтного ствола рудника на основе компьютерного моделирования (на англ. яз.)..... 322

- Витязь П. А., Сенють В. Т., Парницкий А. М.** Анализ процесса превращения в алмаз тонкого слоя графитоподобного углерода на поверхности детонационного наноалмаза..... 331

- Жданок С. А., Леонович С. Н., Садовская Е. А., Полонина Е. А.** Прочность и трещиностойкость цементных композитов при многоуровневом армировании..... 340

### АГРАРНЫЕ НАУКИ

- Герман Ю. И., Семченко С. В., Шейко И. П.** Показатели зоотехнической оценки овец шубно-мясного направления продуктивности..... 345

**CONTENTS***MATHEMATICS*

- Bernik V. I., Vasilyev D. V., Kalosha N. I., Panteleeva Zh. I.** Metric theory of Diophantine approximation and asymptotic estimates for the number of polynomials with given discriminants divisible by a large power of a prime number ..... 271

*PHYSICS*

- Karpinsky D. V., Latushka S. I., Zheludkevich D. V., Chobot A. N., Kruplevich V. C., Dolgiy V. K., Latushka T. V., Nekludov K. N., Silibin M. V., Budemko E. V.** Crystal and magnetic structures of solid solutions based on BiFeO<sub>3</sub>..... 279

*CHEMISTRY*

- Adzerikho I. E., Kulak A. I., Vladimirskaia T. E., Leonchik E. V., Chur S. N., Minchenya V. T., Shil'ko S. V.** Elastification of the arterial wall by high-intensity low-frequency ultrasound ..... 287
- Zhabinskii V. N., Matorin A. M., Savinova O. V., Boreko E. I., Khripach V. A.** Anti-coronavirus properties of brassinosteroids ..... 295

*BIOLOGY*

- Mikhaleuka A. P., Shchayuk A. N., Nikitinskaya T. V., Paliukhovich Yu. V., Kubrak S. V., Shapetska M. N., Kilchevsky A. V.** Determining the methylation status of the promoter regions of *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, and *UNCX* genes in patients with non-small cell lung cancer ..... 300

*MEDICINE*

- Kuzhal I. D., Pribushenya O. V., Naumchik I. V., Kurlovich I. V., Ryabokon N. I.** Sperm double-strand DNA breaks in patients with normozoospermia and pathozoospermia ..... 307
- Denisov A. A., Nikiforov A. V., Bogdanova A. V., Pashkevich S. G., Serdyuchenko N. S.** Image analysis of brain cortex cells *in vitro* using a deep learning method ..... 315

*TECHNICAL SCIENCES*

- Diulin D. A., Prushak V. Y., Gegedesh M. G.** Analysis of the stress-strain state of problematic sections of the shaft of the mine using computer simulation ..... 322
- Vityaz P. A., Senyut V. T., Parnitskiy A. M.** Analysis of transformation of a thin graphite-like carbon layer on the detonation nanodiamond surface into diamond ..... 331
- Zhdanok S. A., Leonovich S. N., Sadovskaya E. A., Polonina E. N.** Strength and crack resistance of cement composites under multilevel reinforcement ..... 340

*AGRARIAN SCIENCES*

- Herman Y. I., Semchenko S. V., Sheiko I. P.** Indicators of zootechnical evaluation of fur and meat type sheep ... 345

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

**МАТЕМАТИКА**  
**MATHEMATICS**

УДК 511.42  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-271-278>

Поступило в редакцию 31.03.2023  
Received 31.03.2023

**В. И. Берник, Д. В. Васильев, Н. И. Калоша, Ж. И. Пантелеева**

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

**МЕТРИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ ДИОФАНТОВЫХ ПРИБЛИЖЕНИЙ  
И АСИМПТОТИЧЕСКИЕ ОЦЕНКИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВА МНОГОЧЛЕНОВ  
С ЗАДАНЫМИ ДИСКРИМИНАНТАМИ,  
ДЕЛЯЩИМИСЯ НА БОЛЬШУЮ СТЕПЕНЬ ПРОСТОГО ЧИСЛА**

*(Представлено академиком Ю. С. Хариным)*

**Аннотация.** Дискриминанты многочленов характеризуют распределение корней полиномов на комплексной плоскости. В последние годы для целочисленных многочленов найдены точные оценки для количества многочленов заданной степени и высоты. Метод получения оценок основан на теоремах Минковского в геометрии чисел и метрической теории диофантовых приближений. Предложен новый метод, позволяющий получать оценки сверху для количества многочленов с ограниченными дискриминантами в архимедовой и неархимедовой метриках. В методе обобщены идеи Х. Давенпорта, Б. Фолькмана и В. Спринджук, позволившие им получить существенные продвижения при решении проблемы Малера.

**Ключевые слова:** дискриминанты целочисленных многочленов, диофантовы приближения, мера Лебега, степень и высота алгебраического числа, проблема Малера

**Для цитирования.** Метрическая теория диофантовых приближений и асимптотические оценки для количества многочленов с заданными дискриминантами, делящимися на большую степень простого числа / В. И. Берник [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 271–278. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-271-278>

**Vasili I. Bernik, Denis V. Vasilyev, Nikolay I. Kalosha, Zhanna I. Panteleeva**

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

**METRIC THEORY OF DIOPHANTINE APPROXIMATION AND ASYMPTOTIC ESTIMATES  
FOR THE NUMBER OF POLYNOMIALS WITH GIVEN DISCRIMINANTS DIVISIBLE  
BY A LARGE POWER OF A PRIME NUMBER**

*(Communicated by Academician Yuriy S. Kharin)*

**Abstract.** Discriminants of polynomials characterize the distribution of roots of polynomials in the complex plane. In recent years, for integer polynomials, exact lower-bound estimates have been obtained for the number of polynomials of a given degree and height. The method of obtaining these estimates is based on Minkowski's theorems in the geometry of numbers and the metric theory of Diophantine approximation. A new method is proposed and allows one to obtain upper-bound estimates for the number of polynomials with bounded discriminants in Archimedean and non-Archimedean metrics. The method generalizes the ideas of H. Davenport, B. Volkman, and V. Sprindzuk that allowed them to obtain significant advances in solving Mahler's problem.

**Keywords:** discriminants of integer polynomials, diophantine approximation, Lebesgue measure, degree and height of an algebraic number, Mahler's problem

**For citation.** Bernik V. I., Vasilyev D. V., Kalosha N. I., Panteleeva Zh. I. Metric theory of diophantine approximation and asymptotic estimates for the number of polynomials with given discriminants divisible by a large power of a prime number. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 271–278 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-271-278>

**Введение.** Теория диофантовых приближений позволяет заменять действительные числа на близкие к ним рациональные числа, а трансцендентные числа на близкие к ним алгебраические числа. В 1932 г. К. Малер [1] ввел классификацию действительных и комплексных чисел на основе разрешимости неравенства

$$|P(x)| < H^{-w(x)} \quad (1)$$

в полиномах  $P(x) = a_n x^n + \dots + a_1 x + a_0$  с целыми коэффициентами степени  $\deg P = n$  и высоты  $H = H(P) = \max_{0 \leq i \leq n} |a_i|$ . От величины  $w(x)$  зависит, в какой класс попадет действительное число  $x$ . Сам Малер доказал, что при  $w > 4n$  мера Лебега  $\mu_1$  множества  $\mathcal{L}_n(w)$ , для которых неравенство (1) имеет бесконечное число решений, равна нулю. Его гипотеза состояла в том, что

$$\mu_1 \mathcal{L}_n(w) = 0, \quad w > n,$$

для действительных  $x$  и

$$\mu_2 \mathcal{L}_n(w) = 0, \quad w > \frac{n-1}{2},$$

для комплексных  $z$ , где  $\mu_2$  – мера Лебега на комплексной плоскости  $\mathbb{C}^2$ .

Гипотезу Малера доказал В. Г. Спринджук. Он опубликовал свое доказательство в [1], где обобщил проблему Малера на поле  $p$ -адических чисел и поле формальных степенных рядов, а также сформулировал несколько гипотез для невырожденных кривых [2] и совместных диофантовых приближений [3]. Для любого  $n$  эта задача решена в 1998 г. Д. Клейнбоком и Г. Маргулисом [4]. Вторую гипотезу доказал первый из авторов данной статьи [5]. В обзорной статье 1980 г. В. Спринджук [6] поставил гипотезу о разрешимости системы неравенств

$$|P(x)| < H^{-w_1}, \quad |P(z)| < H^{-w_2}, \quad |P(\omega)| < H^{-w_3}, \quad w_i \geq 0, \quad w_1 + 2w_2 + w_3 > n - 2 \quad (2)$$

для  $(x, z, \omega)$  из пространства  $\Omega = \mathbb{R} \times \mathbb{C} \times \mathbb{Q}_p$  действительных, комплексных и  $p$ -адических чисел. Эта задача решена в [5]. Значительный вклад в теорию диофантовых приближений внес также академик Й. П. Кубилюс [7].

Подобные неравенства можно рассматривать с более общими правыми частями, как в теореме Хинчина [8]. Такая задача была решена отдельно для действительных [9; 10], комплексных [11] и  $p$ -адических чисел [12].

Основу всех доказательств составляют обобщения леммы Гельфонда о разрешимости неравенств (2) для трансцендентных чисел  $x, z, \omega$ . В [13] при дополнительных условиях на поведение полиномов  $P(x)$  на интервалах  $I_i \subset \mathbb{R}$  была доказана следующая лемма.

**Л е м м а 1** [9]. Пусть полиномы  $P_1(t)$  и  $P_2(t)$  степени  $n$  и высоты  $H(P_i) \leq Q$ ,  $i = 1, 2$ , на отрезке  $I$ ,  $\mu_1 I = Q^{-\eta}$ ,  $\eta \geq 0$ , удовлетворяют неравенству

$$\max_{t \in I} (|P_1(t)|, |P_2(t)|) < Q^{-\tau}.$$

Тогда при любом  $\delta > 0$  и  $Q > Q_0(\delta)$  выполняется неравенство

$$\tau + 1 + 2 \max(\tau + 1 - \eta, 0) < 2n + \delta. \quad (3)$$

Для системы неравенств лемма 1 была обобщена в [14].

В данной работе доказывается более общее утверждение, чем лемма 1, и более точное, чем [14]. Кроме того, мы показываем, как это утверждение может быть применено для получения оценок сверху количества полиномов с заданными дискриминантами.

Решаемые задачи будут рассматриваться в классе полиномов

$$\mathcal{P}_n(Q) = \{P(t) \in \mathbb{Z}[t]: \deg P \leq n, H(P) \leq Q\}. \quad (4)$$

Во всех классических проблемах метрической теории диофантовых приближений, таких как проблема Малера, проблема Бейкер–Шмидта, проблема Малера–Спринджукса, можно перейти к подклассам  $\mathcal{P}_n(Q)$ . Далее  $c_1 = c_1(n), c_2, \dots$  – величины, зависящие от  $n$  и не зависящие от  $H$  и  $Q$ . Символ  $\ll$  – символ Виноградова: запись  $A \ll B$  означает что  $A < dB$ , где  $d$  не зависит от  $A$  и  $B$ .

Введем подклассы полиномов

$$\mathcal{P}_n(Q, \bar{v}, H) = \{P(t) \in \mathcal{P}_n(Q), \bar{v} = (v_1, v_2)\},$$

обладающие дополнительными свойствами.

1. Класс  $\mathcal{P}_n(Q, \bar{v}, H)$  состоит из неприводимых полиномов  $P(t)$ ,  $\frac{Q}{2} \leq H(P) \leq Q$ .

2. Старшие коэффициенты  $a_n$  полиномов  $P(t)$  удовлетворяют условию

$$|a_n| \gg H, \quad |a_n|_p \gg 1,$$

где  $|a|_p$  –  $p$ -адическая норма  $a$ . Определяется она просто: для простого числа  $p$  находим представление  $a$  в виде  $a = p^l a_1$  с максимальным натуральным числом  $l$ , т. е.  $p^l$  делит  $a$ , но  $p^{l+1}$  не делит  $a$ . Тогда  $a = p^l a_1$ ,  $(a_1, p) = 1$  и определяем  $|a|_p = p^{-l}$ .

Будем обозначать меру Хаара в  $\mathbb{Q}_p$  через  $\mu_3$ .

В силу леммы Спринджукса [1] это приводит к неравенствам  $|\alpha_j| \ll 1, 1 \leq j \leq n, |\gamma_i|_p \ll 1$  для комплексных корней  $\alpha_j$  полинома  $P(t)$  и  $p$ -адических корней  $P(\omega)$  в алгебраическом замыкании поля  $\mathbb{Q}_p$ .

3. Корни  $\alpha_i, \gamma_j$  упорядочены следующим образом:

$$|\alpha_1 - \alpha_2| \leq |\alpha_1 - \alpha_3| \leq \dots \leq |\alpha_1 - \alpha_n|,$$

$$|\gamma_1 - \gamma_2|_p \leq |\gamma_1 - \gamma_3|_p \leq \dots \leq |\gamma_1 - \gamma_n|_p.$$

Проведем классификацию многочленов и их корней как это сделано в [1; 2]. Возьмем достаточно малое число  $\varepsilon_1$  и  $T = \lceil \varepsilon_1^{-1} \rceil + 1$ . Положим

$$|\alpha_1 - \alpha_j| = H^{-\rho_j}, \quad j = 2, \dots, n, \quad \frac{l_j - 1}{T} \leq \rho_j < \frac{l_j}{T},$$

$$|\gamma_1 - \gamma_i|_p = H^{-\theta_i}, \quad i = 2, \dots, n, \quad \frac{s_i - 1}{T} \leq \theta_i < \frac{s_i}{T},$$

$$p_j = T^{-1} \sum_{i=j+1}^n l_i, \quad q_j = T^{-1} \sum_{i=j+1}^n s_i.$$

Нетрудно доказать, что количество значений векторов  $(\bar{l}, \bar{s}) = (l_2, \dots, l_n, s_2, \dots, s_n)$  конечно, зависит только от  $n$  и не зависит от  $H$  и  $Q$ . Поэтому все подклассы  $\mathcal{P}_n(Q, \bar{v}, H)$  можно перебрать по очереди. Далее считаем, что  $P(t) \subset \mathcal{P}_n(Q, \bar{v}, H)$ .

**Т е о р е м а 1.** Пусть  $P_1(t), P_2(t)$  не имеют общих корней ни в  $\mathbb{C}$ , ни в  $\mathbb{Q}_p$  и пусть в прямоугольнике  $I \times K$ ,  $\mu_1 I = Q^{-\eta_1}$ ,  $\mu_3 K = Q^{-\eta_2}$ ,  $\eta_i \geq 0$ , выполняются неравенства

$$\max_{x \in I} (|P_1(x)|, |P_2(x)|) < Q^{-\tau_1}, \quad \tau_1 \geq 0,$$

$$\max_{\omega \in K} (|P_1(\omega)|_p, |P_2(\omega)|_p) < Q^{-\tau_2}, \quad \tau_2 \geq 0,$$

$$\tau_1 + 1 - p_1 > l_2 T^{-1}, \quad \tau_2 - q_1 > s_2 T^{-1}.$$

Тогда при любом  $\delta > 0$  и  $Q > Q_0(\delta)$  справедливо неравенство

$$\tau_1 + 1 + \tau_2 + 2 \sum_{k_1=1}^n \max(\tau_1 + 1 - k_1 \eta_1, 0) + 2 \sum_{k_2=1}^n \max(\tau_2 - k_2 \eta_2, 0) < 2n + \delta.$$

**Доказательство.** Для доказательства нам потребуются следующие леммы.

**Лемма 2 [2].** Если  $\alpha_1$  – ближайший корень к  $x$  многочлена  $P(x)$ , то

$$|x - \alpha_1| < \begin{cases} n |P(x)| |P'(x)|^{-1}, \\ 2^n |P(x)| |P'(\alpha_1)|^{-1}, \\ 2^n (|P(x)| |\alpha_1 - \alpha_2| |P'(x)|^{-1})^{\frac{1}{2}}. \end{cases}$$

**Лемма 3 [2].** Если  $\gamma_1$  – ближайший к  $\omega$  корень многочлена  $P(\omega)$ , то

$$|\omega - \gamma_1|_p < \begin{cases} |P(\omega)|_p |P'(\omega)|_p^{-1}, \\ |P(\omega)|_p |P'(\gamma_1)|_p^{-1}, \\ (|P(\omega)|_p |P'(\gamma_1)|_p^{-1} |\gamma_1 - \gamma_2|_p)^{\frac{1}{2}}. \end{cases}$$

Пусть  $\alpha_1$  – ближайший к  $x$  корень, а  $\gamma_1$  – ближайший к  $\omega$  корень. Тогда используя первые неравенства лемм 2 и 3 получим

$$Q^{-\eta_1} \leq |x - \alpha_1| \ll Q^{-\tau_1 - 1 + p_1 + c_1 \varepsilon_1}, \quad Q^{-\eta_2} \leq |\omega - \gamma_1|_p \ll Q^{-\tau_1 + q_1 + c_2 \varepsilon_1}.$$

Из третьих неравенств лемм 2 и 3 имеем

$$Q^{-\eta_1 j} \leq |x - \alpha_1|^j \ll Q^{-\tau_1 - 1 + p_j + c_3 \varepsilon_1}, \quad Q^{-\eta_2 j} \leq |\omega - \gamma_1|_p^j \ll Q^{-\tau_2 + q_j + c_4 \varepsilon_1}.$$

Рассмотрим произведение результатов многочленов  $P_1(t)$  и  $P(t)$

$$\begin{aligned} 1 &\leq |R(P_1, P_2)| |R(P_1, P_2)|_p = \\ &= |a_n(P_1)|^{\deg P_2} |a_n(P_2)|^{\deg P_1} \prod_{\substack{1 \leq i \leq n \\ 1 \leq j \leq n}} |\alpha_i - \beta_j| |a_n(P_1)|_p^{\deg P_2} |a_n(P_2)|_p^{\deg P_1} \prod_{\substack{1 \leq i \leq n \\ 1 \leq j \leq n}} |\gamma_i - \xi_j|_p \ll \\ &\ll Q^{2n} \prod_{\substack{1 \leq i \leq n \\ 1 \leq j \leq n}} |\alpha_i - \beta_j| \prod_{\substack{1 \leq i \leq n \\ 1 \leq j \leq n}} |\gamma_i - \xi_j|_p. \end{aligned}$$

Оценим модули разностей

$$|\alpha_1 - \beta_1| \leq |x - \alpha_1| + |x - \beta_1| \ll Q^{-\tau_1 - 1 + p_1 + c_5 \varepsilon_1}, \quad |\gamma_1 - \xi_1|_p \leq |x - \gamma_1|_p + |x - \xi_1|_p \ll Q^{-\tau_2 + q_1 + c_6 \varepsilon_1},$$

$$\prod_{j=2}^n |\alpha_1 - \beta_j| \leq \prod_{j=2}^n (|\alpha_1 - \beta_1| + |\beta_1 - \beta_j|) \ll Q^{-p_1 + c_7 \varepsilon_1},$$

$$\prod_{j=2}^n |\gamma_1 - \xi_j|_p \leq \prod_{j=2}^n (|\gamma_1 - \xi_1|_p + |\xi_1 - \xi_j|_p) \ll Q^{-q_1 + c_8 \varepsilon_1}.$$

Аналогично получим

$$\prod_{j=2}^n |\beta_1 - \alpha_j| \ll Q^{p_1 + c_9 \varepsilon_1}, \quad \prod_{j=2}^n |\xi_1 - \gamma_j|_p \ll Q^{-q_1 + c_{10} \varepsilon_1},$$



$$\prod_{j=2}^n |\alpha_j - \beta_j| \leq \prod_{j=2}^n (|\alpha_1 - \alpha_j| + |\alpha_1 - \beta_1| + |\beta_1 - \beta_j|) \ll Q^{-p_1 + c_{11}\varepsilon_1},$$

$$\prod_{j=2}^n |\gamma_j - \xi_j|_p \leq \prod_{j=2}^n (|\gamma_1 - \gamma_j|_p + |\gamma_1 - \xi_1|_p + |\xi_1 - \xi_j|_p) \ll Q^{-q_1 + c_{12}\varepsilon_1}.$$

Для оставшихся произведений имеем оценки:

$$\prod_{\substack{i,j>2 \\ i \neq j}}^n |\alpha_i - \beta_j| \leq \prod_{\substack{i,j>2 \\ i \neq j}}^n (|\alpha_1 - \alpha_i| + |\alpha_1 - \beta_1| + |\beta_1 - \beta_j|) \ll Q^{-2 \sum_{i=2}^{n-1} p_i + c_{13}\varepsilon_1},$$

$$\prod_{\substack{i,j>2 \\ i \neq j}}^n |\gamma_i - \xi_j|_p \leq \prod_{\substack{i,j>2 \\ i \neq j}}^n (|\gamma_1 - \gamma_i|_p + |\gamma_1 - \xi_1|_p + |\xi_1 - \xi_j|_p) \ll Q^{-2 \sum_{i=2}^{n-1} q_i + c_{14}\varepsilon_1}.$$

Тогда выполняется следующая оценка результата  $R(P_1, P_2)$  многочленов  $P_1(t)$  и  $P_2(t)$ :

$$1 \leq |R(P_1, P_2)| |R(P_1, P_2)|_p \ll Q^{2n - \tau_1 - 1 + p_1 - \tau_2 + q_1 - p_1 - q_1 - p_1 - q_1 - p_1 - q_1 - 2 \sum_{i=2}^{n-1} p_i - 2 \sum_{i=2}^{n-1} q_i + c_{15}\varepsilon_1} \ll Q^{2n - \tau_1 - 1 - \tau_2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \max(p_i, 0) - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \max(q_i, 0) + c_{15}\varepsilon_1} \ll Q \tag{5}$$

Из (5) получим

$$\tau_1 + 1 + \tau_2 + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \max(p_i, 0) + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \max(q_i, 0) < 2n + \delta_1.$$

Так как

$$p_j > \tau_1 + 1 - \eta_1 j - c_{16}\varepsilon_1, \quad q_j > \tau_2 - \eta_2 j - c_{17}\varepsilon_1,$$

$$\text{то } \tau_1 + 1 + \tau_2 + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \max(\tau_1 + 1 - \eta_1 k_1, 0) + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \max(\tau_2 - \eta_2 k_2, 0) < 2n + \delta.$$

Теорема 1 доказана.

Покажем, как можно применить теорему 1 для получения оценок сверху для количества целочисленных многочленов из класса полиномов  $\mathcal{P}_n(Q)$  степени  $\deg P \leq n$  и высоты  $H$ . При этом дискриминанты полиномов не превосходят заданной границы и делятся на большую степень некоторого простого числа  $p$ . Для полинома  $P(t) \in \mathcal{P}_n(Q)$  пусть  $\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n$  – корни  $P(t)$  из поля комплексных чисел  $\mathbb{C}$  – алгебраического замыкания  $\mathbb{R}$ , и  $\gamma_1, \gamma_2, \dots, \gamma_n$  – корни  $P(\omega)$  из поля  $p$ -адических чисел  $\mathbb{Q}_p$  или его алгебраического замыкания  $\overline{\mathbb{Q}_p}$ . Для целого числа  $a$  пусть  $|a|$  – абсолютная величина (архимедова норма  $a$ ). Согласно известной теореме Островского [2; 15] указанные нормирования  $|a|$  и  $|a|_p$  исчерпывают все нормы поля рациональных чисел. Очевидно, что произведение по всем этим двум нормам

$$\prod_v a_v = |a_1| \geq 1.$$

Дискриминантом полинома  $P(t) = a_n t^n + a_{n-1} t^{n-1} + \dots + a_1 t + a_0 \in \mathcal{P}_n(Q)$  называется число

$$D(P) = a_n^{2n-2} \prod_{1 \leq i < j \leq n} (\alpha_i - \alpha_j)^2.$$

Для  $\bar{v} = (v_1, v_2)$ ,  $v_i \geq 0$ ,  $i = 1, 2$ , и натурального числа  $Q$  обозначим через

$$\mathcal{P}_n(Q, \bar{v}) = \{P(t) \in \mathcal{P}_n(Q), |D(P)| \leq Q^{2n-2-2v_1}, |D(P)|_p \leq Q^{-2v_2}\}.$$

**Т е о р е м а 2.** При  $0 \leq v_1 + v_2 \leq 2$  и любом  $\varepsilon_2 > 0$  справедливо асимптотическое неравенство

$$\#\mathcal{P}_n(Q, \bar{v}) \ll Q^{n+1-(v_1+v_2)+\varepsilon_2}, \quad 0 \leq v_1 + v_2 \leq 2. \quad (6)$$

Доказательство теоремы 2.

В случае  $\bar{v} = (v_1, 0)$  оценки снизу и сверху для  $\#\mathcal{P}_n(Q, \bar{v})$ , использующиеся в диофантовых приближениях, получены в [13; 15].

Для значений  $P^{(j)}(\alpha_1)$ ,  $P^{(j)}(\gamma_1)$ ,  $1 \leq j \leq n$ , и расстояний между корнями полиномов в  $\mathbb{R}$  и  $\mathbb{Q}_p$  введем  $\varepsilon$ -сети [2].

Предположим, что выполняется противоположное (6) неравенство. Тогда существует прямоугольник

$$\Pi = J_1 \times K_1, \quad J_1 \subset \mathbb{R}, \quad K_1 \subset \mathbb{Q}_p, \quad \mu_1 J_1 = Q^{-l_2 T^{-1}}, \quad \mu_2 K_1 = Q^{-s_2 T^{-1}}, \quad \mu \Pi = Q^{-l_2 T^{-1} - s_2 T^{-1}},$$

в котором количество многочленов  $\#\mathcal{P}_n(Q, \bar{v}, \Pi)$  удовлетворяет неравенству

$$\#\mathcal{P}_n(Q, \bar{v}, \Pi) \ll Q^{n+1-(v_1+v_2-l_2 T^{-1}-s_2 T^{-1})+\varepsilon_2} = K_1, \quad K = [K_1].$$

Разложим каждый многочлен  $P(t) \in \mathcal{P}_n(Q, \bar{v}, \Pi)$  в точках  $\alpha_1$  и  $\gamma_1$  в ряд Тейлора на  $J_1 \times K_1$ .

$$P(x) = P(\alpha_1) + P'(\alpha_1)(x - \alpha_1) + \frac{1}{2}P''(\alpha_1)(x - \alpha_1)^2 + \dots, \quad (7)$$

$$P(\omega) = P(\gamma_1) + P'(\gamma_1)(\omega - \gamma_1) + \frac{1}{2}P''(\gamma_1)(\omega - \gamma_1)^2 + \dots \quad (8)$$

Поскольку

$$|x - \alpha_1| \ll H^{-l_2 T^{-1}}, \quad |\omega - \gamma_1|_p \ll H^{-s_2 T^{-1}}, \quad (9)$$

$$\left| P^{(j)}(\alpha_1)(x - \alpha_1)^j \right| \ll H^{1-p_j-jl_2 T^{-1}+(n-1)\varepsilon_1}, \quad \left| P^{(j)}(\gamma_1)(\omega - \gamma_1)^j \right|_p \ll H^{-q_j-j s_2 T^{-1}+(n-1)\varepsilon_1},$$

то из (7)–(9) следует

$$|P(x)| \ll Q^{1-p_1-l_2 T^{-1}+(n-1)\varepsilon_1}, \quad |P(\omega)|_p \ll Q^{-q_1-s_2 T^{-1}+(n-1)\varepsilon_1}.$$

Положим

$$m = v_1 + v_2 + l_2 T^{-1} + s_2 T^{-1} - 1 = [m] + \{m\},$$

где  $[a]$  и  $\{a\}$  – целая и дробная части действительного числа  $a$ , и будем считать, что  $\{m\} \leq \varepsilon_2$ . Применим принцип ящиков Дирихле к полиномам

$$R_{j+1}(x) = P_{j+1}(x) - P_1(x), \quad R_{j+1}(\omega) = P_{j+1}(\omega) - P_1(\omega). \quad (10)$$

Тогда найдутся не менее  $0,5Q^{\varepsilon_2}$  полиномов, у которых совпадают коэффициенты при  $t^n, t^{n-1}, \dots, t^{n-[m]+1}$ . Из (9) и (10) следует, что верна система неравенств

$$\left| R_j(t) \right| \ll Q^{1-p_1-l_2 T^{-1}-q_1-s_2 T^{-1}+(n-1)\varepsilon_1}, \quad \deg R_j(t) \leq v_1 + v_2 + l_2 T^{-1} + s_2 T^{-1} - 1 + (n-1)\varepsilon_2 \geq 2.$$

Если среди  $0,5Q^{\varepsilon}$  многочленов  $R_j(t)$  окажется хотя бы два без общих корней, то применим к ним теорему 1 и получим противоречие. Если таких многочленов нет, то полиномы  $R_j(t)$  будут приводимы и раскладываются на линейные множители, так как по (6) они имеют степень не более 2. Для линейных множителей теорема 2 устанавливается без труда. Если  $\varepsilon_2 < \{m\} < 1$ , то несколько увеличим  $\mu_1 I$  и  $\mu_3 K$ , чтобы для новых  $\Pi' = I_1 \times K$  получить  $\varepsilon_2(\Pi') \leq \varepsilon_2$ .

Доказательство теоремы 2 приведено в схематическом виде.

### Список использованных источников

1. Спринджук, В. Г. Проблема Малера в метрической теории чисел / В. Г. Спринджук. – Минск, 1967. – 181 с.
2. Metric Diophantine approximation: the Khintchine–Groshev theorem for nondegenerate manifolds / V. V. Beresnevich [et al.] // *Mosc. Math. J.* – 2002. – Vol. 2, N 2. – P. 203–225. <https://doi.org/10.17323/1609-4514-2002-2-2-203-225>
3. Бударина, Н. В. Метрическая теория совместных диофантовых приближений в  $\mathbb{R}^k \times \mathbb{C}^l \times \mathbb{Q}_p^m$  / Н. В. Бударина // *Чебышевский сб.* – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 17–50.
4. Kleinbock, D. Y. Flows on Homogeneous Spaces and Diophantine Approximation on Manifolds / D. Y. Kleinbock, G. A. Margulis // *Annals of Mathematics.* – 1998. – Vol. 148, N 1. – P. 339–360. <https://doi.org/10.2307/120997>
5. Берник, В. И. Метрическая теорема о совместном приближении нуля значениями целочисленных многочленов / В. И. Берник // *Изв. АН СССР, сер. математ.* – 1980. – Т. 44, № 1. – С. 24–45.
6. Спринджук, В. Г. Достижения и проблемы теории диофантовых приближений / В. Г. Спринджук // *Успехи мат. наук.* – 1980. – Т. 35, № 4. – С. 3–68.
7. Вклад Йонаса Кубилиуса в метрическую теорию диофантовых приближений зависимых переменных / В. В. Бересневич [и др.] // *Журн. БГУ. Математика. Информатика.* – 2021. – № 3. – С. 34–50.
8. Khintchine, A. Einige Sätze über Kettenbrüche, mit Anwendungen auf die Theorie der Diophantischen Approximationen / A. Khintchine // *Mathematische Annalen.* – 1924. – Vol. 92, N 1–2. – P. 115–125. <https://doi.org/10.1007/bf01448437>
9. Bernik, V. I. The exact order of approximating zero by values of integral polynomials / V. I. Bernik // *Acta Arith.* – 1989. – Vol. 53, N 1. – P. 17–28.
10. Beresnevich, V. On approximation of real numbers by real algebraic numbers / V. Beresnevich // *Acta Arith.* – 1999. – Vol. 90, N 2. – P. 97–112. <https://doi.org/10.4064/aa-90-2-97-112>
11. Берник, В. И. Теорема Хинчиновского типа для целочисленных полиномов от комплексной переменной / В. И. Берник, Д. В. Васильев // *Тр. Ин-та математики.* – 1999. – № 3. – С. 10–20.
12. Beresnevich, V. V. On approximation of  $p$ -adic numbers by  $p$ -adic algebraic numbers / V. V. Beresnevich, V. I. Bernik, E. I. Kovalevskaya // *J. Number Theory.* – 2005. – Vol. 111, N 1. – P. 33–56. <https://doi.org/10.1016/j.jnt.2004.09.007>
13. Берник, В. И. Применение размерности Хаусдорфа в теории диофантовых приближений / В. И. Берник // *Acta Arith.* – 1983. – Vol. 42, N 3. – P. 219–253.
14. Берник, В. И. Приближение нуля значениями целочисленных полиномов в пространстве  $\mathbb{R} \times \mathbb{C} \times \mathbb{Q}_p$  / В. И. Берник, Н. И. Калоша // *Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. физ.-мат. навук.* – 2004. – № 1. – С. 121–123.
15. Bernik, V. I. Metric Diophantine approximation on manifolds / V. I. Bernik, M. M. Dodson // *Cambridge Tracts in Mathematics.* – 1999. – N 137. – 172 p. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511565991>

### References

1. Sprindzhuk V. G. *Mahler's problem in metric number theory*. Minsk, 1967. 181 p. (in Russian).
2. Beresnevich V. V., Bernik V. I., Kleinbock D. Y., Margulis G. A. Metric Diophantine approximation: the Khintchine–Groshev theorem for nondegenerate manifolds. *Moscow Mathematical Journal*, 2002, vol. 2, no. 2, pp. 203–225. <https://doi.org/10.17323/1609-4514-2002-2-2-203-225>
3. Budarina N. V. Metric theory of joint diophantine approximations in  $\mathbb{R}^k \times \mathbb{C}^l \times \mathbb{Q}_p^m$ . *Chebyshevskii sbornik = Chebyshev collection*, 2011, vol. 12, no. 1, pp. 17–50 (in Russian).
4. Kleinbock D. Y., Margulis G. A. Flows on Homogeneous Spaces and Diophantine Approximation on Manifolds. *Annals of Mathematics*, 1998, vol. 148, no. 1, pp. 339–360. <https://doi.org/10.2307/120997>
5. Bernik V. I. A Metric theorem on the simultaneous approximation of a zero by the values of integral polynomials. *Mathematics of the USSR – Izvestiya*, 1981, vol. 16, no. 1, pp. 21–40. <https://doi.org/10.1070/im1981v016n01abeh001292>
6. Sprindzhuk V. G. Achievements and problems in diophantine approximation theory. *Russian Mathematical Surveys*, 1980, vol. 35, no. 4, pp. 1–80. <https://doi.org/10.1070/rm1980v035n04abeh001861>
7. Beresnevich V. V., Bernik V. I., Götze F., Zaslavovich E. V., Kalosha N. I. Contribution of Jonas Kubilius to the metric theory of Diophantine approximation of dependent variables. *Journal of the Belarusian State University. Mathematics and Informatics*, 2021, no. 3, pp. 34–50 (in Russian).
8. Khintchine A. Einige Sätze über Kettenbrüche, mit Anwendungen auf die Theorie der Diophantischen Approximationen. *Mathematische Annalen*, 1924, vol. 92, no. 1–2, pp. 115–125 (in German). <https://doi.org/10.1007/bf01448437>
9. Bernik V. I. The exact order of approximating zero by values of integral polynomials. *Acta Arithmetica*, 1989, vol. 53, no. 1, pp. 17–28.

10. Beresnevich V. On approximation of real numbers by real algebraic numbers. *Acta Arithmetica*, 1999, vol. 90, no. 2, pp. 97–112. <https://doi.org/10.4064/aa-90-2-97-112>
11. Bernik V. I., Vasiliev D. V. A Hinchin type theorem for integer polynomials in a complex variable. *Trudy Instituta matematiki = Proceedings of the Institute of Mathematics*, 1999, no. 3, pp. 10–20 (in Russian).
12. Beresnevich V. V., Bernik V. I., Kovalevskaya E. I. On approximation of  $p$ -adic numbers by  $p$ -adic algebraic numbers. *Journal of Number Theory*, 2005, vol. 111, no. 1, pp. 33–56. <https://doi.org/10.1016/j.jnt.2004.09.007>
13. Bernik V. I. Application of Hausdorff dimension in the theory of Diophantine approximation. *Acta Arithmetica*, 1983, vol. 42, no. 3, pp. 219–253 (in Russian).
14. Bernik V. I., Kalosha N. I. Approximations of zero by the values of integer polynomials in space  $\mathbb{R} \times \mathbb{C} \times \mathbb{Q}_p$ . *Vestsi Natsyional'noi akademii navuk Belarusi. Seryia fizika-matematychnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physics and Mathematics series*, 2004, no. 1, pp. 121–123 (in Russian).
15. Bernik V. I., Dodson M. M. *Metric Diophantine Approximation on Manifolds*. Cambridge Tracts in Mathematics, 1999, no. 137. 172 p. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511565991>

### Информация об авторах

*Берник Василий Иванович* – д-р физ.-мат. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [bernik.vasili@mail.ru](mailto:bernik.vasili@mail.ru).

*Васильев Денис Владимирович* – канд. физ.-мат. наук. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [vasilyev@im.bas-net.by](mailto:vasilyev@im.bas-net.by).

*Калоса Николай Иванович* – канд. физ.-мат. наук. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [kalosha@im.bas-net.by](mailto:kalosha@im.bas-net.by).

*Пантелеева Жанна Ивановна* – аспирант. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [janna-85@list.ru](mailto:janna-85@list.ru).

### Information about the authors

*Bernik Vasily I.* – D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Chief Researcher. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [bernik.vasili@mail.ru](mailto:bernik.vasili@mail.ru).

*Vasilyev Denis V.* – Ph. D. (Physics and Mathematics). Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [vasilyev@im.bas-net.by](mailto:vasilyev@im.bas-net.by).

*Kalosha Nikolay I.* – Ph. D. (Physics and Mathematics). Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [kalosha@im.bas-net.by](mailto:kalosha@im.bas-net.by).

*Panteleeva Zhanna I.* – Postgraduate Student. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [janna-85@list.ru](mailto:janna-85@list.ru).

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

**ФИЗИКА**  
**PHYSICS**

УДК 538.911  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-279-286>

Поступило в редакцию 06.06.2023  
Received 06.06.2023

**Д. В. Карпинский<sup>1,2</sup>, С. И. Латушко<sup>1</sup>, Д. В. Желудкевич<sup>1</sup>, А. Н. Чобот<sup>1</sup>, В. Ч. Круплевич<sup>3</sup>,  
В. К. Долгий<sup>3</sup>, Т. В. Латушко<sup>4</sup>, К. Н. Неклюдов<sup>2</sup>, М. В. Силибин<sup>2</sup>, Е. В. Будемко<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по материаловедению, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Национальный исследовательский университет электронной техники «МИЭТ», Зеленоград, Российская Федерация

<sup>3</sup>Белорусский государственный аграрный технический университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>4</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

**КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ И МАГНИТНАЯ СТРУКТУРЫ ТВЕРДЫХ РАСТВОРОВ  
НА ОСНОВЕ  $\text{BiFeO}_3$**

(Представлено членом-корреспондентом В. М. Федосюком)

**Аннотация.** Исследование корреляции между многофазным состоянием системы и ее магнитными свойствами было проведено на керамических образцах  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  с  $0,12 \leq x \leq 0,18$ . Результаты рентгеновской дифракции свидетельствуют о том, что с увеличением концентрации ионов Eu наблюдается структурный переход от ромбоэдрической ( $R3c$ ) к неполярной орторомбической ( $Pnma$ ) фазе через частичное образование антиполярной орторомбической структуры ( $Pbam$ ). Смешанное фазовое состояние в полученных соединениях наблюдается в интервале  $0,12 \leq x \leq 0,16$ . Магнитные измерения в сильном магнитном поле указывают на слабое ферромагнитное взаимодействие. Магнитный отклик в сильном поле объясняется расположением спинов на фазовой границе, а также наличием собственных антиферромагнитных спинов.

**Ключевые слова:** мультиферроики, ионы-заместители, твердые растворы, рентгеновская дифракция, структурные фазовые переходы

**Для цитирования.** Кристаллическая и магнитная структуры твердых растворов на основе  $\text{BiFeO}_3$  / Д. В. Карпинский [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 279–286. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-279-286>

**Dmitry V. Karpinsky<sup>1,2</sup>, Siarhei I. Latushka<sup>1</sup>, Dmitry V. Zheludkevich<sup>1</sup>, Aleksandra N. Chobot<sup>1</sup>, Valery C. Kruplevich<sup>3</sup>,  
Valery K. Dolgiy<sup>3</sup>, Tatsiana V. Latushka<sup>4</sup>, Kapiton N. Neklyudov<sup>2</sup>, Maxim V. Silibin<sup>2</sup>, Egor V. Budemko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Scientific-Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>National Research University of Electronic Technology “MIET”, Zelenograd, Russian Federation

<sup>3</sup>Belarusian State Agrarian Technical University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>4</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**CRYSTAL AND MAGNETIC STRUCTURES OF SOLID SOLUTIONS BASED ON  $\text{BiFeO}_3$**

(Communicated by Corresponding Member Valeri M. Fedosyuk)

**Abstract.** The correlation between the multiphase state of the system and its magnetic properties was studied on  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  ceramic samples in the range  $0.12 \leq x \leq 0.18$ . The X-ray diffraction results indicate that, with an increase in the concentration of Eu ions, a structural transition from the rhombohedral ( $R3c$ ) to nonpolar orthorhombic ( $Pnma$ ) phase is observed through the partial formation of an antipolar orthorhombic structure ( $Pbam$ ). The mixed phase state in the obtained compounds is observed in the range  $0.12 \leq x \leq 0.16$ . Magnetic measurements in a strong magnetic field indicate a weak

ferromagnetic interaction. The magnetic response in a strong field is explained by the location of the spins at the phase boundary, as well as by the presence of intrinsic antiferromagnetic spins.

**Keywords:** multiferroics, dopant ions, solid solutions, X-ray diffraction, structural phase transitions

**For citation.** Karpinsky D. V., Latushka S. I., Zheludkevich D. V., Chobot A. N., Kruplevich V. C., Dolgiy V. K., Latushka T. V., Neklyudov K. N., Silibin M. V., Budemko E. V. Crystal and magnetic structures of solid solutions based on  $\text{BiFeO}_3$ . *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 279–286 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-279-286>

**Введение.** Понимание сосуществования структурных фаз является одним из основных принципов для раскрытия механизма пьезоэлектрического отклика, необычного магнитного поведения и физических свойств мультиферроиков со структурой перовскита, таких как  $\text{BiFeO}_3$  [1–3]. Однофазный  $\text{BiFeO}_3$  кристаллизуется в ромбоэдрической структуре  $R3c$ , что допускает противofазный октаэдрический наклон и внецентральное смещение катионов вдоль псевдокубического направления [111]. Кристаллическая структура  $\text{BiFeO}_3$  чувствительна к химическому замещению и эпитаксиальной деформации таким образом, что симметрия  $R3c$  может быть преобразована в другую при небольшом изменении концентрации замещающей примеси. Следовательно, модификация кристаллической структуры также будет влиять на сегнетоэлектрические и ферромагнитные свойства этого соединения. В общем случае химическое замещение может вызвать фазовый переход в неполярную орторомбическую структуру (для случая замещения ионами Eu, Tb, Dy) и в антиполярную орторомбическую структуру (при замещении ионами La, Pr, Nd) [4; 5]. Несмотря на значительное усиление магнитных свойств, сегнетоэлектрические свойства  $\text{BiFeO}_3$  исчезают в орторомбических фазах (симметрии  $Pbam$ ,  $Pbnt$  и  $Pnma$ ). Фазовый переход от полярной  $R3c$  к полярной  $Pn2_1a$  (подгруппа  $Pnma$ ) симметрии был представлен в [6; 7].

Существование нецентросимметричной фазы  $Pn2_1a$  на фазовой диаграмме  $\text{BiFeO}_3$  могло бы препятствовать исчезновению сегнетоэлектрических свойств. Однако большинство авторов в своих работах не дают четкого доказательства причин сегнетоэлектрического и пьезоэлектрического откликов в соответствии со структурным анализом. Недавно было проведено исследование твердых растворов системы  $\text{BiFeO}_3$ , в которых обнаружено сосуществование фаз (так называемая морфотропная фазовая граница – МФГ) [8–10]. В таких твердых растворах сочетание полярной  $R3c$  симметрии с другими симметриями сохраняет сегнетоэлектрические свойства, а слабый ферромагнетизм проявляется при разрушении циклоидальной спиновой структуры. Однако механическое напряжение, вызванное несоответствием решеток сосуществующих структурных фаз, обычно вызывает метастабильное состояние фазы  $R3c$ , поскольку она претерпевает изотермический структурный переход при комнатной температуре.

Явление изотермического структурного перехода было заявлено ранее для соединений  $\text{BiFeO}_3$ , легированных редкоземельными элементами [11; 12]. Авторами этих работ показано, что соединения с химическим составом, близким к морфотропной фазовой границе, подвергаются фазовому переходу из метастабильной ромбоэдрической структуры в орторомбическую, происходящему под действием внешнего механического давления или времени. При этом переход обратим после отжига соединений при температурах  $\sim 300\text{--}600$  °C или при воздействии внешнего электрического поля. Самофазовый переход кристаллической структуры нарушает стабильность работы магнитоэлектрических устройств с использованием мультиферроидного материала  $\text{BiFeO}_3$ . Следовательно, метастабильное состояние фазы  $R3c$  должно быть полностью изучено в рамках морфотропной фазовой границы.

Структурный фазовый переход и мультиферроидные свойства  $\text{BiFeO}_3$ , с ионами-заместителями Eu, были исследованы несколькими группами ученых. Фазовый переход соединений  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  выявлен в различных кристаллических структурах, таких как симметрии  $Pn2_1a$ ,  $Pbnt$  и  $Pnma$ . Симметрии  $Pbnt$  и  $Pnma$  являются неполярными фазами и демонстрируют сходную картину рентгеновской дифракции. Симметрия  $Pnma$  изоструктурна  $\text{ReFeO}_3$  (Re – редкоземельные элементы). По этой причине данная симметрия часто использовалась для описания кристаллической симметрии соединений при высокой концентрации легирования Eu ( $x \geq 0,2$ ). Изотермический структурный переход фазы  $R3c$  в рамках морфотропной фазовой границы может приводить к изменению физических свойств, связанных с изменением спиновой структуры.



Цель работы – исследование метастабильного состояния системы  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  в области морфотропной фазовой границы для более глубокого понимания причин возникновения сегнетоэлектрического и пьезоэлектрического откликов.

**Материалы и методы исследования.** Образцы  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  получены твердофазным методом с концентрацией ионов Eu  $0,12 \leq x \leq 0,18$  с шагом 0,02. Высокочистые оксиды  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Eu}_2\text{O}_3$  и  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  взвешивали в заданном стехиометрическом соотношении и тщательно перемешивали в планетарной мельнице в течение 2 ч. Образцы прессовали в таблетки и проводили предварительный синтез при  $800^\circ\text{C}$  в течение 12 ч на воздухе. После первой термообработки все образцы повторно измельчали в течение 2 ч, а затем прессовали в таблетки, которые спекали на воздухе при  $850^\circ\text{C}$  в течение 12 ч со скоростью нагрева  $5^\circ\text{C}/\text{мин}$ . Рентгеновские дифрактограммы (XRD) регистрировали на дифрактометре Дрон-3М, оборудованном источником излучения Cu-K $\alpha$  ( $\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$ ). Данные рентгенофазового анализа были обработаны методом Ритвельда с использованием программы FullProf. Исследования методом сканирующей электронной микроскопии проводились с помощью установки Zeiss Evo 10, а измерения намагниченности – на VSM LakeShore 7400.

**Результаты и их обсуждение.** Кристаллическая структура и фазовая чистота твердых растворов  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  были определены на основе данных XRD при комнатной температуре (рис. 1). Рентгенограммы всех образцов показывают узкие пики с высокой интенсивностью, что подтверждает непрерывное образование твердого раствора посредством замещения ионами  $\text{Eu}^{3+}$  ( $r \sim 1,07 \text{ \AA}$ ) ионов  $\text{Bi}^{3+}$  ( $r \sim 1,17 \text{ \AA}$ ) и формирование качественных образцов. Кроме того, эволюция дифракционных профилей и относительная интенсивность спектров подразумевают фазовый переход, обусловленный замещающими ионами Eu.

Соединение с содержанием Eu в количестве 12 мол. % характеризуется почти однофазной структурой с ромбоэдрическим искажением, описанным пространственной группой  $R3c$  (метрика  $\sqrt{2}ap \cdot \sqrt{2}ap \cdot 2\sqrt{3}ap$ , где  $ap$  – параметр псевдокубической элементарной ячейки), которая специфична для начального состава  $\text{BiFeO}_3$ . Тщательный анализ дифракционной картины позволил выявить небольшое количество антиполярной орторомбической фазы, описанной пространственной группой  $Pbam$  ( $\sqrt{2}ap \cdot 2\sqrt{2}ap \cdot 2ap$ ). Дальнейшее химическое замещение до 16 мол. % содержания Eu ведет к образованию орторомбической фазы, описанной неполярной пространственной группой  $Pnma$  ( $\sqrt{2}ap \cdot 2ap \cdot \sqrt{2}ap$ ), что подтверждено дополнительными рефлексам, появляющимися на дифрактограмме и индексированными как  $(111)Pnma$  и  $(210)Pnma$ . Дифракционная

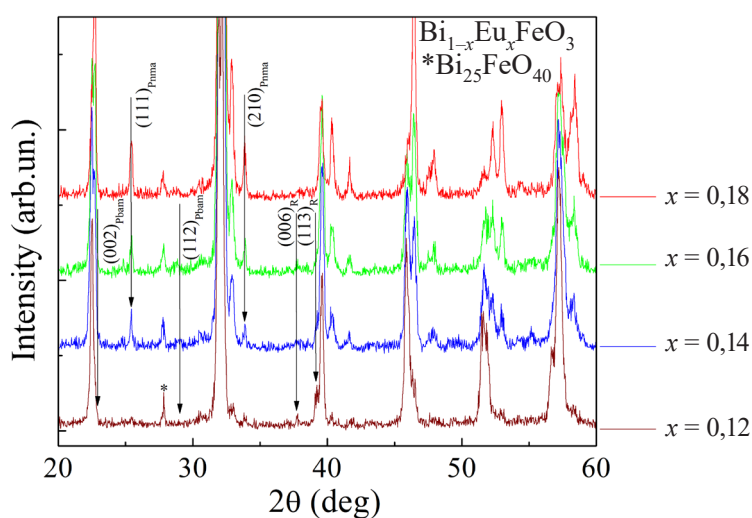


Рис. 1. Рентгенограммы образцов  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$ . Рефлексы, характерные для разных структурных фаз, обозначены вертикальными линиями; значения отношения фаз указаны в правом верхнем углу

Fig. 1. X-ray patterns of  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  samples. Reflections characteristic of different structural phases are indicated by vertical lines; phase ratio values are indicated in the top right corner

картина соединения с  $0,14 \leq x \leq 0,16$  была уточнена с использованием модели, предполагающей сосуществование всех трех структурных фаз. При более высоких концентрациях ионов-заместителей рефлексы, специфичные для ромбоэдрической фазы, уменьшаются до интенсивности, при которой пики, специфичные для неполярной орторомбической фазы, становятся более выраженными, а именно,  $(111)Pnma$  и  $(210)Pnma$ . В соединении с  $x = 0,18$  фаза  $R3c$  полностью исчезает. Следует отметить, что расчет точного количества фазы  $Pbam$  затруднен, так как наблюдается перекрытие рефлексов сосуществующих фаз, но предполагается, что ее объемная доля достигает максимального значения (около 15 %) в соединении с  $x = 0,14$  и сохраняется в соединениях с  $x \leq 0,16$ . Профиль дифракции соединения  $x = 0,18$  был утончен с использованием однофазной модели, предполагающей неполярную орторомбическую структуру  $Pnma$ . Таким образом, замещение ионов  $Vi$  ионами  $Eu$  вызывает постепенный структурный переход из  $R3c$ -фазы в фазу  $Pnma$  посредством частичного образования антиполярной орторомбической фазы  $Pbam$ . Смешанное структурное состояние относится к соединениям с  $x < 0,18$ . Полученные нами результаты хорошо согласуются с литературными данными [13; 14].

В таблице представлены параметры элементарной ячейки и объемная доля различных структурных фаз. Согласно результатам расчетов, морфотропная фазовая граница образуется в соединениях в диапазоне концентрации ионов-заместителей  $0,12 \leq x \leq 0,16$ . Центр морфотропной фазовой границы расположен в интервале  $0,14 \leq x \leq 0,16$ .

**Кристаллическая симметрия и параметры решетки соединений  $Vi_{1-x}Eu_xFeO_3$**

Образец	Фаза (%)	$a$ (Å)	$b$ (Å)	$c$ (Å)	$Vol_{prim}$ (Å <sup>3</sup> )
$x = 0,12$	$R3c$ (95 %)	5,5646		13,7990	61,675
	$Pbam$ (5 %)	5,5937	11,2541	7,8183	61,526
$x = 0,14$	$R3c$ (55 %)	5,5601	13,7846	61,513	5,5601
	$Pnma$ (30 %)	5,6892	7,8278	5,44587	60,406
	$Pbam$ (15 %)	5,5879	11,2067	7,8130	61,158
$x = 0,16$	$R3c$ (30 %)	5,5607		13,7702	61,457
	$Pnma$ (60 %)	5,6584	7,8067	5,4411	60,089
	$Pbam$ (10 %)	5,5691	11,1161	7,7904	60,284
$x = 0,18$	$Pnma$	5,6031	7,8027	5,4404	59,503

Анализ данных сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) позволил оценить морфологию соединений, а также размер частиц и кристаллитов в зависимости от содержания  $Eu$  (рис. 2). Кристаллиты, оцененные программой ImageJ, показывают уменьшение среднего размера с увеличением концентрации ионов  $Eu$  от  $\sim 0,48$  мкм для соединения с  $x = 0,12$  до  $\sim 0,39$  мкм для соединения с  $x = 0,18$ .

Наблюдаемое снижение среднего размера кристаллитов, скорее всего, вызвано слабой химической реакционной способностью ионов  $Eu$  по сравнению с ионами  $Vi$  и снижением переноса массы кристаллитов, полученных в процессе синтеза. Распределение различных химических элементов в кристаллитах оценивали на основании данных, полученных с помощью измерений методом энергодисперсионной спектроскопии. Полученные результаты указывают на однородное распределение элементов внутри кристаллитов даже для соединений со смешанным структурным состоянием. Отклонение концентрации ионов  $Vi/Eu$  от номинального химического состава составляет около 1–1,5 % для соединений с почти однофазным структурным состоянием ( $x = 0,12$  и  $x = 0,18$ ), в то время как этот параметр увеличивается до 2–3 % для соединений с  $x = 0,14$  и  $x = 0,16$ , рассчитанных с учетом трех структурных фаз в соответствии с данными рентгенофазового анализа. Упомянутое распределение химических элементов по-прежнему подтверждает высокую химическую гомогенность соединений несмотря на смешанное структурированное состояние.

Магнитные свойства соединений  $Vi_{1-x}Eu_xFeO_3$  были определены по характеру зависимости намагниченности от магнитного поля (рис. 3).

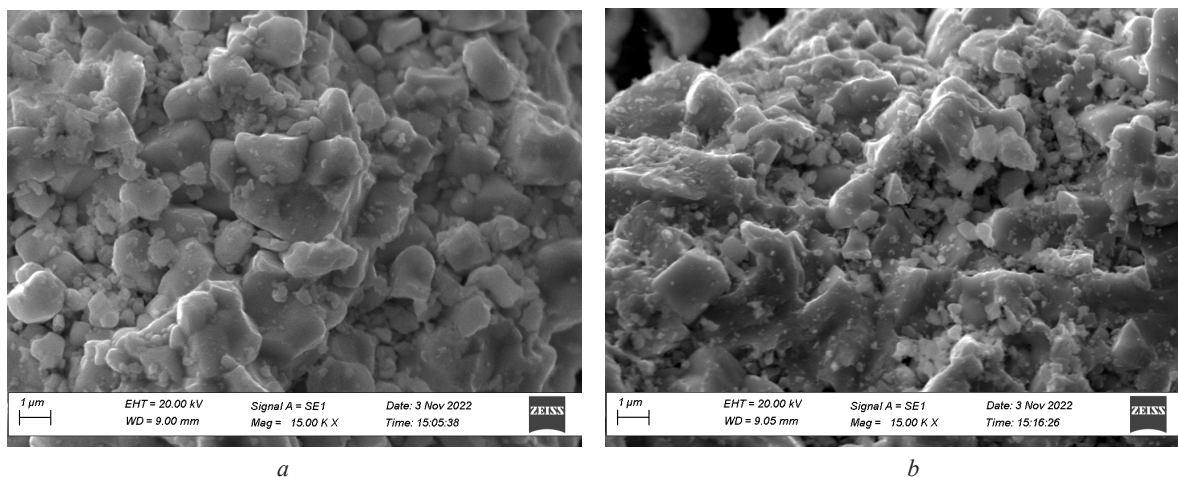


Рис. 2. СЭМ-изображения соединений  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  с  $x = 0,14$  (a) и  $x = 0,18$  (b), представленные с одинаковым увеличением

Fig. 2. SEM images of  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  compounds with  $x = 0.14$  (a) and  $x = 0.18$  (b), presented with the same magnification

Как видно из рис. 3, в соединениях  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  отчетливо наблюдается слабый ферромагнетизм основного антиферромагнитного (АФМ) состояния, поскольку кривые  $M(H)$  демонстрируют разомкнутую петлю гистерезиса с высокой коэрцитивной силой ( $H_c$ ) и малой остаточной намагниченностью ( $M_r$ ) ниже 1 emu/g. Увеличение концентрации Eu усиливает слабое ферромагнитное поведение соединения, что выражается в уширении петель и повышении остаточной и результирующей намагниченности. Величина  $M_r$  возрастает с увеличением количества ионов европия и достигает максимального значения 0,29 emu/g при  $x = 0,18$ . Магнитные свойства керамики на основе  $\text{BiFeO}_3$  с ионами-заместителями Eu в сильном внешнем магнитном поле ( $H = 14$  Тл) подтверждены другими исследователями. Остаточная намагниченность выше 0,25 emu/g свидетельствует о том, что циклоидальная модуляция, наложенная на структуру G-типа АФМ состояния, подавляется путем замещения позиций ионов  $\text{Bi}^{3+}$  немагнитными ионами  $\text{Eu}^{3+}$ , поскольку эта величина сравнима с полным разрушением спиновой циклоиды в орторомбической фазе. Удивительно, что намагниченность имеет максимальное значение на границе фазы  $R3c/Pnma$  вместо монотонного увеличения по границе фазы симметрии  $R3c/Pn2_1a$ . Различная реакция

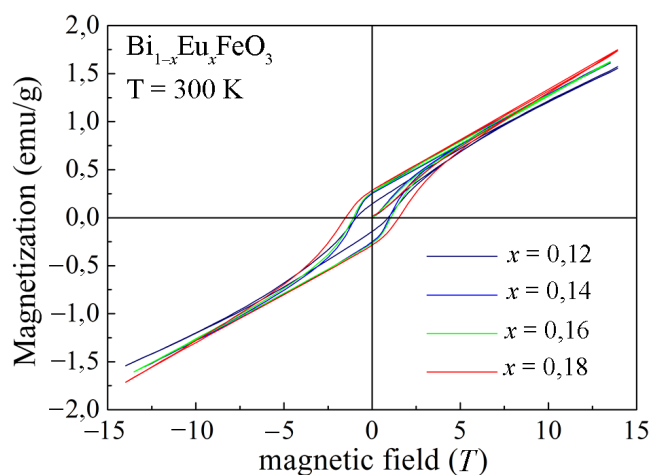


Рис. 3. Петли гистерезиса  $M(H)$  образцов  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$ , измеренные при комнатной температуре

Fig. 3. Hysteresis loops  $M(H)$  of  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  samples measured at room temperature

намагниченности относительно областей МФГ может быть результатом особой характеристики магнитной структуры и/или активации ферромагнетизма на фазовой границе. Фрустрация магнитных взаимодействий на границе двух структурных фаз может быть активирована для получения локальных ферромагнитных моментов в области морфотропной фазовой границы. Ферромагнетизм фазовых границ был объяснен магнитным старением [12]. Кроме того, спины на фазовой границе (магнитные взаимодействия на границе фаз) и локальная структура также влияют на магнитный отклик керамики  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  таким образом, что существует возможность наблюдения устойчивых или заземленных петель гистерезиса в зависимости от однородного или неоднородного распределения ионов  $\text{Eu}^{3+}$  в решетке  $\text{BiFeO}_3$ . Петли гистерезиса, отчетливо наблюдаемые в настоящей работе, указывают на то, что соединение  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  сформировалось в гомогенном твердом растворе. По этой причине спектры рассеяния выбранной области не могут захватить индивидуальное фононное колебание симметрий  $R3c$ ,  $Pbam$  и  $Pnma$ .

**Заключение.** Проведено исследование структурно-фазовой эволюции керамики  $\text{BiFeO}_3$  с замещением ионов  $\text{Bi}^{3+}$  ионами  $\text{Eu}^{3+}$ . Показано, что фазовый переход от ромбоэдрической  $R3c$  к орторомбической структуре  $Pnma$  происходит через частичное образование антиполярной орторомбической фазы  $Pbam$ . Согласно результатам расчетов, морфотропная фазовая граница образуется в соединениях  $\text{Bi}_{1-x}\text{Eu}_x\text{FeO}_3$  в диапазоне концентрации ионов-заместителей  $0,12 \leq x \leq 0,16$ . Центр фазовой границы расположен в интервале  $0,14 \leq x \leq 0,16$ . Магнитные измерения при 14 Тл показывают слабое ферромагнитное поведение исследованных составов. Магнитный отклик в сильном поле объясняется расположением спинов на фазовой границе и собственными антиферромагнитными спинами.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке БРФФИ (проект Ф21PM-018) и РФФИ (проект 20-58-04003Бел\_мол\_а).

**Acknowledgements.** This work was supported by the BRFFR (project Ф21PM-18) and RFFR (project 20-58-04003Бел\_мол\_а).

### Список использованных источников

1. Reversible phase transition induced large piezoelectric response in Sm-doped  $\text{BiFeO}_3$  with a composition near the morphotropic phase boundary / Z. Liao [et al.] // *Phys. Rev. B*. – 2017. – Vol. 95, N 21. – Art. 214101. <https://doi.org/10.1103/physrevb.95.214101>
2. Ferroelectric  $\text{BiFeO}_3$  X-ray and neutron diffraction study / J. M. Moreau [et al.] // *J. Phys. Chem. Solids*. – 1971. – Vol. 32, N 6. – P. 1315–1320. [https://doi.org/10.1016/s0022-3697\(71\)80189-0](https://doi.org/10.1016/s0022-3697(71)80189-0)
3. Interplay of multiple structural phase and magnetic response of  $\text{Bi}_{1-x}\text{Pr}_x\text{FeO}_3$  ceramics / L. T. Ha [et al.] // *Ceram. Int.* – 2022. – Vol. 48, N 21. – P. 32027–32035. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.07.140>
4. Mumtaz, F. Peculiar magnetism in Eu substituted  $\text{BiFeO}_3$  and its correlation with local structure / F. Mumtaz, G. H. Jaffari, S. I. Shah // *J. Phys.: Condens. Matter*. – 2018. – Vol. 30, N 43. – Art. 435802. <https://doi.org/10.1088/1361-648x/aael0f>
5. Tailoring the dielectric and magnetic properties of Eu-substituted  $\text{BiFeO}_3$  nanoparticles / J. C. Cyriac [et al.] // *Mater. Today: Proc.* – 2020. – Vol. 25. – P. 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.12.186>
6. Transformation of  $\text{BiFeO}_3$  magnetic properties by Eu doping: magnetometry and Mössbauer studies / A. L. Zinnatullin [et al.] // *J. Solid State Chem.* – 2022. – Vol. 312. – Art. 123216. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2022.123216>
7. Arnold, D. C. Composition-driven structural phase transitions in rare-earth-doped  $\text{BiFeO}_3$  ceramics: a review / D. C. Arnold // *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*. – 2015. – Vol. 62, N 1. – P. 62–82. <https://doi.org/10.1109/tuffc.2014.006668>
8. Temperature and Composition-Induced Structural Transitions in  $\text{Bi}_{1-x}\text{La}(\text{Pr})_x\text{FeO}_3$  Ceramics / D. V. Karpinsky [et al.] // *J. Am. Ceram. Soc.* – 2014. – Vol. 97, N 8. – P. 2631–2638. <https://doi.org/10.1111/jace.12978>
9. Mn doping-induced structural and magnetic transformations in the antiferroelectric phase of the  $\text{Bi}_{1-x}\text{Nd}_x\text{FeO}_3$  perovskites / V. A. Khomchenko [et al.] // *J. Appl. Phys.* – 2012. – Vol. 112, N 6. – Art. 064105. <https://doi.org/10.1063/1.4752277>
10. Isothermal structural transitions, magnetization and large piezoelectric response in  $\text{Bi}_{1-x}\text{La}_x\text{FeO}_3$  perovskites / I. O. Troyanchuk [et al.] // *Phys. Rev. B*. – 2011. – Vol. 83, N 5. – Art. 054109. <https://doi.org/10.1103/physrevb.83.054109>
11. Influence of isothermal structural transition on the magnetic properties of Cr doped  $\text{Bi}_{0,86}\text{Nd}_{0,14}\text{FeO}_3$  multiferroics / P. T. Phong [et al.] // *J. Alloys Compd.* – 2020. – Vol. 823. – Art. 153887. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.153887>
12. Structural transformations and magnetic properties of  $\text{Bi}_{1-x}\text{Ln}_x\text{FeO}_3$  (Ln = La, Nd, Eu) multiferroics / I. O. Troyanchuk [et al.] // *Phys. Status Solidi B*. – 2009. – Vol. 246, N 8. – P. 1901–1907. <https://doi.org/10.1002/pssb.200945030>
13. Rao, T. D. Enhanced magnetization and improved insulating character in Eu substituted  $\text{BiFeO}_3$  / T. D. Rao, R. Ranjith, S. Asthana // *J. Appl. Phys.* – 2014. – Vol. 115, N 12. – Art. 124110. <https://doi.org/10.1063/1.4869775>
14. Evolution of structure and magnetic properties in  $\text{Eu}_x\text{Bi}_{1-x}\text{FeO}_3$  multiferroics obtained under high pressure / I. I. Makoed [et al.] // *J. Magn. Magn. Mater.* – 2019. – Vol. 489. – Art. 165379. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2019.165379>



## References

1. Liao Z., Xue F., Sun W., Song D., Zhang Q., Li J.-F., Chen L.-Q., Zhu J. Reversible phase transition induced large piezoelectric response in Sm-doped BiFeO<sub>3</sub> with a composition near the morphotropic phase boundary. *Physical Review B*, 2017, vol. 95, no. 21, art. 214101. <https://doi.org/10.1103/physrevb.95.214101>
2. Moreau J. M., Michel C., Gerson R., James W. J. Ferroelectric BiFeO<sub>3</sub> X-ray and neutron diffraction study. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 1971, vol. 32, no. 6, pp. 1315–1320. [https://doi.org/10.1016/s0022-3697\(71\)80189-0](https://doi.org/10.1016/s0022-3697(71)80189-0)
3. Ha L. T., Xuan C. T. A., Tam K. T., Co N. D., Quy B. M., Dang N. V., Phong P. T., Thang P. D., Long N. D., An P. M., Vinh N. D., Tho P. T. Interplay of multiple structural phase and magnetic response of Bi<sub>1-x</sub>Pr<sub>x</sub>FeO<sub>3</sub> ceramics. *Ceramics International*, 2022, vol. 48, no. 21, pp. 32027–32035. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.07.140>
4. Mumtaz F., Jaffari G. H., Shah S. I. Peculiar magnetism in Eu substituted BiFeO<sub>3</sub> and its correlation with local structure. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2018, vol. 30, no. 43, art. 435802. <https://doi.org/10.1088/1361-648x/aae10f>
5. Cyriac J., John J. C., Kalarikkal N., Augustine S. Tailoring the dielectric and magnetic properties of Eu-substituted BiFeO<sub>3</sub> nanoparticles. *Materials Today: Proceedings*, 2020, vol. 25, pp. 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.12.186>
6. Zinnatullin A. L., Nosov I. Yu., Cherosov M. A., Kiiamov A. G., Vagizov F. G. Transformation of BiFeO<sub>3</sub> magnetic properties by Eu doping: magnetometry and Mössbauer studies. *Journal of Solid State Chemistry*, 2022, vol. 312, art. 123216. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2022.123216>
7. Arnold D. C. Composition-driven structural phase transitions in rare-earth-doped BiFeO<sub>3</sub> ceramics: a review. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 2015, vol. 62, no. 1, pp. 62–82. <https://doi.org/10.1109/tuffc.2014.0066668>
8. Karpinsky D. V., Troyanchuk I. O., Tovar M., Sikolenko V., Efimov V., Efimova E., Shur V. Ya., Kholkin A. L. Temperature and Composition-Induced Structural Transitions in Bi<sub>1-x</sub>La(Pr)<sub>x</sub>FeO<sub>3</sub> Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*, 2014, vol. 97, no. 8, pp. 2631–2638. <https://doi.org/10.1111/jace.12978>
9. Khomchenko V. A., Troyanchuk I. O., Maria T. M. R., Karpinsky D. V., Das S., Amaral V. S., Paixão J. A. Mn doping-induced structural and magnetic transformations in the antiferroelectric phase of the Bi<sub>1-x</sub>Nd<sub>x</sub>FeO<sub>3</sub> perovskites. *Journal of Applied Physics*, 2012, vol. 112, no. 6, art. 064105. <https://doi.org/10.1063/1.4752277>
10. Troyanchuk I. O., Karpinsky D. V., Bushinsky M. V., Khomchenko V. A., Kakazei G. N., Araujo J. P., Tovar M., Sikolenko V., Efimov V., Kholkin A. L. Isothermal structural transitions, magnetization and large piezoelectric response in Bi<sub>1-x</sub>La<sub>x</sub>FeO<sub>3</sub> perovskites. *Physical Review B*, 2011, vol. 83, no. 5, art. 054109. <https://doi.org/10.1103/physrevb.83.054109>
11. Phong P. T., Salazar-Kuri U., Van H. T., Khien N. V., Dang N. V., Tho P. T. Influence of isothermal structural transition on the magnetic properties of Cr doped Bi<sub>0.86</sub>Nd<sub>0.14</sub>FeO<sub>3</sub> multiferroics. *Journal of Alloys and Compounds*, 2020, vol. 823, art. 153887. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.153887>
12. Troyanchuk I. O., Bushinsky M. V., Karpinsky D. V., Mantyskaya O. S., Fedotova V. V., Prochnenko O. I. Structural transformations and magnetic properties of Bi<sub>1-x</sub>Ln<sub>x</sub>FeO<sub>3</sub> (Ln = La, Nd, Eu) multiferroics. *Physica Status Solidi B*, 2009, vol. 246, no. 8, pp. 1901–1907. <https://doi.org/10.1002/pssb.200945030>
13. Rao T. D., Ranjith R., Asthana S. Enhanced magnetization and improved insulating character in Eu substituted BiFeO<sub>3</sub>. *Journal of Applied Physics*, 2014, vol. 115, no. 12, art. 124110. <https://doi.org/10.1063/1.4869775>
14. Makoed I. I., Amirov A. A., Liedienov N. A., Pashchenko A. V., Yanushkevich K. I., Yakimchuk D. V., Kaniukov E. Y. Evolution of structure and magnetic properties in Eu<sub>x</sub>Bi<sub>1-x</sub>FeO<sub>3</sub> multiferroics obtained under high pressure. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2019, vol. 489, art. 165379. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2019.165379>

## Информация об авторах

Карпинский Дмитрий Владимирович – д-р физ.-мат. наук, заведующий лабораторией. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: karpinsky@ifftp.bas-net.by.

Латушко Сергей Игоревич – мл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: smer444@mail.ru.

Желудкевич Дмитрий Викторович – мл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: geludkevichdima@mail.ru.

Чобот Александра Николаевна – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.n.chobot@tut.by.

Круплевич Валерий Чеславович – ст. преподаватель. Белорусский государственный аграрный технический университет (пр. Независимости, 99, 220023, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kruplevich@gmail.com.

## Information about the authors

Karpinsky Dmitry V. – D. Sc. (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: karpinsky@ifftp.bas-net.by.

Latushka Siarhei I. – Junior Researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: latushkasi@gmail.com.

Zheludkevich Dmitry V. – Junior Researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: geludkevichdima@mail.ru.

Chobot Aleksandra N. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior Researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.n.chobot@tut.by.

Kruplevich Valeriy C. – Senior Lecturer. Belarusian State Agrarian Technical University (99, Nezavisimosti Ave., 220023, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kruplevich@gmail.com.

*Долгий Валерий Казимирович* – канд. физ.-мат. наук, доцент. Белорусский государственный аграрный технический университет (пр. Независимости, 99, 220023, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [dolgiy.valeriy.ru](mailto:dolgiy.valeriy.ru).

*Латушко Татьяна Викторовна* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [latushkatv@gmail.com](mailto:latushkatv@gmail.com).

*Неклюдов Капитон Николаевич* – мл. науч. сотрудник. Национальный исследовательский университет электронной техники «МИЭТ» (пл. Шокина, 1, 124498, Зеленоград, Российская Федерация). E-mail: [neklyudovk@gmail.com](mailto:neklyudovk@gmail.com).

*Силибин Максим Викторович* – канд. техн. наук, доцент. Национальный исследовательский университет электронной техники «МИЭТ» (пл. Шокина, 1, 124498, Зеленоград, Российская Федерация). E-mail: [sil\\_m@mail.ru](mailto:sil_m@mail.ru).

*Будемко Егор Владимирович* – мл. науч. сотрудник НППЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [ebudemko132@gmail.com](mailto:ebudemko132@gmail.com).

*Dolgiy Valery K.* – Ph. D. (Physics and Mathematics), Assistant Professor. Belarusian State Agrarian Technical University (99, Nezavisimosti Ave., 220023, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [dolgiy.valeriy.ru](mailto:dolgiy.valeriy.ru).

*Latushka Tatsiana V.* – Ph. D. (Medicine), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [latushkatv@gmail.com](mailto:latushkatv@gmail.com).

*Neklyudov Kapiton N.* – Junior Researcher. National Research University of Electronic Technology “MIET” (1, Shokin Sq., 124498, Zelenograd, Russian Federation). E-mail: [neklyudovk@gmail.com](mailto:neklyudovk@gmail.com).

*Silibin Maxim V.* – Ph. D. (Engineering), Assistant Professor. National Research University of Electronic Technology “MIET” (1, Shokin Sq., 124498, Zelenograd, Russian Federation). E-mail: [sil\\_m@mail.ru](mailto:sil_m@mail.ru).

*Budemko Egor V.* – Junior Researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [ebudemko132@gmail.com](mailto:ebudemko132@gmail.com).



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

**ХИМИЯ**  
**CHEMISTRY**

УДК 534.29+616.12-008.334  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-287-294>

Поступило в редакцию 02.12.2022  
Received 02.12.2022

**И. Э. Адзерихо<sup>1</sup>, академик А. И. Кулак<sup>2</sup>, Т. Э. Владимирская<sup>1</sup>, Е. В. Леончик<sup>1</sup>,  
С. Н. Чур<sup>3</sup>, В. Т. Минченя<sup>4</sup>, С. В. Шилько<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск,  
Республика Беларусь

<sup>3</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>4</sup>Научно-технологический парк Белорусского национального технического университета «Политехник»,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>5</sup>Институт механики металлополимерных систем имени В. А. Белого  
Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

**ЭЛАСТИФИКАЦИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ СТЕНКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ  
ВЫСОКОИНТЕНСИВНОГО НИЗКОЧАСТОТНОГО УЛЬТРАЗВУКА**

**Аннотация.** Установлено существенное повышение эластичности бедренно-подколенных сегментов артерий *in vitro* в результате действия кавитации, генерированной мощным низкочастотным (24–26 кГц) ультразвуком, вводимым внутрь кровеносного сосуда гибким волноводом. Эластичность сосуда оценивалась как по прогибу под действием внешней силы, так и по степени его вазодилатации внутренним давлением, создаваемым расширяющимся баллоном. Показана возможность достижения более чем двукратного снижения модуля упругости сосудистой стенки после 30 с ультразвукового воздействия интенсивностью 31 Вт/см<sup>2</sup>. Установлено, что при амплитуде ультразвуковых колебаний 10 мкм имеет место повреждение сосудистой стенки в виде мелких фокусов отслоения и разрыва интимы, сопровождающееся расслоениями в медию с формированием полиморфных щелевидных полостей при увеличении амплитуды колебаний свыше 23 мкм.

**Ключевые слова:** артериальная стенка, эластичность, ультразвук, акустическая кавитация

**Для цитирования.** Эластификация артериальной стенки под действием высокоинтенсивного низкочастотного ультразвука / И. Э. Адзерихо [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 287–294. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-287-294>

**Igor E. Adzerikhо<sup>1</sup>, Academician Anatoly I. Kulak<sup>2</sup>, Tatyana E. Vladimirskaia<sup>1</sup>, Ekaterina V. Leonchik<sup>1</sup>,  
Sergey N. Chur<sup>3</sup>, Vladimir T. Minchenya<sup>4</sup>, Sergei V. Shil'ko**

<sup>1</sup>Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>4</sup>Scientific and Technological Park of the Belarusian National Technical University “Polytechnic”, Minsk,  
Republic of Belarus

<sup>5</sup>V. A. Bely Metal-Polymer Research Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus

**ELASTIFICATION OF THE ARTERIAL WALL BY HIGH-INTENSITY  
LOW-FREQUENCY ULTRASOUND**

**Abstract.** A significant increase in the elasticity of the femoropopliteal artery segments *in vitro* was found as a result of the action of cavitation generated by powerful low-frequency (24–26 kHz) ultrasound introduced into the vessel by a flexible waveguide. The vessel elasticity was evaluated both by the deflection under the action of an external force and by the degree of its expansion vasodilatation by the internal pressure created by the expanding balloon. The possibility of achieving a more than two-fold decrease in the vascular wall elasticity modulus after 30-s exposure to an ultrasound intensity of 31 W/cm<sup>2</sup> was

shown. It has been established that at the 10  $\mu\text{m}$  amplitude of ultrasonic vibrations, vascular wall damage occurs in the form of small foci of detachment and rupture of the intima accompanied by delamination in the media layer, when polymorphic slit-like cavities are formed with an increase in the amplitude of oscillations above 23  $\mu\text{m}$ .

**Keywords:** arterial wall, elasticity, ultrasound, acoustic cavitation

**For citation.** Adzerikho I. E., Kulak A. I., Vladimirskaia T. E., Leonchik E. V., Chur S. N., Minchenya V. T., Shil'ko S. V. Elastification of the arterial wall by high-intensity low-frequency ultrasound. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 287–294 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-287-294>

**Введение.** Дисфункция эндотелия, гипергликемия, дислипидемия являются важнейшими пусковыми механизмами увеличения жесткости сосудистой стенки, что вызывает снижение эластичности артерий и ухудшение гемодинамики. Прогрессирующее увеличение артериальной жесткости стенки обусловлено диффузным утолщением интимы, ремоделированием эндотелия, изменением внеклеточного матрикса, ростом содержания коллагена при уменьшении доли эластина, фрагментацией эластической мембраны, фиброзом и кальцификацией [1]. Гистологическое исследование интимы пораженных сосудов выявляет аномальные эндотелиальные клетки, поврежденные молекулы эластина при увеличенном содержании коллагена, инфильтрацию клеток гладкой мускулатуры сосудов, макрофаги и мононуклеарные клетки, а также повышение количества матриксных металлопротеиназ, трансформирующего фактора роста и цитокинов [1; 2]. Установлена взаимосвязь между изменениями эластичности сосудистой стенки и развитием атеросклеротического процесса [3].

Известно, что внутрисосудистое воздействие низкочастотного (20–100 кГц) высокоинтенсивного ультразвука (УЗ) позволяет эффективно разрушать не только тромботические образования, но и атеросклеротические бляшки [4], включая наиболее устойчивые фиброзные и кальцифицированные атеросклеротические окклюзии. При этом вследствие существенных различий в их эластичности достигается избирательное разрушение окклюзионного материала при минимизации повреждения окружающей артериальной стенки.

С другой стороны, в ряде работ было установлено, что УЗ воздействие вызывает вазодилатацию и расширение коронарных сосудов у собак [5], поверхностных бедренных [6] и плечевых [7] артерий человека. Механизм такого действия ультразвука связывается как с индуцируемым кавитацией высвобождением сосудорасширяющих агентов из эндотелиальных клеток [8], так и независимой от эндотелия релаксацией мышечных клеток [9].

Таким образом, воздействие ультразвука на артерии носит комплексный характер и определяется действием кавитации, генерируемой высокоинтенсивным ультразвуком, на интимальную (эндотелиальную) и на медиальную части сосуда, вызывая как обратимое сосудорасширение, так и необратимое разрушение эндотелиального слоя и более глубоких тканей сосудистой стенки при высокой интенсивности УЗ. Логично ожидать, что такое комплексное действие УЗ кавитации может сказываться и на эластичности артериальной стенки, о чем упоминается, в частности, авторами работы [10], обнаружившими повышение растяжимости сосуда при проведении баллонной вазодилатации после УЗ воздействия. Именно этот факт представляется нам весьма интересным в связи с поиском путей снижения ригидности артерий в патологических состояниях, сопряженных либо обуславливающих окклюзионные заболевания сосудистой системы.

С учетом данного обстоятельства, цель настоящей работы состояла в экспериментальном установлении степени изменения эластичности сосудов *in vitro* под действием высокоинтенсивного низкочастотного УЗ с использованием гибкой катетерной волноводной системы, ранее использовавшейся нами для разрушения тромбов *in vivo* [11] и фибриновых сгустков *in vitro* [12; 13].

**Экспериментальная часть.** Ультразвуковое воздействие на сегменты сосудов (артерий), погруженных в физиологический раствор, проводили на частоте 24–26 кГц со скажностью 50 % с использованием генератора электрической мощностью 80 Вт, снабженного пьезокерамическим преобразователем и гибким стальным волноводом длиной 40 см с торцевой частью в виде полусферы диаметром 0,8 мм («Политехник», Беларусь). Удельная акустическая мощность  $I_0$  на выходе излучателя находилась в пределах 28–32 Вт/см<sup>2</sup> и определялась калориметрическим

методом по степени нагрева определенного объема воды ( $10 \text{ см}^3$ ) в термоизолированном сосуде с использованием зависимости

$$I_0 = \frac{C_p M_w \Delta T}{\Delta t S_t},$$

где  $C_p$  – теплоемкость воды ( $4,18 \text{ Дж}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{К}^{-1}$ );  $M_w$  – масса воды;  $\Delta T$  – увеличение температуры воды за время УЗ экспозиции  $\Delta t$ ;  $S_t$  – площадь рабочей части волновода, погруженной в воду.

Исследование проводили на бедренно-подколенных сегментах артерий с внутренним диаметром 6–9 мм, изъятых во время аутопсии в патологоанатомическом бюро. Сосуды транспортировались в 0,9 %-ном изотоническом растворе, эксперимент проводился в течение не более 6 ч после аутопсии. Эластичность сосудистой стенки в области УЗ воздействия оценивали по величине деформации сосудистых сегментов шириной 5–10 мм двумя методами: под действием вертикально направленной нагрузки  $F$ , действующей на внешнюю поверхность сегмента, и по зависимости диаметра сосуда от давления  $P$  находящегося в нем баллона. Деформацию сосуда в окружном направлении  $\varepsilon$  определяли по разности величин внешнего диаметра в исходном состоянии  $D_0$  и после нагружения  $D(F, P)$ :

$$\varepsilon = [D_0 - D(F, P)] / D_0.$$

Поскольку форма исследуемых сегментов сосудов не является строго цилиндрической (особенно по наружной поверхности), использовались значения диаметра  $D_a$ , усредненные по 4 поперечным сечениям с угловым шагом  $45^\circ$ . Следует отметить, что параметр  $D_a$  можно считать диаметром сосуда лишь в исходном ( $D_0$ ) либо слабodeформированном состоянии, а при значительных отклонениях поперечного сечения сосуда от кольцевой формы под параметром  $D_a$  будет подразумеваться размер поперечного сечения в направлении действующей нагрузки.

Для гистологического изучения с морфометрическим анализом участок, подвергавшийся УЗ воздействию, иссекали, и фрагменты артерий фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалине. Затем их промывали проточной водой и обезживали этиловым спиртом восходящей концентрации (от 70, 80, 96 % до абсолютного спирта). Далее материал заливали в парафин, изготавливали срезы толщиной 3 мкм, которые окрашивали гематоксилином-эозином. Микропрепараты изучали на световом микроскопе Axio Imager (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) при увеличении  $\times 100$  не менее чем в 10 полях зрения по каждому препарату.

**Результаты и их обсуждение.** В области относительно небольших измерительных усилий ( $0 < F < 0,04 \text{ Н}$ ) полученные зависимости  $D_a(F)$  можно считать линейными с наклоном  $dD_a / dF = 5,5 \text{ см/Н}$  и  $R^2 = 0,997$  (рис. 1, участок I кривой I). В этом нагрузочном диапазоне средний поперечный размер сосуда  $D_a = 0,84 \text{ см}$  уменьшается до  $0,61 \text{ см}$  (73 % его исходного значения). В интервале нагрузки  $0,04 < F < 0,12 \text{ Н}$  (участок II) происходит дальнейшее уменьшение  $D_a$  до  $0,41 \text{ см}$  (49 % от исходного значения), причем зависимость  $D_a(F)$  является выражено нелинейной. При сжимающем усилии свыше  $0,12 \text{ Н}$  (участок III) нагрузочная кривая выходит на насыщение, а предельному усилию  $0,22 \text{ Н}$  соответствует  $D_a = 0,34 \text{ см}$ , что равно удвоенной толщине стенки деформированного сосуда.

В результате УЗ обработки сегмента сосуда происходят существенные изменения зависимости  $D_a(F)$  во всем диапазоне нагрузки (рис. 1, кривая 2). На линейном участке I ( $0 < F < 0,03 \text{ Н}$ ) наблюдается резкое до  $13,1 \text{ см/Н}$  ( $R^2 = 0,986$ ) увеличение наклона кривой  $dD_a / dF$  и 55 %-ное уменьшение поперечного размера сосуда. На нелинейном участке II параметр  $D_a$  снижается до 32 % от исходного значения и при насыщении на участке III становится равным  $0,23 \text{ см}$ .

Анализ нагрузочных кривых, приведенных на рис. 1, позволяет заключить, что УЗ воздействие приводит к существенному (в 2,4 раза) увеличению наклона линейного участка нагрузочной кривой  $D_a(F)$ , свидетельствуя о значительном повышении эластичности сосуда. Учитывая, что на линейном участке зависимости  $D_a(F)$  прогиб сосуда  $\delta_v$  в вертикальном направлении обратно пропорционален модулю упругости  $E$  и описывается уравнением

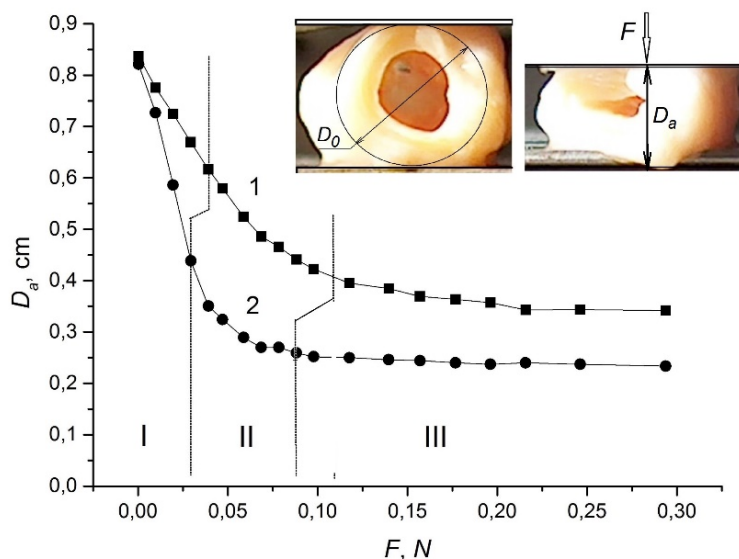


Рис. 1. Зависимость среднего размера  $D_a$  сосуда от приложенной нагрузки  $F$  в исходном состоянии (1) и после УЗ воздействия (2): I – линейный участок, II – участок нелинейной деформации, III – область насыщения. Длительность УЗ воздействия 30 с, интенсивность 31 Вт/см<sup>2</sup>, частота 25,3 кГц

Fig. 1. Dependence of the average size  $D_a$  of the vessel on the applied load  $F$  in the initial state (1) and after ultrasonic exposure (2): I – linear section, II – section of non-linear deformation, III – saturation region. Time of US exposure – 30 s, US intensity – 31 W/cm<sup>2</sup>, frequency – 25,3 kHz

$$\delta_v = 0,149 \frac{r^3}{EI} F, \quad (1)$$

где  $r^3$  – средний радиус сосуда;  $I = \pi(R^4 - s^4) / 4$  – момент инерции;  $s$  – средняя толщина стенки;  $R$  – наружный радиус сосуда [14], можно заключить, что УЗ воздействие приводит к более чем двукратному снижению модуля упругости материала сосудистой стенки.

Несколько неожиданным представляется уменьшение вертикального размера сильно деформированного (рис. 1, III участок нагрузочных кривых) сосуда после его УЗ обработки. Так, под действием нагрузки в 0,3 Н величина  $D = 0,34$  см для исходного сосуда снижается до 0,23 см. Столь выраженный эффект УЗ воздействия можно объяснить не только значительным изменением модуля упругости биоткани сосуда, но и возможной УЗ экстракцией (вымыванием) части содержимого сосудистой стенки, влияющего на ее упругие свойства. Это предположение, основанное на визуальном регистрируемом помутнении среды (физиологического раствора), в ходе УЗ обработки, безусловно, нуждается в дополнительном экспериментальном обосновании.

Нужно заметить, что на участке III нагрузочных кривых имеет место практически полное исчезновение просвета сосуда и переход от преимущественно изгибного деформирования цилиндра кругового и эллиптического сечения к сжатию двух контактирующих плоских стенок. В этом случае корректным является определение значения модуля упругости при сжатии по уравнению

$$\varepsilon = \frac{\Delta D}{D} = \frac{F}{ES}, \quad (2)$$

где  $\Delta D$  – изменение размера (в данном случае толщины образца) в результате действия нагрузки  $F$ ;  $S$  – площадь нагружаемой поверхности. Рассчитанные по (2) на основании экспериментальных данных (участок III, рис. 1) значения модуля упругости сосудистой биоткани составляют около  $4 \cdot 10^4$  Па в исходном состоянии и  $3 \cdot 10^4$  Па после УЗ воздействия. Несмотря на относительно невысокую точность таких расчетов, связанную с малым наклоном нагрузочной кривой на этом интервале нагрузок, они, наряду с вышеприведенными данными о жесткости сосуда на начальном

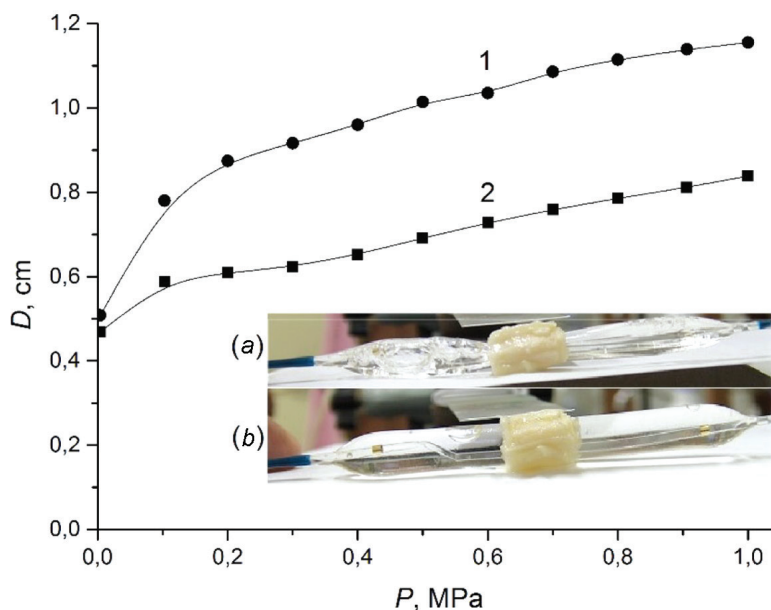


Рис. 2. Зависимость диаметра  $D$  сосуда от давления  $P$  внутри баллона в исходном состоянии (2) и после УЗ воздействия (1). Изображение сосуда с расположенным внутри баллоном в исходном состоянии (а) и под давлением 1 МПа (b). Время УЗ воздействия 2 мин, интенсивность 30,7 Вт/см<sup>2</sup>, частота 25,3 кГц

Fig. 2. Vessel diameter  $D$  dependence on the pressure  $P$  inside the balloon in the initial state (2) and after US exposure (1). Image of a vessel with a cylinder inside in the initial state (a) and under 1 MPa pressure (b). Time of US exposure – 2 min, US intensity – 30.7 W/cm<sup>2</sup>, frequency – 25.3 kHz

этапе нагружения, подтверждают эффект эластификации сосудистой стенки в результате УЗ воздействия.

Поскольку выводы, сделанные на основании (1), характеризуют податливость сосуда под воздействием нагрузки лишь на его внешнюю поверхность, представлялось целесообразным дополнить их результатами оценки эластичности, основанными на определении деформации сосудистого сегмента под действием внутреннего давления, т. е. по степени вазодилатации внутренним давлением. С этой целью внутрь отрезка сосуда помещался катетер-баллон для ангиопластики и измерялось увеличение диаметра сосуда по мере увеличения давления в баллоне (рис. 2).

Из рис. 2 следует, что при одинаковом внутреннем давлении в баллоне, сосуд, подвергнутый УЗ воздействию, демонстрирует заметно более высокую окружную деформацию в сравнении с исходным. Этот результат можно рассматривать как дополнительное свидетельство повышения эластичности сосуда в результате УЗ обработки.

С другой стороны, важно было оценить, в какой мере данная операция является допустимой с точки зрения безопасности ее влияния на состояние сосудистой стенки. Гистологическое исследование показало, что при воздействии УЗ с амплитудой поперечных колебаний 10 мкм в течение 3 мин на неповрежденную сосудистую стенку наблюдаются мелкие фокусы отслоения и разрыва интимы (рис. 3). При этом заметны небольшие по размеру множественные очаги расслоения субинтимального узкого слоя меди с формированием полиморфных, в основном мелких щелевидных полостей без какого-либо содержимого. В участках расслоения меди отмечалось нарушение структуры мышечных клеток: гиперхромия, фрагментация, разрушение. Повышение амплитуды поперечных колебаний свыше 23 мкм способствовало увеличению размеров очага повреждения интимы.

При действии УЗ с амплитудой поперечных колебаний 56 мкм, помимо вышеописанных повреждений, отмечались мелкие фокусы отрыва и фрагментации интимы, а также расслоения значительного слоя меди (около 1/3) с формированием мелких полиморфных щелевидных полостей без содержимого в их просвете (рис. 4). В мышечных клетках выявлялись гиперхромия, сморщивание, элиминация и формирование перичеллюлярных мелких вакуолеподобных полостей. Морфометрический анализ зоны повреждения сосудистой стенки показал, что при ампли-



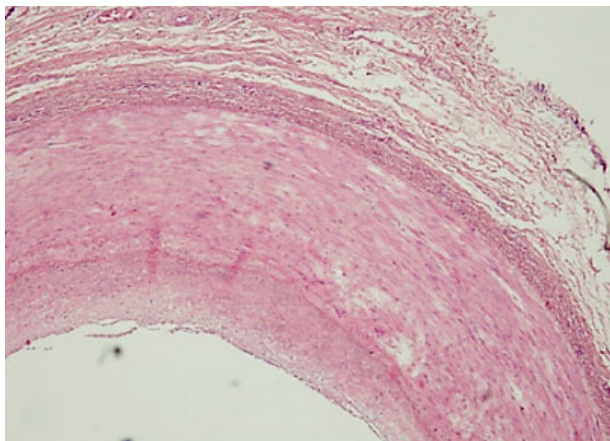


Рис. 3. Вызванные УЗ воздействием морфологические изменения в интактной мышечной стенке сосуда (амплитуда УЗ колебаний 10 мкм; увеличение  $\times 100$ ; окраска гематоксилином и эозином)

Fig. 3. Morphological changes in the intact muscle wall of the vessel caused by ultrasonic exposure (US amplitude of oscillations – 10  $\mu\text{m}$ ; magnification  $\times 100$ ; colored with hematoxylin and eosin)

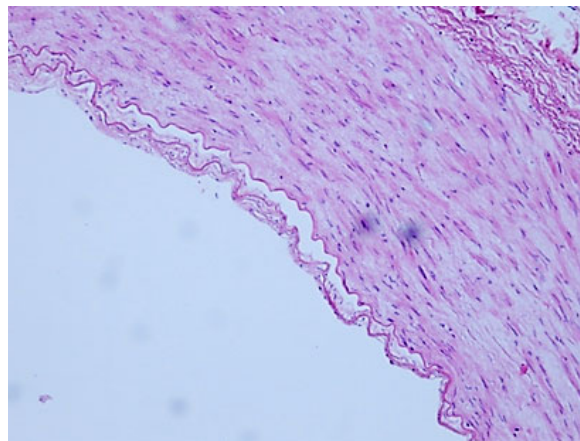


Рис. 4. Отслойка базальной мембраны в результате УЗ воздействия (амплитуда УЗ колебаний 56 мкм; увеличение  $\times 100$ ; окраска гематоксилином и эозином)

Fig. 4. Detachment of the basal membranes under ultrasonic exposure (US amplitude of oscillations – 56  $\mu\text{m}$ ; magnification  $\times 100$ ; colored with hematoxylin and eosin)

туде поперечных колебаний 10 мкм очаг зоны УЗ повреждения занимает  $12,7 \pm 1,4$  % всей площади ткани сосудистой стенки. При увеличении амплитуды поперечных колебаний до 23 мкм наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение площади зоны повреждения до  $14,1 \pm 1,6$  %. При увеличении амплитуды поперечных колебаний до 56 мкм зона УЗ повреждения достоверно увеличивалась до  $25 \pm 2$  %. При амплитуде поперечных колебаний 56 мкм регистрируется наибольшая зона УЗ повреждения, площадь которой занимает  $54,2 \pm 2,4$  % всей площади ткани сосудистой стенки.

**Закключение.** С использованием двух экспериментальных методик, различающихся по способу определения эластичности (по прогибу сосуда под действием внешней силы и по степени его расширения под действием внутреннего давления расширяющегося баллона) установлено существенное повышение эластичности, вызванное действием УЗ обработки. В то же время следует принимать во внимание, что эффект более чем двукратного снижения модуля упругости был достигнут в условиях весьма высокой УЗ интенсивности (около  $30 \text{ Вт/см}^2$ ), при которой возможны повреждения сосудистой стенки. Поэтому в перспективе необходимо установить зависимость модуля упругости от интенсивности и времени УЗ воздействия (дозовую зависимость) с целью обоснования компромиссного значения интенсивности ультразвука с минимальным негативным его воздействием на сосудистую стенку.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант M21-004).

**Acknowledgements.** The work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Grant M21-004).

### Список использованных источников

1. Zieman, S. J. Mechanisms, pathophysiology and therapy of arterial stiffness / S. J. Zieman, V. Melenovsky, D. A. Kass // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – Vol. 25, N 5. – P. 932–943. <https://doi.org/10.1161/01.atv.0000160548.78317.29>
2. Zebrafish as a model to study vascular elastic fibers and associated pathologies / M. Hoareau [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, N 4. – Art. 2102. <https://doi.org/10.3390/ijms23042102>
3. Carotid artery stiffening with aging: structural versus load-dependent mechanisms in MESA (the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) / R. J. Pewowaruk [et al.] // *Hypertension.* – 2022. – Vol. 79, N 1. – P. 150–158. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.121.18444>
4. Experimental ultrasonic angioplasty: disruption of atherosclerotic plaques and thrombi *in vitro* and arterial recanalization *in vivo* / U. Rosenschein [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1990. – Vol. 15, N 3. – P. 711–717. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(90\)90651-5](https://doi.org/10.1016/0735-1097(90)90651-5)



5. Coronary vasodilation by noninvasive transcutaneous ultrasound: an *in vivo* canine study / T. Miyamoto [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2003. – Vol. 41, N 9. – P. 1623–1627. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(03\)00412-1](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(03)00412-1)
6. Clinical demonstration that catheter-delivered ultrasound energy reverses arterial vasoconstriction / R. J. Siegel [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1992. – Vol. 20, N 3. – P. 732–735. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(92\)90032-i](https://doi.org/10.1016/0735-1097(92)90032-i)
7. Noninvasive low-frequency ultrasound energy causes vasodilation in humans / K. Iida [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2006. – Vol. 48, N 3. – P. 532–537. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.03.046>
8. Comparison of the effects of 1 MHz and 3 MHz therapeutic ultrasound on endothelium-dependent vasodilation of humans: a randomised clinical trial / M. Hauck [et al.] // *Physiotherapy.* – 2019. – Vol. 105, N 1. – P. 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.physio.2017.08.010>
9. Ultrasonic energy. Effects on vascular function and integrity / T. A. Fischell [et al.] // *Circulation.* – 1991. – Vol. 84, N 4. – P. 1783–1795. <https://doi.org/10.1161/01.cir.84.4.1783>
10. Use of therapeutic ultrasound in percutaneous coronary angioplasty. Experimental *in vitro* studies and initial clinical experience / R. J. Siegel [et al.] // *Circulation.* – 1994. – Vol. 89, N 4. – P. 1587–1592. <https://doi.org/10.1161/01.cir.89.4.1587>
11. Ultrasound-assisted thrombolysis with streptokinase improves thrombus resolution with minimal distal embolisation / I. E. Adzerikho [et al.] // *J. Thrombos. Thrombolys.* – 2013. – Vol. 36, N 3. – P. 263–270. <https://doi.org/10.1007/s11239-012-0850-3>
12. Ultrasound fibrin clot destruction *in vitro* in the presence of fibrinolytic agents / I. E. Adzerikho [et al.] // *Ultrasonics Sonochemistry.* – 2001. – Vol. 8, N 3. – P. 315–318. [https://doi.org/10.1016/s1350-4177\(01\)00092-x](https://doi.org/10.1016/s1350-4177(01)00092-x)
13. Dependence of the Rate and Completeness of Fibrin Clot Destruction on the Acoustic Dose and Ultrasound Intensity / I. Adzerikho [et al.] // *Ultrasound Med. Biol.* – 2022. – Vol. 48, N 5. – P. 846–855. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2022.01.005>
14. Bulson, P. S. Buried structures: static and dynamic strength / P. S. Bulson. – CRC Press, 1984. – 248 p. <https://doi.org/10.1201/9781482267440>

## References

1. Zieman S. J., Melenovsky V., Kass D. A. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2005, vol. 25, no. 5, pp. 932–943. <https://doi.org/10.1161/01.atv.0000160548.78317.29>
2. Hoareau M., El Kholi N., Debret R., Lambert E. Zebrafish as a model to study vascular elastic fibers and associated pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, no. 4, art. 2102. <https://doi.org/10.3390/ijms23042102>
3. Pewowaruk R. J., Tedla Y., Korcarz C. E., Tattersall M. C., Stein J. H., Chesler N. C., Gepner A. D. Carotid artery stiffening with aging: structural versus load-dependent mechanisms in MESA (the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *Hypertension*, 2022, vol. 79, no. 1, pp. 150–158. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.121.18444>
4. Rosenschein U., Bernstein J. J., DiSegni E., Kaplinsky E., Bernheim J., Rozenzajn L. A. Experimental ultrasonic angioplasty: disruption of atherosclerotic plaques and thrombi *in vitro* and arterial recanalization *in vivo*. *Journal of the American College of Cardiology*, 1990, vol. 15, no. 3, pp. 711–717. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(90\)90651-5](https://doi.org/10.1016/0735-1097(90)90651-5)
5. Miyamoto T., Neuman Y., Luo H., Jeon D.-S., Kobal S., Ikeno F., Horzewski M., Honda Ya., Mirocha J. M., Iwami T., Eht D., Fishbein M. C., Siegel R. J. Coronary vasodilation by noninvasive transcutaneous ultrasound: an *in vivo* canine study. *Journal of the American College of Cardiology*, 2003, vol. 41, no. 9, pp. 1623–1627. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(03\)00412-1](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(03)00412-1)
6. Siegel R. J., Gaines P., Procter A., Fischell T. A., Cumberland D. C. Clinical demonstration that catheter-delivered ultrasound energy reverses arterial vasoconstriction. *Journal of the American College of Cardiology*, 1992, vol. 20, no. 3, pp. 732–735. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(92\)90032-i](https://doi.org/10.1016/0735-1097(92)90032-i)
7. Iida K., Luo H., Hagsawa K., Akima T., Shah P. K., Naqvi T. Z., Siegel R. J. Noninvasive low-frequency ultrasound energy causes vasodilation in humans. *Journal of the American College of Cardiology*, 2006, vol. 48, no. 3, pp. 532–537. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.03.046>
8. Hauck M., Martins C. N., Moraes M. B., Aikawa P., da Silva Paulitsch F., Della Méa Plentz R., Teixeira da Costa S., Vargas da Silva A. M., Signori L. U. Comparison of the effects of 1 MHz and 3 MHz therapeutic ultrasound on endothelium-dependent vasodilation of humans: a randomised clinical trial. *Physiotherapy*, 2019, vol. 105, no. 1, pp. 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.physio.2017.08.010>
9. Fischell T. A., Abbas M. A., Grant G. W., Siegel R. J. Ultrasonic energy. Effects on vascular function and integrity. *Circulation*, 1991, vol. 84, no. 4, pp. 1783–1795. <https://doi.org/10.1161/01.cir.84.4.1783>
10. Siegel R. J., Gunn J., Ahsan A., Fishbein M. C., Bowes R. J., Oakley D., Wales C., Steffen W., Campbell S., Nita H. Use of therapeutic ultrasound in percutaneous coronary angioplasty. Experimental *in vitro* studies and initial clinical experience. *Circulation*, 1994, vol. 89, no. 4, pp. 1587–1592. <https://doi.org/10.1161/01.cir.89.4.1587>
11. Adzerikho I. E., Shantsila E., Minchenya V., Kulak A. Ultrasound-assisted thrombolysis with streptokinase improves thrombus resolution with minimal distal embolisation. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 2013, vol. 36, no. 3, pp. 263–270. <https://doi.org/10.1007/s11239-012-0850-3>
12. Adzerikho I. E., Mrochek A. G., Dmitriev V. V., Lukyanchenko O. A., Kulak A. I. Ultrasound fibrin clot destruction *in vitro* in the presence of fibrinolytic agents. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2001, vol. 8, no. 3, pp. 315–318. [https://doi.org/10.1016/s1350-4177\(01\)00092-x](https://doi.org/10.1016/s1350-4177(01)00092-x)
13. Adzerikho I., Kulak A., Rachok S., Minchenya V. Dependence of the Rate and Completeness of Fibrin Clot Destruction on the Acoustic Dose and Ultrasound Intensity. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2022, vol. 48, no. 5, pp. 846–855. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2022.01.005>
14. Bulson P. S. *Buried structures: static and dynamic strength*. CRC Press, 1984. 248 p. <https://doi.org/10.1201/9781482267440>

**Информация об авторах**

*Адзерихо Игорь Эдуардович* – д-р мед. наук, профессор. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: adzerikhoigor@mail.ru.

*Кулак Анатолий Иосифович* – академик, д-р хим. наук, профессор, директор. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kulak@igic.bas-net.by.

*Владимирская Татьяна Эрнстовна* – канд. биол. наук. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tan\_2304@inbox.ru.

*Леончик Екатерина Владимировна* – мл. науч. сотрудник. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: Katherine.leonchik@gmail.com.

*Чур Сергей Николаевич* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Держинского, 83, 220083, Минск, Республика Беларусь). E-mail: serchur@rambler.ru.

*Минченя Владимир Тимофеевич* – канд. техн. наук, доцент. Научно-технологический парк БНТУ «Политехник» (ул. Я. Коласа, 24, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vlad\_minch@mail.ru.

*Шилько Сергей Викторович* – канд. техн. наук, доцент. Институт механики металлополимерных систем им. В. А. Белого НАН Беларуси (ул. Кирова, 32а, 246050, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: shilko\_mpri@mail.ru.

**Information about the authors**

*Adzerikho Igor E.* – D. Sc. (Medicine), Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: adzerikhoigor@mail.ru.

*Kulak Anatoly I.* – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kulak@igic.bas-net.by.

*Vladimirskaya Tatyana E.* – Ph. D. (Biology). Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tan\_2304@inbox.ru.

*Leonchik Ekaterina V.* – Junior Researcher. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Katherine.leonchik@gmail.com.

*Chur Sergey N.* – Ph. D. (Medicine), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ser-chur@rambler.ru.

*Minchenya Vladimir T.* – Ph. D. (Engineering), Associate Professor. Science and Technology Park BNTU “Polytechnic” (24, Y. Kolas Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vlad\_minch@mail.ru.

*Shil'ko Sergei V.* – Ph. D. (Engineering), Associate Professor. V. A. Bely Metal-Polymer Research Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (32a, Kirov Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: shilko\_mpri@mail.ru.

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

UDC 547.92:615.281.8  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-295-299>

Received 02.12.2022  
Поступило в редакцию 02.12.2022

**Corresponding Member Vladimir N. Zhabinskii<sup>1</sup>, Alexey M. Matorin<sup>1</sup>, Olga V. Savinova<sup>2</sup>,  
Eugene I. Boreko<sup>2</sup>, Academician Vladimir A. Khripach<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup>*Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus*

## ANTI-CORONAVIRUS PROPERTIES OF BRASSINOSTEROIDS

**Abstract.** Antiviral properties of natural brassinosteroids of the campestane, ergostane, and stigmastane series (6-ketones and B-lactones) and their (22*S*,23*S*)-analogs were studied using the seasonal human respiratory alpha-coronavirus 229E (HCoV-229E) as an example. The presence of anticoronavirus properties was shown for a number of studied compounds. In general, 6-ketones were more active than B-lactones. The maximum inhibitory effect (EC<sub>50</sub> 21.1 μM) in relation to the reproduction of HCoV-229E was noted for (22*S*,23*S*)-epicastasterone.

**Keywords:** brassinosteroids, brassinolide, castasterone, coronavirus, antiviral properties, HCoV-229E

**For citation.** Zhabinskii V. N., Matorin A. M., Savinova O. V., Boreko E. I., Khripach V. A. Anti-coronavirus properties of brassinosteroids. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 295–299. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-295-299>

**Член-корреспондент В. Н. Жабинский<sup>1</sup>, А. М. Маторин<sup>1</sup>, О. В. Савинова<sup>2</sup>,  
Е. И. Бореко<sup>2</sup>, академик В. А. Хрипач<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup>*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь*

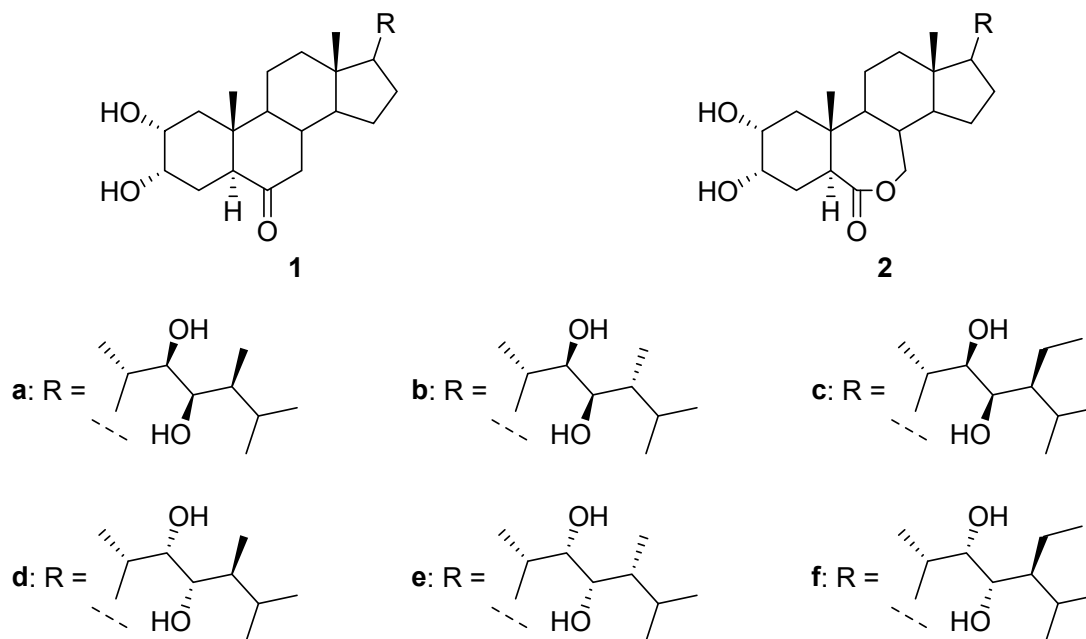
## ПРОТИВОКОРОНАВИРУСНЫЕ СВОЙСТВА БРАССИНОСТЕРОИДОВ

**Аннотация.** На примере сезонного респираторного альфа-коронавируса человека 229E (HCoV-229E) проведено изучение противовирусных свойств природных брассиностероидов кампестанового, эргостанового и стигмастанового рядов (6-кетонов и В-лактонов) и их соответствующих (22*S*,23*S*)-аналогов. Показано наличие противокоронавирусных свойств для ряда изученных соединений. 6-Кетоны в целом оказались более активными в сравнении с В-лактонами. Максимальный показатель ингибирующего действия (EC<sub>50</sub> 21,1 μM) в отношении репродукции HCoV-229E отмечен для (22*S*,23*S*)-эпикастастерона.

**Ключевые слова:** брассиностероиды, брассинолид, кастастерон, коронавирус, противовирусные свойства, HCoV-229E

**Для цитирования.** Противокоронавирусные свойства брассиностероидов / В. Н. Жабинский [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 295–299. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-295-299>

**Introduction.** Brassinosteroids (BS) have been known for more than 40 years as a group of phytohormones that have a deep and versatile, in particular adaptogenic and stress-protective, effect on plants [1]. A characteristic feature of BS is their ability to neutralize the negative impact of biotic and abiotic environmental factors. Viral diseases of plants are among the biotic factors. Already in the late 1990s, the ability of BS to increase the resistance of potato plants to late blight and barley to leaf diseases was shown [2], and later, antiviral effects of BS were found for a wide range of viral diseases of tobacco and rice [3]. These data prompted researchers to look for similar properties outside the plant kingdom [4]. A great deal of work in this area was conducted by Argentine scientists, who obtained interesting results in the course of studying the antiviral effect of BS against a number of animal viruses, including poliovirus, herpes simplex viruses HSV-1 and HSV-2, measles virus, vesicular stomatitis virus and the arenaviruses [5]. In order to search for a possible mechanism of the antiviral action of BS, the effect of a non-natural analog on the synthesis of viral protein in Vero cells infected with HSV-1 was studied [6]. It was shown that there were no effects in the early stages of the virus reproduction cycle and a strong inhibition in the presence of the test substance at the late stage of protein synthesis. In experiments on a mouse herpetic stromal keratitis, the antiviral effect of BS was due to their role in immune-mediated stromal inflammation [7].



Structures of brassinosteroids used for biological studies: **1a** – castasterone, **1b** – epicasterone, **1c** – homocasterone, **1e** – (22*S*,23*S*)-epicasterone, **1f** – (22*S*,23*S*)-homocasterone, **2b** – epibrassinolide, **2c** – homobrassinolide, **2e** – (22*S*,23*S*)-epibrassinolide, **2f** – (22*S*,23*S*)-homobrassinolide

Recently, we have conducted research on the preparation and study of the antiviral properties of compositions based on the natural brassinosteroids, epibrassinolide, in order to prevent and treat viral diseases in poultry. Testing of the dextrin-epibrassinolide complex on chicken embryos *in vitro* showed that this complex is an inhibitor of the avian infectious laryngotracheitis virus [8]. A pronounced protective effect of BS against human immunodeficiency virus infection was found [4]. Treatment of cells with epibrassinolide *in vitro* significantly increased their lifespan. The number of living cells in the infected culture treated with this BS was more than 50 % higher compared to the untreated control 4–5 days after infection. Moreover, on the 3<sup>rd</sup> day after infection, a significantly reduced production of virus-specific antigens on the cell surface was observed.

The Covid-19 pandemic has become an impetus for research into the antiviral activity of compounds of various classes. Therefore, it was natural to test the anti-coronavirus properties of brassinosteroids. Nine compounds were selected for biological studies (Figure). They differed in the structure of cycle B (ketones or lactones), configuration of the diol group in the side chain and an alkyl substituent at C-24 ( $\alpha$ -Me,  $\beta$ -Me or  $\alpha$ -Et). Castasterone **1a**, epicasterone **1b**, homocasterone **1c**, epibrassinolide **2b**, and homobrassinolide **2c** are natural brassinosteroids and other 4 compounds are their corresponding non-natural (22*S*,23*S*)-analogues.

**Experimental.** The test substances (synthesized in the Laboratory of Steroid Chemistry of the Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus according to published procedures [1]) were preliminarily dissolved in 10 % ethanol (stock solution with a concentration of 5 mg/mL) and, immediately before the study, put on a support medium for cell culture until the required concentration was reached.

Human seasonal respiratory alpha coronavirus 229E (HCoV-229E) was used. A monolayer cell culture (Vero E6) was grown in the wells of panels (Costar), then the growth medium was removed and cells were infected with 0.01–0.001 TCID<sub>50</sub>/cell of the virus by diluting the virus-containing suspension in a volume of 0.1 mL for 1 hour at 37 °C. The fluid was then removed and the cells were covered with support medium (DMEM) containing various concentrations of test substances. The panels were incubated in an atmosphere containing 5 % CO<sub>2</sub> at 37 °C for 48 h, and morphological changes in the cell monolayer were recorded (cytopathic effect of the virus, an increase  $\times 80$ ). The virus titer in the presence of the test substances and in the control was calculated as lg TCID<sub>50</sub> (50 % tissue cytopathogenic infectious dose).

The presence of differences in the titer of the virus in comparison with the control was considered as the criterion for antiviral activity. The obtained data were processed by methods generally accepted in virology for determining the number of infectious units, Reed and Muench, statistics for small values of  $n$  in an ungrouped data series [9; 10]. Concentrations of 50 and 90 % inhibition of viral replication in the presence of the test substance ( $EC_{50}$  and  $EC_{90}$ ) were determined based on probit analysis and weighted linear regression [11]. The ratios of maximum tolerated concentration (MTC)/ $EC_{50}$  and MTC/ $EC_{90}$  were used as values indicating the breadth of the range of active non-toxic concentrations of the substance. The MTC was defined as the maximum concentration of a substance that did not affect the morphology of an unstained cell culture.

**Results and Discussion.** The most pronounced antiviral properties were found in compounds of the castasterone family (Table). Castasterone **1a** and epicastasterone **1b** showed generally comparable antiviral activity against the reproduction of HCoV-229E in Vero E6 cell culture with a decrease in virus titer to 1 lg TCID<sub>50</sub>/mL (equivalent to suppression of viral reproduction by 90 %) and more in the concentration range from MTC to 1/4 MTC. The decrease in virus titer in the presence of (22*S*,23*S*)-epicastasterone **1e** was even more pronounced in the concentration range from MTC to 1/32 MTC and reached 3.3 lg TCID<sub>50</sub>/mL. Homocastasterone showed a slight antiviral effect, a decrease in the titer of the virus by 1 lg TCID<sub>50</sub>/mL in the MTC and 1/2 MTC, inhibition of virus reproduction in the presence of (22*S*,23*S*)-homocastasterone **1c** at the same concentrations was 0.46 lg TCID<sub>50</sub>/mL.

Calculated indexes of the inhibitory effect of the studied substances on the reproduction of HCoV-229E

Compound	Concentration*, μM	Virus titer ± Sx, lg TCID <sub>50</sub> /mL	Difference with the control, lg TCID <sub>50</sub> /mL	EC <sub>50</sub> (I <sub>95</sub> ) EC <sub>90</sub> (I <sub>95</sub> ), μM	Ratios MTC/EC <sub>50</sub> MTC/EC <sub>90</sub> (semi-quantitative assessment)**
Castasterone <b>1a</b>	430.4	4.38 ± 0.36	1.72	31.4 (33.1–28.2)	13.7
	215.2	4.78 ± 0.46	1.32		
	107.6	5.11 ± 0.52	0.99		
	53.8	5.45 ± 0.42	0.65		
	26.9	5.64 ± 0.46	0.46	103.5 (115.0–92.1)	4.1 (+++)
	13.4	6.10 ± 0.49	0		
	0	6.10 ± 0.49	–		
Epicastasterone <b>1b</b>	430.4	3.30 ± 0.26	2.00	24.3 (59.8–9.9)	17.7
	215.2	3.48 ± 0.34	1.82	103.1 (251.9–42.2)	4.2 (+++)
	107.6	4.30 ± 0.53	1.00		
	53.8–13.4	5.30 ± 0.26	0		
	0	5.30 ± 0.26	–		
Homocastasterone <b>1c</b>	208.9	5.0 ± 0.58	1.10	26.1 (135.6–5.0)	8.0
	104.4	5.05 ± 0.56	1.05	140.2 (726.8–26.9)	1.5 (++)
	52.2	5.64 ± 0.46	0.46		
	26.1–13.1	6.18 ± 0.26	–0.08		
	0	6.10 ± 0.49	–		
(22 <i>S</i> ,23 <i>S</i> )-Epicastasterone <b>1e</b>	1721.5	<2.0	3.30	21.1 (22.4–19.6) 93.6 (100.1–87.6)	81.6  18.3 (++++)
	860.8	<2.0	3.30		
	430.4	2.48 ± 0.34	2.82		
	215.2–107.6	4.11 ± 0.52	1.19		
	53.8	4.30 ± 0.32	1.00		
	26.9	5.00 ± 0.53	0.30		
	13.4	5.30 ± 0.26	0		
	0	5.30 ± 0.26	–		



Table ending

Compound	Concentration*, μM	Virus titer ± Sx, lg TCID <sub>50</sub> /mL	Difference with the control, lg TCID <sub>50</sub> /mL	EC <sub>50</sub> (I <sub>95</sub> ) EC <sub>90</sub> (I <sub>95</sub> ), μM	Ratios MTC/EC <sub>50</sub> MTC/EC <sub>90</sub> (semi-quantitative assessment)**
(2 <i>S</i> ,23 <i>S</i> )-Homocastasterone <b>1f</b>	208.9	5.64 ± 0.46	0.46	75.8 (121.2–47.4)	2.7
	104.4–52.2	5.64 ± 0.46	0.46		
	26.1–13.1	6.18 ± 0.26	–0.08	368.1 (588.7–230.2)	1.1 (+)
	0	6.10 ± 0.49	–		
Epibrassinolide <b>2b</b>	52.0	4.30 ± 0.26	1.00	<13.0 (163.1– 0.000008) 48.05 (205828–0.01)	>4.0  1.1 (++)
	26.0	4.37 ± 0.30	0.93		
	13.0	4.48 ± 0.34	0.82		
	0	5.30 ± 0.26	–		
Homobrassinolide <b>2c</b>	50 (101.9) – 6.25(12.6)	6.18 ± 0.26	–0.08	>101.9	<1 (–)
	0	6,10 ± 0,49	–		
(2 <i>S</i> ,23 <i>S</i> )-Epibrassinolide <b>2e</b>	408.4–13.0	5.30 ± 0.26	0	>408.4	<1 (–)
	0	5.30 ± 0.26	–		
(2 <i>S</i> ,23 <i>S</i> )-Homobrassinolide <b>2f</b>	202.1	4.30 ± 0.32	1.80	35.8 (38.4–33.3)	5.6
	101.1	4.30 ± 0.32	1.80		
	50.5	4.64 ± 0.46	1.46		
	25.3	6.18 ± 0.26	–0.08	59.6 (63.9÷ 55.6)	3.4 (+++)
	12.6	6.10 ± 0.49	0		
	0	6.10 ± 0.49	–		

Note: \* – the highest concentration corresponds to the MTC; \*\* – (–) MTC/EC<sub>90</sub> <1, inactive; (+) MTC/EC<sub>90</sub> = 1; (++) MTC/EC<sub>90</sub> = 2, weak activity; (+++) MTC/EC<sub>90</sub> = 4, medium activity; (++++) MTC/EC<sub>90</sub> ≥8, high activity [12].

Among brassinolides, epibrassinolide **2b** revealed a noticeable antiviral effect in the concentration range from MTC to 1/4 MTC. The decrease in virus titer compared to the untreated control ranged from 1 to 0.82 lg TCID<sub>50</sub>/mL. (2*S*,23*S*)-Epibrassinolide **2e** and homobrassinolide **2c** were not active, and at the same time, in comparison with them, the virus-inhibiting activity of (2*S*,23*S*)-homobrassinolide **2f** increased significantly, manifesting itself in MTC, 1/2 and 1/4 MTC by a decrease in titer by more than 1 lg TCID<sub>50</sub>/mL.

**Conclusions.** Studies have shown that BS can have tangible antiviral activity against coronaviruses. (2*S*,23*S*)-Epicastasterone **1e** showed the best results with an EC<sub>50</sub> value of 21.1 μM. This is quite far from the nanomolar activity of nucleosides, but the very fact of its existence in steroidal phytohormones is interesting and requires explanation. A possible mechanism of the antiviral action of BS may include blocking the initial (fusion) and/or final stages of the interaction of the virus with the cell, as it is the case with betulinic acid derivatives [13–15]. Further research in this direction may be related to the study of the mechanism for the anti-COVID effect of BS, as well as to the study of the properties of their compositions with known antiviral drugs.

**Acknowledgement.** The work was sponsored by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Agreement no. X21COVID-004).

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект X21COVID-004).

## References

1. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., de Groot A. *Brassinosteroids. A New Class of Plant Hormones*. San Diego, Academic Press, 1999. 456 p. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-406360-0.x5000-x>
2. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., Khripach N. B. New practical aspects of brassinosteroids and results of their ten-year agricultural use in Russia and Belarus. Hayat S., Ahmad A. *Brassinosteroids*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2003, pp. 189–230. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0948-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0948-4_9)

3. Nakashita H., Yasuda M., Nitta T., Asami T., Fujioka S., Arai Y., Sekimata K., Takatsuto S., Yamaguchi I., Yoshida S. Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. *Plant Journal*, 2003, vol. 33, no. 5, pp. 887–898. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2003.01675.x>
4. Zhabinskii V. N., Khripach N. B., Khripach V. A. Steroid plant hormones: effects outside plant kingdom. *Steroids*, 2015, vol. 97, pp. 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.08.025>
5. Wachsman M. B., Castilla V. Antiviral Properties of Brassinosteroids. *Brassinosteroids: Practical Applications in Agriculture and Human Health*. Bentham Science Publishers, 2012, pp. 57–71. <https://doi.org/10.2174/978160805298111201010057>
6. Wachsman M. B., Castilla V., Talarico L. B., Ramirez J. A., Galagovsky L. R., Coto C. E. Antiherpetic mode of action of (2*S*,23*S*)-3 $\beta$ -bromo-5 $\alpha$ ,22,23-trihydroxystigmastan-6-one *in vitro*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2004, vol. 23, no. 5, pp. 524–526. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.10.002>
7. Michelini F. M., Ramirez J. A., Berra A., Galagovsky L. R., Alche L. E. *In vitro* and *in vivo* antiherpetic activity of three new synthetic brassinosteroid analogues. *Steroids*, 2004, vol. 69, no. 11–12, pp. 713–720. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2004.04.011>
8. Nasonov I. V., Likhachev M. I., Kisselev P. A., Bovdey N. I., Sauchuk A. L., Zhabinskii V. N., Litvinovskaya R. P., Khripach N. B. Nanostructured complexes of steroid phytohormone: a new approach to protection against viral infection. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2014, vol. 58, no. 6, pp. 53–56 (in Russian).
9. Semenov B. F. Some statistical methods used in processing the results of virological studies. Zdrovovskiy P. F., Sokolov M. I. (eds.). *Guidelines for the laboratory diagnosis of viral and rickettsial diseases*. Moscow, 1965, pp. 208–218 (in Russian).
10. Rokitskiy P. F. *Biological statistics*. Minsk, 1967. 327 p. (in Russian).
11. Fung K. P. A computer program in BASIC for estimation of ED<sub>50</sub> and LD<sub>50</sub>. *Computers in Biology and Medicine*, 1989, vol. 19, no. 2, pp. 131–135. [https://doi.org/10.1016/0010-4825\(89\)90005-x](https://doi.org/10.1016/0010-4825(89)90005-x)
12. Votyakov V. I., Boreko E. I., Vladyko G. V., Karako N. I., Galegov G. A., Leont'yeva N. A. *Primary study of the antiviral properties of synthetic and natural compounds. Methodical recommendations*. Minsk, 1986. 25 p. (in Russian).
13. Aiken C., Chen C. H. Betulinic acid derivatives as HIV-1 antivirals. *Trends in Molecular Medicine*, 2005, vol. 11, no. 1, pp. 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.11.001>
14. Xiao S., Tian Z., Wang Y., Si L., Zhang L., Zhou D. Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives. *Medicinal Research Reviews*, 2018, vol. 38, no. 3, pp. 951–976. <https://doi.org/10.1002/med.21484>
15. Wang H., Xu R., Shi Y., Si L., Jiao P., Fan Z., Han X., Wu X., Zhou X., Yu F., Zhang Y., Zhang L., Zhang L., Zhou D., Xiao S. Design, synthesis and biological evaluation of novel L-ascorbic acid-conjugated pentacyclic triterpene derivatives as potential influenza virus entry inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, vol. 110, pp. 376–388. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.01.005>

### Information about the authors

*Zhabinskii Vladimir N.* – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Assistant Professor, Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [vz@iboch.by](mailto:vz@iboch.by).

*Matorin Alexey M.* – Junior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [matorin@iboch.by](mailto:matorin@iboch.by).

*Savinova Olga V.* – Senior Researcher. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [briem@tut.by](mailto:briem@tut.by).

*Boreko Evgeny I.* – D. Sc. (Medicine), Assistant Professor, Chief Researcher. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [e.i.boreko@gmail.com](mailto:e.i.boreko@gmail.com).

*Khripach Vladimir A.* – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [khripach@iboch.by](mailto:khripach@iboch.by).

### Информация об авторах

*Жабинский Владимир Николаевич* – член-корреспондент, д-р хим. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [vz@iboch.by](mailto:vz@iboch.by).

*Маторин Алексей Михайлович* – мл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [matorin@iboch.by](mailto:matorin@iboch.by).

*Савинова Ольга Владимировна* – ст. науч. сотрудник. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [briem@tut.by](mailto:briem@tut.by).

*Бореко Евгений Иванович* – д-р мед. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [e.i.boreko@gmail.com](mailto:e.i.boreko@gmail.com).

*Хрипач Владимир Александрович* – академик, д-р хим. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [khripach@iboch.by](mailto:khripach@iboch.by).

**БИОЛОГИЯ****BIOLOGY**

УДК 577.21:575.174.015.3

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-300-306>

Поступило в редакцию 15.06.2023

Received 15.06.2023

**Е. П. Михаленко<sup>1</sup>, А. Н. Щаюк<sup>1</sup>, Т. В. Никитинская<sup>1</sup>, Ю. В. Полюхович<sup>1</sup>,  
С. В. Кубрак<sup>1</sup>, М. Н. Шепетько<sup>2</sup>, академик А. В. Кильчевский<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*<sup>2</sup>*Белорусский медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ  
ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* И *UNCX*  
У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО**

**Аннотация.** Целью данного исследования было определение статуса метилирования промоторных областей генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* в опухолевой и неопухолевой ткани легкого у пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Относительный уровень метилирования промоторных областей генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, *UNCX* определяли методом количественной метилспецифической ПЦР у 73 пациентов с НМРЛ. Количественная метилспецифическая реакция проводилась как для образцов опухолевой ткани, так и для образцов неопухолевой ткани одного и того же пациента. Для каждого из образцов ставили реакцию по изучаемым генам (*MARCH11*, *UNCX*, *HOXA9*, *PTGDR*) и по референсному гену бета-актина ( $\beta$ -actin). Установлены положительные уровни метилирования гена *HOXA9* у 83,5 % пациентов, гена *MARCH11* – у 80,8 % пациентов, гена *PTGDR* – у 68,4 % пациентов, гена *UNCX* – у 84,9 % пациентов. В исследуемой группе пациентов с НМРЛ выявлены достоверные различия относительных уровней метилирования промоторных регионов генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* в опухолевой и неопухолевой ткани легкого. Эти данные позволяют предположить, что гиперметилирование генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* может играть роль в опухолевой прогрессии НМРЛ.

**Ключевые слова:** эпигенетика, количественная метилспецифическая реакция, относительный уровень метилирования, немелкоклеточный рак легкого, опухолевая и неопухолевая ткань

**Для цитирования.** Определение статуса метилирования промоторных областей генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* у пациентов с немелкоклеточным раком легкого / Е. П. Михаленко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 300–306. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-300-306>

**Alena P. Mikhalenka<sup>1</sup>, Anna N. Shchayuk<sup>1</sup>, Tatsiana V. Nikitinskaya<sup>1</sup>, Yuliya V. Paliukhovich<sup>1</sup>,  
Sviatlana V. Kubrak<sup>1</sup>, Michail N. Shapetska<sup>2</sup>, Academician Aleksandr V. Kilchevsky<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 Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

**DETERMINING THE METHYLATION STATUS OF THE PROMOTER REGIONS OF *MARCH11*, *HOXA9*,  
*PTGDR*, AND *UNCX* GENES IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER**

**Abstract.** The aim of this study was to determine the methylation status of the promoter regions of *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, and *UNCX* genes in the tumor and non-tumor lung tissue in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). A relative level of methylation of the promoter regions of *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, and *UNCX* genes was determined by the quantitative methylation-specific PCR in 73 patients with NSCLC. The quantitative methylation-specific reaction was performed both for tumor tissue samples and non-tumor tissue samples of the same patient. For each of the samples, a reaction was set both by the investigated genes (*MARCH11*, *UNCX*, *HOXA9*, and *PTGDR*) and by the reference beta-actin gene ( $\beta$ -actin). Positive levels of methylation of the *HOXA9* gene were established for 83.5 % patients; the *MARCH11* gene – for 80.8 % patients; the *PTGDR* gene – for 68.4 % patients; the *UNCX* gene – for 84.9 % patients. In the study group of patients with NSCLC, significant differences were found in the relative levels of methylation of the promoter regions of *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, and *UNCX* genes in the tumor and non-tumor lung tissue. The data suggest that hypermethylation of *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, and *UNCX* genes may play a role in NSCLC tumor progression.

**Keywords:** epigenetics, quantitative methyl-specific reaction, relative methylation level, non-small cell lung cancer, tumor and non-tumor tissue

**For citation.** Mikhalenka A. P., Shchayuk A. N., Nikitinskaya T. V., Paliukhovich Yu. V., Kubrak S. V., Shapetska M. N., Kilchevsky A. V. Determining the methylation status of the promoter regions of *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, and *UNCX* genes in patients with non-small cell lung cancer. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 300–306 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-300-306>

**Введение.** Эпигенетические механизмы, которые включают метилирование ДНК, модификацию гистонов и микроРНК (миРНК), могут вызывать наследуемые фенотипические изменения экспрессии генов без изменения их нуклеотидной последовательности. Эти эпигенетические модификации широко вовлечены в физиологические и патологические процессы, включая развитие онкологических заболеваний [1].

Метилирование ДНК является одним из наиболее распространенных эпигенетических изменений и играет важную роль в модуляции структуры хроматина, регуляции транскрипции и стабильности генома. Равновесие между всеми ферментами и факторами, вовлеченными в метилирование ДНК, и способ его реализации являются ключевыми для нормального поведения клетки. Изменение этого равновесия приводит к активации или ингибированию различных биологических событий, в том числе изменению пролиферации и метаболизма клетки [2; 3]. Метилирование ДНК у людей отмечают едва ли не исключительно в CpG-динуклеотидах, большинство CpG-последовательностей в геноме метилированы. Изменение метилирования CpG-островков ДНК является одним из молекулярных процессов, обеспечивающих развитие опухоли [1]. Аберрантное метилирование ДНК в CpG-островках в промоторной области начинается на ранних стадиях онкогенеза, что указывает на его потенциал в качестве биомаркера для обнаружения рака [4; 5]. Наиболее яркими проявлениями этого процесса являются гиперметилирование промоторов опухолевых супрессоров и деметилирование промоторов онкогенов [6]. Известно, что метилирование ДНК изменяется не только в опухолевых клетках, но и в гистологически нормальной ткани, что может способствовать уточнению диагноза при исследовании биопсийных образцов [7].

Успехи эпигенетики способствуют разработке методов диагностики злокачественных заболеваний на ранних стадиях. Количественная метилспецифическая ПЦР (Q-MSP) – наиболее часто используемый и хорошо зарекомендовавший себя метод обнаружения метилирования ДНК. Этот метод является простым и экономичным, позволяет обнаруживать мельчайшие очаги опухолевых клеток. Большинство исследований сфокусировано на обнаружении эпигенетических изменений с использованием метода метилспецифической ПЦР как для ранней диагностики онкозаболеваний, так и для определения метастазирования и прогноза течения онкологического процесса [8–10].

Целью нашего исследования было определение статуса метилирования промоторных областей генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* в опухолевой и неопухолевой ткани легкого у пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ).

**Материалы и методы исследования.** Уровень метилирования промоторных областей генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR*, *UNCX* определяли методом количественной метилспецифической ПЦР у 73 пациентов с НМРЛ, проходивших лечение в УЗ «Минский городской клинический онкологический центр». Исследование было одобрено этическим комитетом, и пациенты подписали информированное согласие на участие.

Средний возраст пациентов составил 62,2 года (от 39 до 92 лет), по гендерному соотношению в выборку вошли 20 женщин (27,4 %) и 53 мужчины (72,6 %). 37 пациентов (50,7 %) имели аденокарциному, 36 (49,3 %) – плоскоклеточный рак легкого. Статус курения у 4 пациентов (5,5 %) неизвестен, 43 человека (58,9 %) курящих и 26 (35,6 %) – некурящих. По стадиям заболевания исследуемая выборка распределилась следующим образом: I стадия – 32 человека (43,8 %), II – 15 человек (20,5 %), III – 23 (31,5 %) и IV – 3 человека (4,1 %).

Выделение ДНК из замороженных опухолевой и неопухолевой тканей легкого производили с использованием стандартного протокола экстракции фенол-хлороформным методом. Далее



геномная ДНК подвергалась бисульфитной конверсии с помощью наборов EpiJET Bisulfite Conversion Kit (Thermo Fisher Scientific) и MethylEdge™ Bisulfite Conversion System (Promega). Масса исходной ДНК, подвергшейся конверсии, составляла 500 нг для каждого образца. Объем использованного для элюирования ДНК буфера – 20 мкл (максимальный, рекомендованный производителем).

Праймеры и зонды для ПЦР, специфичные для метилирования, были синтезированы в ОДО «Праймтех» (Беларусь). Валидацию последовательностей подобранных праймеров проводили в онлайн-программе PrimerBlast NCBI. Последовательности праймеров и зондов представлены в табл. 1. Реакционная смесь включала 1 мкл бисульфит-модифицированной ДНК и 7 мкл ПЦР-смеси, состоящей из 2-кратного премикса для ПЦР-РВ, прямого праймера (10 мкМ), обратного праймера (10 мкМ) и зонда (10 мкМ). Протокол ПЦР-амплификации: 95 °С – 3 мин, 40 циклов (95 °С – 10 с, 55 °С – 30 с). В качестве отрицательного контроля использовали воду без матрицы ДНК. Реакции амплификации проводили в системе CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). Результаты анализировали с помощью программного обеспечения CFX Maestro Software Version 4.1.2433.1219 (Bio-Rad).

Т а б л и ц а 1. Праймеры и зонды, используемые для количественной метилспецифической ПЦР [8]

Table 1. The sequences of the primer and the fluorescent probe used in this study [8]

Ген Gene	Последовательность прямого праймера Forward primer 5'→3'	Последовательность флуоресцентного зонда Fluorescent probe sequence 5'→3'	Последовательность обратного праймера Reverse primer 5'→3'
MARCH11	TTTTTTAGTTTACGAGAGTCG-TAGC	FAM-CGTCGTTTGGAGAGGGGT-TATTCGT-TAMRA	GAATCAATAAAAACGAAAT-TCGAA
UNCX	ACGGTTCGTTTTTTGGAATA-TTC	FAM-GGCGGCGTGGTGGGTTTT-TTTTATTC-TAMRA	GACCGACTACAACATAACCCGAA
HOXA9	AATAAATTTTATCGTAGAG-CGGTAC	FAM-GCGCCCCATTAACCGTA-CGCGT-TAMRA	CATATAACAACCTAATAACA-CCGAA
PTGDR	TTGTTTCGCGTTTTTAAATGT-TAGC	FAM-CACGACAAAAACCTCCTAT-TAMRA	AAAAAACTCCGAAAACGAA-CGAAAT
β-actin	TGGTGATGGAGGAGGTTTAG-TAAGT	FAM-ACCACCACCCAACACACA-ATAACAAACACA-TAMRA	AACCAATAAAACCTACTCC-TCCCTAA

Количественная метилспецифическая реакция проводилась как для образцов опухолевой ткани, так и для образцов неопухолевой ткани одного и того же пациента. Для каждого из образцов ставили реакцию по изучаемым генам (*MARCH11*, *UNCX*, *HOXA9*, *PTGDR*) и по референсному гену бета-актина ( $\beta$ -actin).

Для интерпретации полученных результатов высчитывается относительный уровень метилирования (ОУМ, TaqMeth V). Для этого значение финального уровня флуоресценции изучаемого гена ( $RFU_x$ ) делится на значение финального уровня флуоресценции референсного гена ( $RFU_{\beta\text{-actin}}$ ) и умножается на 100.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета Statistica 10. В исследовании применены непараметрические методы: для сравнения зависимых выборок (значения для опухолевой и неопухолевой ткани одного и того же пациента) по количественным признакам использовался *W*-критерий Вилкоксона. За критический уровень статистической значимости принимали вероятность безошибочного прогноза, равную 95 % ( $p < 0,05$ ).

**Результаты и их обсуждение.** В исследовании установлены положительные уровни метилирования гена *HOXA9* для 61 (83,5 %) пациента из 73, гена *MARCH11* – для 59 (80,8 %) пациентов, гена *PTGDR* – для 50 (68,4 %) пациентов, гена *UNCX* – для 62 (84,9 %) пациентов. Эти данные были использованы для дальнейшего анализа. На первом этапе были проанализированы средние уровни метилирования промоторных регионов генов *HOXA9* (гомеобокс A9), *MARCH11* (убиквитинлигаза), *PTGDR* (рецептор простагландина D2) и *UNCX* (гомеобокс UNC). В табл. 2 представлены основные статистические данные анализа статуса метилирования изучаемых генов.



Таблица 2. Относительный уровень метилирования четырех отдельных маркеров в опухолевых очагах и неопухолевой ткани пациентов с НМРЛ

Table 2. Relative methylation levels of four individual markers in tumor and non-tumor tissue of patients with NSCLC

Параметр Parameter	Ген Gene							
	<i>HOXA9</i>		<i>MARCH11</i>		<i>UNCX</i>		<i>PTGDR</i>	
Тип ткани	Опухоль	Норма	Опухоль	Норма	Опухоль	Норма	Опухоль	Норма
Количество образцов	61	61	59	59	62	62	50	50
Среднее	97,60	49,63	43,04	26,95	52,99	35,37	47,13	23,42
Стандартное отклонение	40,72	37,89	19,36	13,90	34,87	17,05	36,28	25,38
Медиана	107,58	44,02	48,49	30,47	46,66	35,61	37,78	13,07
Минимум	18,49	0,43	0,73	0,44	5,03	0,58	1,58	0,01
25 перцентиль	71,11	27,62	27,06	17,39	22,83	23,50	19,40	8,20
75 перцентиль	127,90	61,46	54,90	36,95	78,48	43,11	63,33	31,29
Максимум	167,68	273,01	82,66	59,06	172,54	82,05	139,49	99,56
<i>p</i> -value	$4,89 \cdot 10^{-8}$		$2,67 \cdot 10^{-6}$		$2,70 \cdot 10^{-4}$		$7,38 \cdot 10^{-8}$	
<i>W</i> -критерий Вилкоксона	5,46		4,69		3,64		5,38	

Примечание: *p*-value для *W*-критерия Вилкоксона.

Note: *p*-value for Wilcoxon test.

Среднее значение ОУМ гена *HOXA9* в опухолевой ткани было  $97,6 \pm 41$ , в то время как среднее значение ОУМ в неопухолевой ткани легкого –  $49,6 \pm 38$ . Среднее значение ОУМ гена *MARCH11* в опухолевой ткани составило  $43,04 \pm 19$ , среднее значение ОУМ в неопухолевой ткани легкого –  $27 \pm 14$ . Необходимо отметить, что относительные уровни метилирования гена *MARCH11* значительно ниже, чем для гена *HOXA9*. Среднее значение ОУМ гена *UNCX* в опухолевой ткани составило  $53 \pm 35$ , а среднее значение ОУМ в неопухолевой ткани легкого –  $35 \pm 17$ . Среднее значение ОУМ гена *PTGDR* в опухолевой ткани составило  $47 \pm 36$ , а среднее значение ОУМ в неопухолевой ткани легкого –  $23,4 \pm 25$ . Для гена *HOXA9* в 52 из 61 случая (85,2 %) метилирование в опухоли было больше, чем в соответствующей неопухолевой ткани, для гена *MARCH11* – в 47 из 59 случаев (79,7 %), *PTGDR* – в 41 из 50 случаев (82,0 %), *UNCX* – в 45 из 62 случаев (72,6 %).

Статистическая обработка полученных результатов показала достоверное отличие относительного уровня метилирования между опухолевой и неопухолевой тканью пациентов с НМРЛ для всех исследуемых генов.

Известно, что все протестированные нами гены функционально связаны с онкогенезом. Ген *MARCH11* кодирует убиквитинлигазу, которая добавляет убиквитин к лизину в целевом субстратном белке, и таким образом сигнализирует о его внутриклеточном транспорте и передаче сигналов внутри клетки, что играет важную роль при онкогенезе [8]. Ген *PTGDR* кодирует один из вариантов рецепторов, связанных с гуанин-нуклеотид-связывающим белком (G-белок), и относится к трансмембранным белкам, которые реагируют на внеклеточные сигналы и активируют внутриклеточные сигнальные пути. Метилирование промотора *PTGDR* связано с развитием колоректального рака и НМРЛ [8; 11; 12].

*UNCX* и *HOXA9* принадлежат к эволюционно консервативным суперсемействам гомеобоксов, которые играют решающую роль в регуляции апоптоза, дифференцировки и ангиогенеза. Белок, кодируемый геном *UNCX*, является фактором транскрипции, хотя молекулярные механизмы, лежащие в основе активации *UNCX*, и его роль в пролиферации и дифференцировке еще до конца не ясны. Недавно было описано влияние эпигенетической модификации *UNCX* на развитие острого миелоидного лейкоза [13].

Ген *HOXA9* является одним из представителей гомеобокса (*HOX*). Большое количество исследований показало, что гены *HOX* имеют существенное значение в прогрессировании различных

заболеваний, абберрантно экспрессируются в опухолях и участвуют в опухолевом генезе [14]. Прогностическая роль метилирования *HOXA9* при солидных злокачественных новообразованиях противоречива. Однако рядом исследователей выявлено, что повышенное метилирование *HOXA9* было связано со стадией заболевания и с низкой общей выживаемостью пациентов при некоторых онкозаболеваниях [8; 12; 14; 15]. Кроме того, как и в нашем исследовании, ряд авторов показали, что значения уровня метилирования *HOXA9* в опухолевых тканях в различных видах опухолей значительно возрастали по сравнению с соответствующими нормальными тканями [8].

Таким образом, в нашем исследовании выявлены достоверные различия в относительных уровнях метилирования промоторных регионов исследуемых генов в опухолевой и неопухолевой тканях у пациентов с НМРЛ. Эти данные позволяют предположить, что гиперметилирование генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* может играть роль в опухолевой прогрессии НМРЛ. В дальнейшем планируется провести анализ влияния метилирования ДНК на клинико-морфологические характеристики опухоли при немелкоклеточном раке легкого.

**Заключение.** В исследуемой группе пациентов с НМРЛ выявлены достоверные различия относительных уровней метилирования промоторных регионов генов *MARCH11*, *HOXA9*, *PTGDR* и *UNCX* в опухолевой и неопухолевой ткани легкого. Наибольший относительный уровень метилирования в опухолевой ткани пациентов с НМРЛ зарегистрирован при анализе промоторного региона гена *HOXA9*. Известно, что ген *HOXA9* относится к суперсемейству генов, кодирующих белки НОХ, которые являются факторами транскрипции, участвующими в онкогенезе. Дальнейшие исследования метилирования ДНК будут способствовать лучшему пониманию механизмов, лежащих в основе развития рака легкого, и позволят предложить новые мишени для разработки схем лечения данного заболевания.

#### Список использованных источников

1. Zhang, L. Epigenetics in health and disease / L. Zhang, Q. Lu, C. Chang // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2020. – Vol. 1253. – P. 3–55. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3449-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3449-2_1)
2. Bump hunting to identify differentially methylated regions in epigenetic epidemiology studies / A. E. Jaffe [et al.] // *Int. J. Epidemiol.* – 2012. – Vol. 41, N 1. – P. 200–209. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr238>
3. A novel epigenetic signature for early diagnosis in lung cancer / A. Diaz-Lagares [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, N 13. – P. 3361–3371. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-15-2346>
4. Pan-cancer predictions of transcription factors mediating aberrant DNA methylation / D. Dettl [et al.] // *Epigenetics and Chromatin.* – 2022. – Vol. 15, N 1. <https://doi.org/10.1186/s13072-022-00443-w>
5. Fukushige, S. DNA methylation in cancer: a gene silencing mechanism and the clinical potential of its biomarkers / S. Fukushige, A. Horii // *Tohoku J. Exp. Med.* – 2013. – Vol. 229, N 3. – P. 173–185. <https://doi.org/10.1620/tjem.229.173>
6. Differentially methylated regions within lung cancer risk loci are enriched in deregulated enhancers / M. Laplana [et al.] // *Epigenetics.* – 2021. – Vol. 17, N 2. – P. 117–132. <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1878723>
7. Methylation profiling defines an extensive field defect in histologically normal prostate tissues associated with prostate cancer / B. Yang [et al.] // *Neoplasia.* – 2013. – Vol. 15, N 4. – P. 399–408. <https://doi.org/10.1593/neo.13280>
8. A Panel of Novel Detection and Prognostic Methylated DNA Markers in Primary Non-Small Cell Lung Cancer and Serum DNA / A. Ooki [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2017. – Vol. 23, N 22. – P. 7141–7152. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-17-1222>
9. Epigenome-wide scan identifies differentially methylated regions for lung cancer using pre-diagnostic peripheral blood / Naisi Zhao [et al.] // *Epigenetics.* – 2022. – Vol. 17, N 4. – P. 460–472. <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1923615>
10. Methylation-associated inactivation of JPH3 and its effect on prognosis and cell biological function in HCC / Yi Huang [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2022. – Vol. 25, N 4. – Art. 124. <https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12640>
11. DNA hypermethylation and decreased mRNA expression of MAL, PRIMA1, PTGDR and SFRP1 in colorectal adenoma and cancer / A. Kalmar [et al.] // *BMC Cancer.* – 2015. – Vol. 15, N 1. – Art. 736. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1687-x>
12. Pradhan, M. P. Systems biology approach to stage-wise characterization of epigenetic genes in lung adenocarcinoma / M. P. Pradhan, A. Desai, M. J. Palakal // *BMC Syst. Biol.* – 2013. – Vol. 7, N 1. – Art. 141. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-141>
13. Epigenetically induced ectopic expression of *UNCX* impairs the proliferation and differentiation of myeloid cells / G. Daniele [et al.] // *Haematologica.* – 2017. – Vol. 102, N 7. – P. 1204–1214. <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.163022>
14. The prognostic value of homeobox A9 (*HOXA9*) methylation in solid tumors: a systematic review and meta-analysis / H. Cai [et al.] // *Transl. Cancer Res.* – 2021. – Vol. 10, N 10. – P. 4347–4354. <https://doi.org/10.21037/tcr-21-765>
15. Methylation of *HOXA9* and *ISL1* Predicts Patient Outcome in High-Grade Non-Invasive Bladder Cancer / M. O. Kitchen [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, N 9. – Art. e0137003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137003>

## References

1. Zhang L., Lu Q., Chang C. Epigenetics in health and disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2020, vol. 1253, pp. 3–55. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3449-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3449-2_1)
2. Jaffe A. E., Murakami P., Lee H., Leek J. T., Fallin M. D., Feinberg A. P., Irizarry R. A. Bump hunting to identify differentially methylated regions in epigenetic epidemiology studies. *International Journal of Epidemiology*, 2012, vol. 41, no. 1, pp. 200–209. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr238>
3. Diaz-Lagares A., Mendez-Gonzalez J., Hervas D., Saigi M., Pajares M. J., Garcia D., Crujeiras A. B., Pio R., Montuenga L. M., Zulueta J., Nadal E., Rosell A., Esteller M., Sandoval J. A novel epigenetic signature for early diagnosis in lung cancer. *Clinical Cancer Research*, 2016, vol. 22, no. 13, pp. 3361–3371. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-15-2346>
4. Detilleux D., Spill Y. G., Balaramane D., Weber M., Bardet A. F. Pan-cancer predictions of transcription factors mediating aberrant DNA methylation. *Epigenetics and Chromatin*, 2022, vol. 15, no. 1. <https://doi.org/10.1186/s13072-022-00443-w>
5. Fukushige S., Horii A. DNA methylation in cancer: a gene silencing mechanism and the clinical potential of its biomarkers. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2013, vol. 229, no. 3, pp. 173–185. <https://doi.org/10.1620/tjem.229.173>
6. Laplana M., Bieg M., Faltus C., Melnik S., Bogatyrova O., Gu Z., Muley T., Meister M., Dienemann H., Herpel E., Amos C. I., Schlesner M., Eils R., Plass C., Risch A. Differentially methylated regions within lung cancer risk loci are enriched in deregulated enhancers. *Epigenetics*, 2021, vol. 17, no. 2, pp. 117–132. <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1878723>
7. Yang B., Bhusari S., Kueck J., Weeratunga P., Wagner J., Levenson G., Huang W., Jarrard D. F. Methylation profiling defines an extensive field defect in histologically normal prostate tissues associated with prostate cancer. *Neoplasia*, 2013, vol. 15, no. 4, pp. 399–408. <https://doi.org/10.1593/neo.13280>
8. Ooki A., Maleki Z., Tsay J.-C. J., Goparaju Ch., Brait M., Turaga N., Nam H.-S., Rom W. N., Pass H. I., Sidransky D., Guerrero-Preston R., Hoque M. O. A Panel of Novel Detection and Prognostic Methylated DNA Markers in Primary Non-Small Cell Lung Cancer and Serum DNA. *Clinical Cancer Research*, 2017, vol. 23, no. 22, pp. 7141–7152. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-17-1222>
9. Zhao N., Ruan M., Koestler D. C., Lu J., Marsit C. J., Kelsey K. T., Platz E. A., Michaud D. S. Epigenome-wide scan identifies differentially methylated regions for lung cancer using pre-diagnostic peripheral blood. *Epigenetics*, 2022, vol. 17, no. 4, pp. 460–472. <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1923615>
10. Huang Yi, Yu Z., Zheng M., Yang X., Huang H., Zhao L. Methylation-associated inactivation of JPH3 and its effect on prognosis and cell biological function in HCC. *Molecular Medicine Reports*, 2022, vol. 25, no. 4, art. 124. <https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12640>
11. Kalmár A., Péterfia B., Hollósi P., Galamb O., Spisák S., Wichmann B., Bodor A., Tóth K., Patai Á. V., Valcz G., Nagy Z. B., Kubák V., Tulassay Z., Kovalszky I., Molnár B. DNA hypermethylation and decreased mRNA expression of MAL, PRIMA1, PTGDR and SFRP1 in colorectal adenoma and cancer. *BioMed Central Cancer*, 2015, vol. 15, no. 1, art. 736. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1687-x>
12. Pradhan M. P., Desai A., Palakal M. J. Systems biology approach to stage-wise characterization of epigenetic genes in lung adenocarcinoma. *BMC Systems Biology*, 2013, vol. 7, no. 1, art. 141. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-141>
13. Daniele G., Simonetti G., Fusilli C., Iacobucci I., Lonocce A., Palazzo A., Lomiento M. [et al.]. Epigenetically induced ectopic expression of UNCX impairs the proliferation and differentiation of myeloid cells. *Haematologica*, 2017, vol. 102, no. 7, pp. 1204–1214. <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.163022>
14. Cai H., Ke Z. B., Dong R. N., Chen H., Lin F., Zheng W. C., Chen S. H., Zhu J. M., Chen S. M., Zheng Q. S., Wei Y., Xue X. Y., Xu N. The prognostic value of homeobox A9 (HOXA9) methylation in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *Translation Cancer Research*, 2021, vol. 10, no. 10, pp. 4347–4354. <https://doi.org/10.21037/tcr-21-765>
15. Kitchen M. O., Bryan R. T., Haworth K. E., Emes R. D., Luscombe Ch., Gommersall L., Cheng K. K., Zeegers M. P., James N. D., Devall A. J., Fryer A. A., Farrell W. E. Methylation of HOXA9 and ISL1 Predicts Patient Outcome in High-Grade Non-Invasive Bladder Cancer. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 9, art. e0137003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137003>

## Информация об авторах

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

Щаюк Анна Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anna.shchayuk@tut.by.

Никитинская Татьяна Владимировна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: T.Nikitinskaya@igc.by.

Полухович Юлия Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yu.paliukhovich@igc.by.

## Information about the authors

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

Shchayuk Anna N. – Ph. D. (Biology), 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: anna.shchayuk@tut.by.

Nikitinskaya Tatsiana 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: T.Nikitinskaya@igc.by.

Paliukhovich Yuliya V. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str.,

*Кубрак Светлана Владимировна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: S.Kubrak@igc.by.

*Шепетько Михаил Николаевич* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: shepetjko@gmail.com.

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

220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yu.paliukhovich@igc.by.

*Kubrak Sviatlana V.* – 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: S.Kubrak@igc.by.

*Shapetska Michail N.* – Ph. D. (Medicine), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shepetjko@gmail.com.

*Kilchevsky Aleksandr V.* – Academician, 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: kilchev@presidium.bas-net.by.

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

**МЕДИЦИНА**  
**MEDICINE**

УДК 577.29:616.69-008.6:616.697  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-307-314>

Поступило в редакцию 24.10.2022  
Received 24.10.2022

**И. Д. Кужель<sup>1</sup>, О. В. Прибушеня<sup>2</sup>, И. В. Наумчик<sup>2</sup>, И. В. Курлович<sup>2</sup>, Н. И. Рябоконе<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Республика Беларусь

**ДВУНИТЕВЫЕ РАЗРЫВЫ ДНК СПЕРМИЕВ У ПАЦИЕНТОВ  
С НОРМОЗОСПЕРМИЕЙ И ПАТОЗОСПЕРМИЕЙ**

(Представлено членом-корреспондентом Е. И. Слобожаниной)

**Аннотация.** С использованием нейтральной версии метода ДНК-комет изучены уровни двунитевых разрывов ДНК – грубых нарушений целостности генома – в образцах спермы мужчин из белорусской популяции при нормозооспермии и патозооспермии, включая астенозооспермию, олигозооспермию, олигоастенозооспермию и другие смешанные формы патозооспермии. Показано, что двунитевые разрывы ДНК составляют большую долю (в среднем около 44–50 %) от общего количества повреждений ДНК (одно- и двунитевых разрывов, щелочно-лабильных сайтов и др.), регистрируемых с использованием щелочной версии метода ДНК-комет, рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения. Установлены более высокие уровни двунитевых разрывов ДНК спермиев в группе с патозооспермией и подгруппе с астенозооспермией, чем при нормозооспермии. Показано также, что зарегистрированные при патозооспермии уровни двунитевых разрывов соответствуют мутагенному эффекту *in vitro* высоких концентраций (10–30 мкг/мл) мощного радиомиметика сульфата блеомицина, что свидетельствует о существенном нарушении целостности ДНК при патозооспермии. В целом полученные данные говорят о возможности использования анализа двунитевых разрывов ДНК спермиев в диагностике мужского бесплодия.

**Ключевые слова:** двунитевые разрывы ДНК спермиев, метод ДНК-комет, нормозооспермия, патозооспермия, мужское бесплодие

**Для цитирования.** Двунитевые разрывы ДНК спермиев у пациентов с нормозооспермией и патозооспермией / И. Д. Кужель [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 307–314. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-307-314>

**Irena D. Kuzhal<sup>1</sup>, Oksana V. Pribushenya<sup>2</sup>, Irina V. Naumchik<sup>2</sup>, Ivan V. Kurlovich<sup>2</sup>, Nadezhda I. Ryabokon<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>Scientific and Practical Center “Mother and Child”, Minsk, Republic of Belarus

**SPERM DOUBLE-STRAND DNA BREAKS IN PATIENTS WITH NORMOZOOSPERMIA  
AND PATHOZOOSPERMIA**

(Communicated by Corresponding Member Ekaterina I. Slobozhanina)

**Abstract.** The levels of double-strand DNA breaks as a severe disruption of genome integrity were studied using the neutral version of the comet assay in the sperm samples of the men of the Belarusian population with normozoospermia and pathozoospermia, including asthenozoospermia, oligozoospermia, oligoasthenozoospermia, and other combined forms of pathozoospermia. It was demonstrated that double-strand DNA breaks have a large proportion (about 44–50 % on average) of the total number of DNA damage (single- and double-strand breaks, alkaline-labile sites, etc.) analyzed with the alkaline version of the comet assay recommended by the World Health Organization. Higher levels of sperm double-strand DNA breaks were established in the pathozoospermia group and in asthenozoospermia subgroup compared to the normozoospermia group. It was also shown that the levels of double-strand breaks observed at pathozoospermia correspond to the mutagenic effect *in vitro* of high concentrations (10–30 µg/ml) of bleomycin sulfate that acts as a strong radiomimetic, which points to a significant disruption of the DNA integrity at pathozoospermia. In general, the data obtained demonstrate the usefulness of the sperm double-strand DNA break analysis for male infertility diagnostics.



**Keywords:** double-strand sperm DNA breaks, comet assay, normozoospermia, pathozoospermia, male infertility

**For citation.** Kuzhal I. D., Pribushenya O. V., Naumchik I. V., Kurlovich I. V., Ryabokon N. I. Sperm double-strand DNA breaks in patients with normozoospermia and pathozoospermia. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 307–314 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-307-314>

**Введение.** Молекулярно-генетический анализ целостности (или фрагментации) ядерной ДНК спермиев является полезным инструментом как для диагностики мужского фактора бесплодия, так и для использования в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Множество научных публикаций демонстрирует, что анализ целостности ДНК спермиев является независимым тестом для оценки качества спермы, существенно дополняя показания спермограммы. Несмотря на продолжающиеся дискуссии вокруг использования фрагментации ДНК в клинической практике, ряд экспертов в области мужского бесплодия полагают, что за последние 40 лет ни одна из новых технологий не предоставила столько клинически важных данных для оценки мужской фертильности, сколько анализ фрагментации ДНК в мужских гаметах [1; 2]. С 2021 г. тестирование фрагментации ДНК спермиев рекомендовано Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) для оценки качества спермы в андрологии и в клинических лабораториях, использующих ВРТ [3].

Выделяют следующие основные причины возникновения фрагментации ДНК спермиев: дефекты в компактизации хромосом и в механизмах репарации ДНК в течение сперматогенеза, незавершенный апоптоз, окислительный стресс, мутагены окружающей среды, нездоровый образ жизни, включая курение, употребление алкоголя, плохое питание, а также старение, инфекционные заболевания и другие неблагоприятные факторы. При этом возникает широкий спектр повреждений ДНК: одностебельные и двустебельные разрывы в молекуле ДНК, окислительные повреждения оснований ДНК, апуриновые-апириимидиновые сайты и др. Все они с высокой частотой встречаются в сперматозоидах мужчин и могут возникать в течение сперматогенеза, спермиогенеза, транзита сперматозоидов в эпидидимис и даже после эякуляции до слияния ядер яйцеклетки и сперматозоида. Причины и механизмы их возникновения могут совпадать или нет, а сами повреждения разных типов могут вносить различный вклад в снижение мужской фертильности [4; 5].

В связи с различной клинической значимостью повреждений ДНК отмечается, что двустебельные разрывы ДНК спермиев являются наиболее грубыми нарушениями генома и, несмотря на свое относительно меньшее количество по сравнению с одностебельными разрывами, они могут иметь летальный эффект для зиготы до или после имплантации, а также влиять на качество эмбрионов [4; 6]. Обсуждается как возможность [4], так и невозможность [6] репарации этих повреждений после оплодотворения в процессе материнской репарации ДНК (maternal DNA repair). Среди причин, препятствующих материнской репарации, приводится факт отсутствия слияния материнского пронуклеуса с отцовским, несущим двустебельные разрывы ДНК [6]. Хорошо известно также, что двустебельные разрывы ДНК являются причиной задержки клеточного цикла и что даже при небольшом их количестве наблюдается задержка деления в культуре клеток человека [7]. В то же время именно с двустебельными разрывами ДНК, потенциально влияющими на клеточный цикл, ассоциированы снижение частоты имплантации и отставание в эмбриональном развитии [8], а также снижение частоты клинической беременности при использовании технологии ИКСИ – внутрицитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит [9]. И обратное: при низкой частоте двустебельных разрывов ДНК спермиев показана высокая успешность рождения после использования технологии внутриматочного оплодотворения [10]. Эти исследования прямо или косвенно свидетельствуют о негативном эффекте двустебельных разрывов ДНК спермиев на эффективность ВРТ.

Кроме того, имеются данные, напрямую указывающих на возможность использования двустебельных разрывов ДНК спермиев в диагностических целях при пониженной мужской фертильности. Так, установлены повышенные уровни двустебельных разрывов ДНК в спермиях мужчин из супружеских пар с привычным невынашиванием беременности, у которых женский фактор бесплодия был исключен и поставлен диагноз мужского идиопатического бесплодия [11].

Таким образом, накопленные литературные данные свидетельствуют о том, что двунитевые разрывы имеют более высокий потенциал для возникновения негативных репродуктивных эффектов по сравнению с однопитевыми разрывами ДНК, а дифференциальная оценка двунитевых разрывов может дать дополнительную информацию о мужской фертильности. Однако имеющихся данных об уровнях двунитевых разрывов в спермиях мужчин в норме и при пониженной фертильности крайне недостаточно, чтобы использовать их в клинической практике.

Широко применяемые и рекомендованные ВОЗ тесты для оценки фрагментации ДНК спермиев [3] не позволяют проводить дифференциальный анализ двунитевых разрывов ДНК. Так, тест с использованием акридинового оранжевого (acridine orange test), скорее всего, обнаруживает только однопитевые разрывы ДНК, тесты TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) и SCD (sperm chromatin dispersion test или Halo test) одновременно учитывают одно- и двунитевые разрывы ДНК, а щелочная версия метода ДНК-комет (comet assay) позволяет одновременно регистрировать широкий спектр повреждений ДНК: одно- и двунитевые разрывы ДНК, а также щелочно-лабильные сайты (апуриновые-апириимидиновые сайты, модифицированные основания ДНК) и другие повреждения ДНК, тем самым демонстрируя свою высокую чувствительность при оценке целостности ДНК [5; 12].

Целью настоящего исследования было изучение двунитевых разрывов ДНК в спермиях мужчин с нормозооспермией и патозооспермией и оценка их диагностической значимости при пониженной мужской фертильности.

**Материалы и методы исследования.** Образцы спермы пациентов с нормо- и патозооспермией в общем количестве 78 единиц получены в 2021 г. из коллекций Республиканского банка ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси). Постановка диагноза пациентам выполнена в 2013–2015 гг. по результатам спермограммы, полученной с использованием автоматического анализатора SQA-V (Medical Electronic Systems, Израиль), и на основании рекомендаций ВОЗ 2010 г. Все участники исследования являются белорусами по национальности, согласно проведенному в 2013–2015 гг. анкетированию. Полученные из банка образцы составили группы и подгруппы исследования, основные клинико-демографические характеристики которых представлены в табл. 1.

Таблица 1. Основные характеристики исследуемых групп

Table 1. Basic characteristics of study groups

Исследуемые группы Study groups	Количество пациентов Number of patients	Возраст, годы Age, years		
		Среднее значение ± ошибка среднего Mean ± SE	Медиана (минимальное – максимальное значение) Median (min–max)	<i>U</i> test, <i>p</i>
Нормозооспермия	34	31,4 ± 0,9	30,5 (23–46)	–
Патозооспермия, в т. ч.:	44	33,4 ± 1,0	32,0 (23–50)	>0,05
астенозооспермия	23	34,7 ± 1,5	32,0 (25–50)	>0,05
олигоастенозооспермия	9	33,0 ± 2,2	30,0 (23–41)	>0,05
олигозооспермия	5	30,2 ± 2,2	29,0 (25–37)	>0,05
астенотератозооспермия	5	32,4 ± 2,7	35,0 (26–39)	>0,05
олигоастенотератозооспермия	2	29,5 ± 0,5	29,5 (29–30)	>0,05

Для одновременной оценки широкого спектра повреждений ДНК (одно- и двунитевых разрывов, а также щелочно-лабильных сайтов ДНК и др.) использовали щелочную версию метода ДНК-комет, рекомендованную ВОЗ [3], с небольшими модификациями, описанными в инструкции по применению, утвержденной в 2016 г. Министерством здравоохранения Республики Беларусь<sup>1</sup>. Метод состоит из следующих основных этапов: (1) погружение клеток в 1 %-ную

<sup>1</sup> Метод диагностики генетически обусловленных форм мужского бесплодия: Инструкция по применению / О. В. Прибушена [и др.]; Мин-во здравоохранения Респ. Беларусь, рег. № 196-1115 от 18.03.2016 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://med.by/methods/book.php?book=2110>. – Дата доступа: 29.09.2022.

легкоплавкую агарозу, приготовленную на фосфатном солевом буфере, и наслаивание полученной суспензии клеток на цитологические стекла, покрытые 0,5 %-ной агарозой с нормальной температурой плавления; (2) лизис в растворе 2,5 М NaCl, 0,1 М EDTA, 10 mM Tris, 1 % Triton X-100, 10 % DMSO, 0,056 мг/мл протеиназы К, 5,0  $\mu$ М дитиотреитола (DTT) при 30 °С; (3) денатурация ДНК в буфере для электрофореза, содержащем 300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH  $\geq$  13, 4 °С; (4) горизонтальный электрофорез в камере для ДНК-комет «CSL-COM20» (Cleaver Scientific, Великобритания) при 4 °С, 0,7–0,8 В на 1 см расстояния между электродами и силе тока до 300 мА; (5) нейтрализация буфера для электрофореза в растворе 0,4 М Tris, pH = 7,4, 4 °С; (6) фиксация препаратов в 96 %-ном этиловом спирте, предварительно охлажденном до –20 °С; (7) окраска препаратов бромистым этидием в концентрации 20 мкг/мл и анализ повреждений ДНК с помощью флуоресцентного микроскопа BX51 (производства Olympus, Япония) при 400-кратном увеличении, фильтре возбуждения на 515–560 нм и барьерном фильтре на 590 нм; каждый образец спермы приготовлен и проанализирован на 2–3 цитологических стеклах. Результаты анализа представлены как уровни фрагментации ДНК, выраженные в условных единицах (усл. ед.) и отражающие нагруженность клеток повреждениями ДНК, а также как индекс фрагментации (DFI – DNA fragmentation index), выраженный в процентах и описывающий частоту клеток с повреждениями ДНК.

Для целевой (дифференциальной) оценки двунитевых разрывов ДНК была использована нейтральная версия ДНК комет, применяемая на различных типах клеток, в т. ч. на спермиях мужчин (обзор публикаций в [4; 5]). Основные этапы этого метода аналогичны щелочной версии ДНК-комет, описанной выше. Принципиальные отличия нейтральной версии метода состоят в проведении следующих этапов, выполненных по описанию, представленному в [13]: (этапы 3 и 4) денатурация и электрофорез ДНК в нейтральном буфере (5xTBE, pH = 7,5); (5) смывание нейтрального буфера в 0,9 %-ном растворе NaCl.

В качестве положительного контроля для двунитевых разрывов ДНК использовали образцы спермы ( $n = 2$ ) с нормозооспермией, обработанные *in vitro* в течение 1 ч во влажном контейнере при 37 °С различными концентрациями блеомицина сульфата (EDQM, France, catalog code: B1141000) – сильного радиомиметика, который признан индуктором двунитевых разрывов ДНК.

Статистическая обработка данных выполнена в пакете прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, США) с использованием возможностей описательной статистики и сравнительного анализа групп. Исследуемые параметры были проверены на нормальность распределения с использованием теста Колмогорова–Смирнова. Поскольку распределение по ряду исследуемых признаков отличалось от нормального, дальнейший сравнительный анализ выполнен с использованием непараметрического теста Манна–Уитни ( $U$  теста). Все значения  $p < 0,05$  признавались за статистически значимые.

Для наглядного представления данных использованы также графические возможности пакета Excel для Windows.

**Результаты и их обсуждение.** Сформированные группы и подгруппы исследования (табл. 1) не различались по возрасту ( $U$ -test,  $p > 0,05$ ). Медианный возраст для основных групп исследования с нормо- и патозооспермией составлял соответственно 30,5 и 32,0 года, а для подгрупп с патозооспермией находился в диапазоне 29,0–32,0. Минимальные и максимальные значения в группах составляли 23 года и 46 (или 50) лет соответственно. В группе с патозооспермией наиболее многочисленными ( $n = 23$ , или 52,3 %) были случаи с диагнозом астенозооспермия (пониженная подвижность спермиев), что позволило использовать эту подгруппу для дальнейшего статистического анализа. Остальные 4 подгруппы были малочисленными (табл. 1).

Результаты исследования фрагментации ДНК представлены в табл. 2. Оба теста: нейтральная и щелочная версия ДНК-комет – показали повышенные уровни фрагментации ДНК в группе с патозооспермией и в ее подгруппе с максимальной выборкой и диагнозом астенозооспермия по сравнению с группой мужчин, имеющих диагноз нормозооспермия. При этом уровни значимости результатов сравнительного анализа имели высокие значения ( $p \leq 2,0 \cdot 10^{-6}$ ), свидетельствуя в пользу эффективности использования нейтральной и щелочной версий ДНК-комет для диагностики качества спермы и мужской фертильности. В малочисленных подгруппах с патозооспермией

сохранялась тенденция к многократному повышению уровней двунитевых разрывов ДНК по сравнению с нормозооспермией.

Рассматривая детально результаты исследования фрагментации ДНК, следует обратить внимание на несколько моментов.

Т а б л и ц а 2. Фрагментация ДНК спермиев у мужчин с нормозооспермией и патозооспермией при использовании нейтральной и щелочной версий ДНК-комет

Table 2. Sperm DNA fragmentation in men with normozoospermia and pathozoospermia analyzed with the neutral and alkaline versions of the comet assay

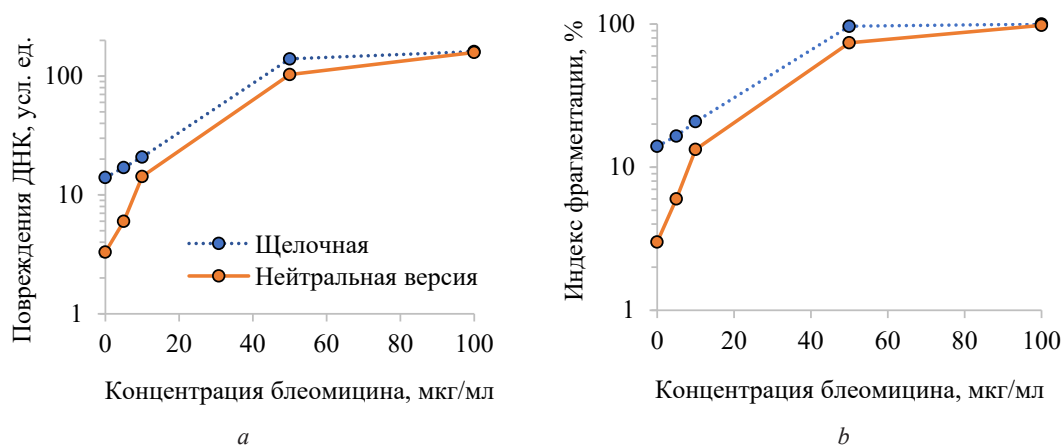
Исследуемые группы Study groups	Количество пациентов Number of patients	Повреждения ДНК (усл. ед.) DNA damage (a. u.)			Индекс фрагментации ДНК (DFI, %) DNA fragmentation index (DFI, %)		
		Среднее значение ± ошибка среднего Mean ± SE	Медиана (минимальное – максимальное значение) Median (min–max)	U-test, p	Среднее значение ± ошибка среднего Mean ± SE	Медиана (минимальное – максимальное значение) Median (min–max)	U-test, p
<i>Нейтральная версия ДНК-комет (обнаружение двунитевых разрывов ДНК)</i>							
Нормозооспермия	34	4,6 ± 0,5	4,3 (0,0–11,5)	–	4,4 ± 0,5	4,3 (0,0–10,0)	–
Патозооспермия, в т. ч.	44	31,7 ± 6,8	13,3 (2,0–235,5)	2,3 · 10 <sup>-8</sup>	19,5 ± 2,8	12,3 (2,0–83,0)	2,7 · 10 <sup>-8</sup>
астенозооспермия	23	34,9 ± 8,2	18,0 (2,5–157,5)	1,8 · 10 <sup>-7</sup>	22,3 ± 4,1	14,0 (2,5–83,0)	3,0 · 10 <sup>-7</sup>
<i>Щелочная версия ДНК-комет (обнаружение одно- и двунитевых разрывов ДНК и щелочно-лабильных сайтов ДНК)</i>							
Нормозооспермия	34	11,2 ± 1,3	9,0 (2,7–35,0)	–	11,1 ± 1,3	9,0 (2,7–34,0)	–
Патозооспермия, в т. ч.	44	105,9 ± 18,9	66,5 (3,0–400,0)	6,1 · 10 <sup>-7</sup>	56,9 ± 6,0	63,5 (3,0–100,0)	6,6 · 10 <sup>-7</sup>
астенозооспермия	23	138,1 ± 30,5	71,3 (3,0–400,0)	2,0 · 10 <sup>-6</sup>	60,7 ± 7,8	72,7 (3,0–100,0)	2,0 · 10 <sup>-6</sup>

Во-первых, при щелочной версии метода ДНК-комет, позволяющей проводить суммарную оценку одно- и двунитевых разрывов ДНК, а также щелочно-лабильных сайтов, уровни фрагментации ДНК и индекс фрагментации (DFI) в группе с нормозооспермией не превышали пороговых значений, описанных в [5], а также в инструкции по применению, утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь. В то же время в группе с патозооспермией уровни повреждений ДНК и DFI были в среднем в 7–8 раз выше, чем в норме, достигая максимальных значений (соответственно 400 усл. ед. и 100 %) у отдельных пациентов (табл. 2) и тем самым свидетельствуя о невозможности сохранения жизнеспособности этими клетками.

Во-вторых, при использовании нейтральной версии ДНК-комет установлено, что в группе с нормозооспермией количество двунитевых разрывов ДНК находится на низком уровне. Так, медианное значение для нагруженности клеток двунитевыми разрывами при нормозооспермии составляет 4,3 усл. ед. (диапазон значений от 0 до 11,5), а для количества спермиев, несущих двунитевые разрывы (индекс фрагментации или DFI), медиана также составляет 4,3 % (диапазон – от 0 до 10 %). В то же время в группе с патозооспермией зарегистрированное нами среднее значение индекса фрагментации вследствие двунитевых разрывов ДНК составляло 19,5 ± 2,8 %, что очень близко к 16,7 %, которые описаны у мужчин из супружеских пар, проходивших циклы ВРТ [14]. В целом, нейтральная версия ДНК комет показала, что в группе с патозооспермией уровни двунитевых разрывов ДНК и DFI были в 3–4 раза выше, чем при нормозооспермии, и имеют широкий диапазон индивидуальных значений, приближаясь к максимальным значениям (табл. 2).

Первичная сравнительная оценка медианных (и средних) значений двунитевых разрывов ДНК (табл. 2) с полученной нами кривой зависимости «концентрация–эффект» после обработки спермиев сульфатом блеомицином (рисунок) позволила сделать предварительные выводы о том, что поврежденность ДНК сперматозоидов двунитевыми разрывами в группе с патозооспермией соответствовала таким уровням, которые могли быть индуцированы мутагенным воздействием сульфата блеомицина в концентрациях 10–30 мкг/мл, что подтверждает высокую степень нарушения целостности ДНК сперматозоидов при пониженной фертильности.





Зависимость концентрация–эффект для уровня повреждений ДНК (а) и индекса фрагментации ДНК (б), оцененных с использованием щелочной (пунктирная линия) и нейтральной версий (сплошная линия) ДНК-комет в сперматозоидах мужчин с диагнозом нормозооспермия ( $n = 2$ ) после обработки *in vitro* различными концентрациями сульфата блеомицина. Ось у представлена в логарифмической шкале

Concentration-effect relationship for the level of DNA damage (a) and the DNA fragmentation index (b) assessed with the alkaline (dotted line) and neutral versions (solid line) of the comet assay in spermatozoa of men with normozoospermia ( $n = 2$ ) after *in vitro* treatment with various concentrations of bleomycin sulfate. The y-axis is presented on a logarithmic scale

Доля двунитевых разрывов в общем пуле повреждений ДНК была неожиданно высокой и составляла в среднем около 50 и 44 % в группе с нормозооспермией и патозооспермией соответственно. При этом индивидуальные колебания доли двунитевых разрывов находились в диапазоне 0,0–100,0 % в группе с нормозооспермией и 3,9–100,0 % у пациентов с патозооспермией. Широкий диапазон как абсолютного уровня (табл. 2), так и доли двунитевых разрывов может указывать на независимую от показаний спермограммы диагностическую ценность анализа двунитевых разрывов ДНК при поиске генетических причин мужского бесплодия.

Для диагностики генетических причин пониженной мужской фертильности в качестве референсных уровней двунитевых разрывов ДНК могут быть приняты рассчитанные нами в группе с нормозооспермией верхние значения 95 %-ного доверительного интервала, равные с округлением 5 усл. ед. для разрывов ДНК и 5 % для индекса фрагментации. При этом около 24 % исследуемых образцов (8 с нормозооспермией и 11 с патозооспермией) с низкими значениями общей фрагментации ДНК (в пределах нормы – до 22 усл. ед.) имели двунитевые разрывы в количестве выше предлагаемого референсного уровня. С учетом большого негативного эффекта двунитевых разрывов ДНК на жизнеспособность гамет и эмбрионов, это указывает на необходимость дифференциальной (целевой) оценки повреждений ДНК даже при нормальных значениях общей фрагментации ДНК сперматозоидов.

**Заключение.** Таким образом, в ходе проведенного исследования впервые описаны уровни двунитевых разрывов ДНК в сперме при нормо- и патозооспермии у мужчин белорусской популяции. Показано, что двунитевые разрывы ДНК, анализируемые с использованием нейтральной версии ДНК-комет, составляют большую долю (в среднем около 44–50 %) от общего количества повреждений ДНК, анализируемых как фрагментация ДНК с использованием щелочной версии ДНК-комет, рекомендованной ВОЗ в 2021 г. для оценки качества спермы. Установлено, что у мужчин с патозооспермией среднее количество двунитевых разрывов статистически значимо в 3–4 раза выше, чем при нормозооспермии. При этом уровни повреждения ДНК в этой группе мужчин соответствуют эффектам высоких доз радиомиметика сульфата блеомицина. В целом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о нагруженности спермиев двунитевыми разрывами ДНК, о связи между двунитевыми разрывами и мужской фертильностью, а также о необходимости проведения дальнейших исследований с целью возможного использования анализа данного типа повреждений ДНК для диагностики мужского бесплодия, а также для увеличения эффективности использования ВРТ.



**Благодарности.** Работа выполнена в рамках задания 2.2.5 «Изучение спектра повреждений ДНК спермиев при пониженной мужской фертильности» Государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» (2021–2025 гг.). Авторы выражают благодарность Н. В. Никитченко и Н. В. Савиной – научным сотрудникам Института генетики и цитологии НАН Беларуси, участвующим в формировании коллекций образцов спермы, используемой в данной работе.

**Acknowledgements.** The work was performed within the framework of project 2.2.5 “Study of the spectrum of sperm DNA damage in reduced male fertility” of the State Research Program “Biotechnology-2” (2021–2025). The authors are grateful to N. V. Nikitchenko and N. V. Savina – researchers of the Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus who participated in the formation of sperm sample collections used in this work.

### Список использованных источников

1. O’Neill, C. L. A worldwide profile of the utilization of sperm DNA fragmentation testing in relation to reproductive outcome / C. L. O’Neill, G. D. Palermo // *Translational Andrology and Urology*. – 2017. – Vol. 6, N 4. – P. 320–321. <https://doi.org/10.21037/tau.2017.09.14>
2. Zini, A. The benefits and limitations of sperm DNA testing in clinical practice / A. Zini // *Translational Andrology and Urology*. – 2017. – Vol. 6, N 4. – P. 326–327. <https://doi.org/10.21037/tau.2017.09.09>
3. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed. – Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2021. – 276 p.
4. The impact of single- and double-strand DNA breaks in human spermatozoa on assisted reproduction / A. Agarwal [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21, N 11. – Art. 3882. <https://doi.org/10.3390/ijms21113882>
5. Sperm DNA fragmentation testing: Summary evidence and clinical practice recommendations / S. C. Esteves [et al.] // *Andrologia*. – 2021. – Vol. 53, N 2. – Art. e13874. <https://doi.org/10.1111/and.13874>
6. Ribas-Maynou, J. Single and double strand sperm DNA damage: different reproductive effects on male fertility / J. Ribas-Maynou, J. Benet // *Genes*. – 2019. – Vol. 10, N 2. – Art. 105. <https://doi.org/10.3390/genes10020105>
7. A limited number of double-strand DNA breaks is sufficient to delay cell cycle progression / J. van den Berg [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2018. – Vol. 46, N 19. – P. 10132–10144. <https://doi.org/10.1093/nar/gky786>
8. Double-stranded sperm DNA damage is a cause of delay in embryo development and can impair implantation rates / A. Casanovas [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2019. – Vol. 111, N 4. – P. 699–707. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.11.035>
9. DNA double strand breaks in human spermatozoa can be predictive for assisted reproductive outcome / A. Garolla [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2015. – Vol. 31, N 1. – P. 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.03.009>
10. Investigating the level of DNA double-strand break in human spermatozoa and its relation to semen characteristics and IVF outcome using phospho-histone H2AX antibody as a biomarker / O. Coban [et al.] // *Andrology*. – 2020. – Vol. 8, N 2. – P. 421–426. <https://doi.org/10.1111/andr.12689>
11. Double stranded sperm DNA breaks, measured by Comet assay, are associated with unexplained recurrent miscarriage in couples without a female factor / J. Ribas-Maynou [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, N 9. – Art. e44679. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044679>
12. Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios / A. Agarwal [et al.] // *Translational Andrology and Urology*. – 2016. – Vol. 5, N 6. – P. 935–950. <https://doi.org/10.21037/tau.2016.10.03>
13. Double-stranded DNA breaks hidden in the neutral Comet assay suggest a role of the sperm nuclear matrix in DNA integrity maintenance / J. Ribas-Maynou [et al.] // *Molecular Human Reproduction*. – 2014. – Vol. 20, N 4. – P. 330–340. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat090>
14. The ability of sperm selection techniques to remove single- or double-strand DNA damage / M. Enciso [et al.] // *Asian Journal of Andrology*. – 2011. – Vol. 13, N 5. – P. 764–768. <https://doi.org/10.1038/aja.2011.46>

### References

1. O’Neill C. L., Palermo G. D. A worldwide profile of the utilization of sperm DNA fragmentation testing in relation to reproductive outcome. *Translational Andrology and Urology*, 2017, vol. 6, no. 4, pp. 320–321. <https://doi.org/10.21037/tau.2017.09.14>
2. Zini A. The benefits and limitations of sperm DNA testing in clinical practice. *Translational Andrology and Urology*, 2017, vol. 6, no. 4, pp. 326–327. <https://doi.org/10.21037/tau.2017.09.09>
3. *World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. 6th ed. Geneva, Switzerland, 2021. 276 p.
4. Agarwal A., Barbăroşie C., Ambar R., Finelli R. The impact of single- and double-strand DNA breaks in human spermatozoa on assisted reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 11, art. 3882. <https://doi.org/10.3390/ijms21113882>
5. Esteves S. C., Zini A., Coward R. M., Evenson D. P., Gosálvez J., Lewis S. E. M., Sharma R., Humaidan P. Sperm DNA fragmentation testing: Summary evidence and clinical practice recommendations. *Andrologia*, 2021, vol. 53, no. 2, art. e13874. <https://doi.org/10.1111/and.13874>
6. Ribas-Maynou J., Benet J. Single and double strand sperm DNA damage: different reproductive effects on male fertility. *Genes*, 2019, vol. 10, no. 2, art. 105. <https://doi.org/10.3390/genes10020105>

7. van den Berg J., Manjón A. G., Kielbassa K., Feringa F. M., Freire R., Medema R. H. A limited number of double-strand DNA breaks is sufficient to delay cell cycle progression. *Nucleic Acids Research*, 2018, vol. 46, no. 19, pp. 10132–10144. <https://doi.org/10.1093/nar/gky786>

8. Casanovas A., Ribas-Maynou J., Lara-Cerrillo S., Jimenez-Macedo A. R., Hortal O., Benet J., Carrera J., García-Peiró A. Double-stranded sperm DNA damage is a cause of delay in embryo development and can impair implantation rates. *Fertility and Sterility*, 2019, vol. 111, no. 4, pp. 699–707. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.11.035>

9. Garolla A., Cosci I., Bertoldo A., Sartini B., Boudjema E., Foresta C. DNA double strand breaks in human spermatozoa can be predictive for assisted reproductive outcome. *Reproductive BioMedicine Online*, 2015, vol. 31, no. 1, pp. 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.03.009>

10. Coban O., Serdarogullari M., Yarkiner Z., Serakinci N. Investigating the level of DNA double-strand break in human spermatozoa and its relation to semen characteristics and IVF outcome using phospho-histone H2AX antibody as a biomarker. *Andrology*, 2020, vol. 8, no. 2, pp. 421–426. <https://doi.org/10.1111/andr.12689>

11. Ribas-Maynou J., García-Peiró A., Fernandez-Encinas A., Amengual M. J., Prada E., Cortés P., Navarro J., Benet J. Double stranded sperm DNA breaks, measured by Comet assay, are associated with unexplained recurrent miscarriage in couples without a female factor. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 9, art. e44679. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044679>

12. Agarwal A., Majzoub A., Esteves S. C., Ko E., Ramasamy R., Zini A. Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios. *Translational Andrology and Urology*, 2016, vol. 5, no. 6, pp. 935–950. <https://doi.org/10.21037/tau.2016.10.03>

13. Ribas-Maynou J., Gawecka J. E., Benet J., Ward W. S. Double-stranded DNA breaks hidden in the neutral Comet assay suggest a role of the sperm nuclear matrix in DNA integrity maintenance. *Molecular Human Reproduction*, 2014, vol. 20, no. 4, pp. 330–340. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat090>

14. Enciso M., Iglesias M., Galán I., Sarasa J., Gosálvez A., Gosálvez J. The ability of sperm selection techniques to remove single- or double-strand DNA damage. *Asian Journal of Andrology*, 2011, vol. 13, no. 5, pp. 764–768. <https://doi.org/10.1038/aja.2011.46>

### Информация об авторах

*Кужель Ирена Дмитриевна* – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [i.hileuskaya@igc.by](mailto:i.hileuskaya@igc.by).

*Прибушеня Оксана Владимировна* – д-р мед. наук, доцент, заведующий лабораторией. РНПЦ «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [pribushenya@yandex.ru](mailto:pribushenya@yandex.ru).

*Наумчик Ирина Всеволодовна* – канд. мед. наук, заместитель директора. РНПЦ «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [belgenetics@yahoo.com](mailto:belgenetics@yahoo.com).

*Курлович Иван Васильевич* – канд. мед. наук, заместитель директора. РНПЦ «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [info@medcenter.by](mailto:info@medcenter.by).

*Рябокоть Надежда Ивановна* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [n.ryabokon@igc.by](mailto:n.ryabokon@igc.by).

### Information about authors

*Kuzhal Irena D.* – 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: [i.hileuskaya@igc.by](mailto:i.hileuskaya@igc.by).

*Pribushenya Oksana V.* – D. Sc. (Medicine), Associate Professor, Head of the Laboratory. State Republican Scientific and Practical Center “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [pribushenya@yandex.ru](mailto:pribushenya@yandex.ru).

*Naumchik Irina V.* – Ph. D. (Medicine), Deputy Director. State Republican Scientific and Practical Center “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [belgenetics@yahoo.com](mailto:belgenetics@yahoo.com).

*Kurlovich Ivan V.* – Ph. D. (Medicine), Deputy Director. State Republican Scientific and Practical Center “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [info@medcenter.by](mailto:info@medcenter.by).

*Ryabokon Nadezhda I.* – Ph. D. (Biology), 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: [n.ryabokon@igc.by](mailto:n.ryabokon@igc.by).

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

УДК 528.854  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-315-321>

Поступило в редакцию 20.06.2023  
Received 20.06.2023

А. А. Денисов<sup>1,2</sup>, А. В. Никифоров<sup>1</sup>, А. В. Богданова<sup>1</sup>, С. Г. Пашкевич<sup>1</sup>,  
член-корреспондент Н. С. Сердюченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь  
<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

## АНАЛИЗ ИЗОБРАЖЕНИЙ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА *IN VITRO* С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА ГЛУБОКОГО ОБУЧЕНИЯ

**Аннотация.** Представлен метод анализа изображений культивируемых клеток коры головного мозга для количественной оценки параметров развития биологических нейронных сетей с применением средств машинного обучения. Разработаны программные модули сегментации изображений на клетки, кластеры и нейриты с применением нейросетевой модели и метода глубокого обучения, сформирован обучающий набор изображений культивируемых нейронов и соответствующих масок сегментации. Результаты апробированы при анализе развития сети культивируемых нейронов *in vitro* на основе подсчета длины нейритов на различных стадиях роста культуры. Разработанные методики мониторинга процессов формирования биологических нейронных сетей на основе анализа роста нейронов в различных условиях и на различных субстратах предоставляют возможность контроля процессов дифференцировки стволовых клеток в нейрогенном направлении. Результаты могут применяться для мониторинга формирования органоидов в биоинженерных приложениях, а также при моделировании процессов регенерации нервной ткани.

**Ключевые слова:** биологические нейронные сети, сегментация изображений, глубокое обучение

**Для цитирования.** Анализ изображений клеток коры головного мозга *in vitro* с применением метода глубокого обучения / А. А. Денисов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 315–321. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-315-321>

Andrey A. Denisov<sup>1,2</sup>, Anton V. Nikiforov<sup>1</sup>, Anastasiya V. Bogdanova<sup>1</sup>,  
Svetlana G. Pashkevich<sup>1</sup>, Nikolai S. Serdyuchenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus  
<sup>2</sup>Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

## IMAGE ANALYSIS OF BRAIN CORTEX CELLS *IN VITRO* USING A DEEP LEARNING METHOD

**Abstract.** The article presents a method for analyzing images of cultured cortical cells for a quantitative analysis of the parameters of development of biological neural networks using machine learning approaches. We have developed software modules for segmentation of images into cells, clusters, and neurites using the neural network model and the deep learning method; a training set of images of cultivated neurons and corresponding segmentation masks have been generated. The results were validated by analyzing the development of cultivated neurons *in vitro* based on the length count of neurites at different growth stages of the culture. The developed methods for monitoring the processes of formation of biological neuronal networks based on the analysis of the neuronal growth under different conditions and on different substrates provide an opportunity to monitor the processes of stem cell differentiation in the neurogenic direction. The results can be used in monitoring the formation of organoids in bioengineering applications, as well as in modeling the processes of nerve tissue regeneration.

**Keywords:** biological neural networks, image segmentation, deep learning

**For citation.** Denisov A. A., Nikiforov A. V., Bogdanova A. V., Pashkevich S. G., Serdyuchenko N. S. Image analysis of brain cortex cells *in vitro* using deep learning method. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 315–321 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-315-321>

**Введение.** Методика культивирования клеток нервной ткани *in vitro* находит широкое применение как при исследовании фундаментальных принципов функционирования нейронов и биологических нейронных сетей, так и при решении практических задач биомедицинского характера, для изучения механизмов формирования патологических состояний и разработки способов их коррекции [1–3]. Особенностью экспериментальной работы с культивируемыми нейронами

является необходимость анализа изображений не только тел клеток, но и сложной сети отростков – нейритов. При этом в зависимости от условий культивирования, типа субстрата и его покрытия нейроны могут развиваться как в виде однородной культуры, так и формировать кластеры клеток в случае слабой адгезии к поверхности. В настоящее время разработаны различные программные пакеты для количественного анализа изображений нейронов и нейритов, основанные на применении алгоритмов усиления контраста, устранения фона на основе адаптивного порога яркости [4; 5]. Особенностью большинства распространенных методов является то, что они рассчитаны на работу преимущественно с изображениями, полученными методами флуоресцентной микроскопии. По сравнению, например, со светлопольными или фазово-контрастными изображениями, иммунофлуоресцентное окрашивание позволяет увеличить соотношение сигнал/шум до уровня, необходимого для приемлемой работы таких классических алгоритмов анализа. Флуоресцентные методы, однако, сопряжены с рядом трудоемких этапов и могут оказывать существенное влияние на объект исследования. Так, фиксация клеток перед процессом окрашивания делает невозможным отслеживание роста нейритов с течением времени, а этапы промывки, следующие за процессом фиксации, могут вызвать открепление нейритов от подложки.

В связи с этим актуальной является разработка методов анализа изображений нейронов, полученных с помощью световой микроскопии, для изучения динамики живых развивающихся культур клеток. Перспективные подходы в данном направлении связаны с применением современных методов машинного обучения, в том числе методов глубокого обучения, которые пригодны для работы со сложными и зашумленными изображениями. Так, архитектура нейронной сети U-Net, реализующая метод глубокого обучения, показала хорошие результаты при обработке изображений биологических объектов [6]. Задачей обработки изображения в данном случае является его сегментация, разделение на области по отдельным признакам для определения и дальнейшего анализа исследуемых объектов.

Целью работы являлась разработка и реализация метода сегментации фазово-контрастных изображений культивируемых нейронов коры головного мозга крысы на нейроны, кластеры и нейриты с применением нейросетевых моделей глубокого обучения.

**Материалы и методы исследования.** *Материалы и методы клеточного культивирования.* Нейроны коры головного мозга крысы выделяли в соответствии с нормами этического обращения с экспериментальными животными и культивировали по методике на основе протокола, представленного в [7]. Диссоциированные нейроны высевали в чашки Петри Nunclon Nunc (Thermo Fisher Scientific, США) в культуральную среду Neurobasal с добавкой B-27 (Thermo Fisher Scientific, США) и помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор при температуре 37 °С, где содержание CO<sub>2</sub> составляло 5 %. Изображения нейронов получали при помощи микроскопа Eclipse Ti2-U (Nikon, Япония) в режиме фазового контраста путем полуавтоматического сканирования заданной области.

*Реализация методов обработки изображений.* Для предварительной обработки полученных изображений применяли набор модулей собственной разработки на языке Python с использованием библиотеки OpenCV. С целью выравнивания параметров яркости и контрастности по полю сканирования полученный набор изображений объединяли и обрабатывали с применением гауссовой фильтрации и алгоритма CLAHE [8], после чего снова разбивали на отдельные изображения размером 2048 на 2048 пикселей.

Для решения задачи сегментации модифицировали модель MEDIAR-Former [9], разработанную на основе архитектуры MA-Net и учитывающую необходимость обработки гетерогенных наборов изображений, полученных методами оптической микроскопии. Структура MEDIAR-Former в общем виде состоит из блоков кодирования, декодирования и двух независимых выходных блоков распознавания клеток (CR) и разделения клеток (CD). Данная модель была модифицирована путем добавления блоков классификации клеток (CC) и сегментации нейритов (NS).

Блоки CR и CD решают задачу сегментации экземпляров объектов для различных классов, в данном случае это одиночные нейроны и клеточные кластеры. Блок CR отвечает за предсказание вероятности принадлежности выбранного пикселя к классу. Блок CD предсказывает направление градиентов яркости для дальнейшего уточнения формы и границ объектов и восстановления



точной формы. В дальнейшем данная форма уточняется при помощи бинарной маски принадлежности пикселя клетке, сформированной слоем CR. В качестве выходных данных после объединения результатов блоков CR и CD формируется маска с проиндексированными областями. Каждая такая область формирует отдельный экземпляр объекта.

Блок CC выполняет решение задачи семантической сегментации (соотнесение пикселей изображения определенному классу) полученных объектов на фон, нейроны и кластеры. Его результаты объединяются с выходной маской CR/CD, чем в итоге решается задача паноптической сегментации изображения на нейроны и кластеры. Блок NS реализует построение бинарной маски семантической сегментации нейритов.

Для блоков CR, CD, CC и NS использовали различные функции ошибок, аргументами в них являются входные и выходные паттерны, минимизация которых и является целью процесса обучения. В качестве функции ошибки CR использовали бинарную кросс-энтропию, для CD – среднеквадратическую ошибку. Для блока CC использовали комбинацию бинарной кросс-энтропии и суммы функции потерь Жаккара по каждому из классов на основе бинарных масок, полученных путем фильтрации по определенному значению. Для блока NS применяли произведение бинарной кросс-энтропии с матрицей весовых коэффициентов.

В качестве метрики результативности использовали  $F_1$ -меру как среднее гармоническое между точностью и полнотой, где точность – отношение числа истинно-положительных результатов к сумме числа истинно-положительных и ложноположительных результатов, а полнота – отношение числа истинно-положительных результатов к сумме числа истинно-положительных и ложноотрицательных результатов.

Для расчета количественных показателей длины нейритов использовали операцию скелетонизации бинарной маски, в результате чего получали набор линий, для которых рассчитывали длину.

Для создания обучающих наборов данных выполняли ручную сегментацию данных на соответствующие классы. Для ручной сегментации нейронов и кластеров разработали модуль с графическим интерфейсом, реализующий алгоритмы водораздела и GrabCut [10] и позволяющий автоматически генерировать маску объекта на основе выбора нескольких точек, определяющих объект и фон, а также автоматически разделять расположенные рядом объекты. Для ручной сегментации и количественной характеристики нейритов использовали пакет SNT программы ImageJ [11].

В качестве начального состояния использовали набор весов, полученный в результате обучения с использованием ряда открытых баз данных изображений культивируемых клеток [10], для которого затем проводили дообучение с использованием полученных изображений культивируемых нейронов и соответствующих масок, полученных в результате ручного сегментирования. Для блока NS этап дообучения производили независимо от блоков CR/CD/CC.

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 1, *a* представлен пример фазово-контрастного изображения клеток коры головного мозга крысы, полученного после одних суток культивирования. Клетки расположены равномерно по поверхности, многие нейроны имеют форму, близкую к шарообразной. Отдельные клетки вырастили одиночные короткие нейриты. На рис. 1, *b* показано изображение культуры клеток, полученное после семи суток культивирования. Нейроны приобрели более сложную форму, некоторые клетки обладают выраженными морфологическими характеристиками пирамидальных нейронов. Визуально площадь клеток увеличилась вследствие их адгезии к поверхности. На изображении появились клеточные агрегаты – кластеры за счет миграции клеток друг к другу. Нейроны сформировали развитую сеть нейритов, которые соединяют одиночные клетки и кластеры. На изображении также присутствуют фрагменты открепившихся от поверхности клеток.

На рис. 1, *c* показано соответствующее изображение маски, полученной в результате ручной сегментации изображения, представленного на рис. 1, *b*, а на рис 1, *d* – соответствующая маска, полученная в результате работы нейросетевого алгоритма.



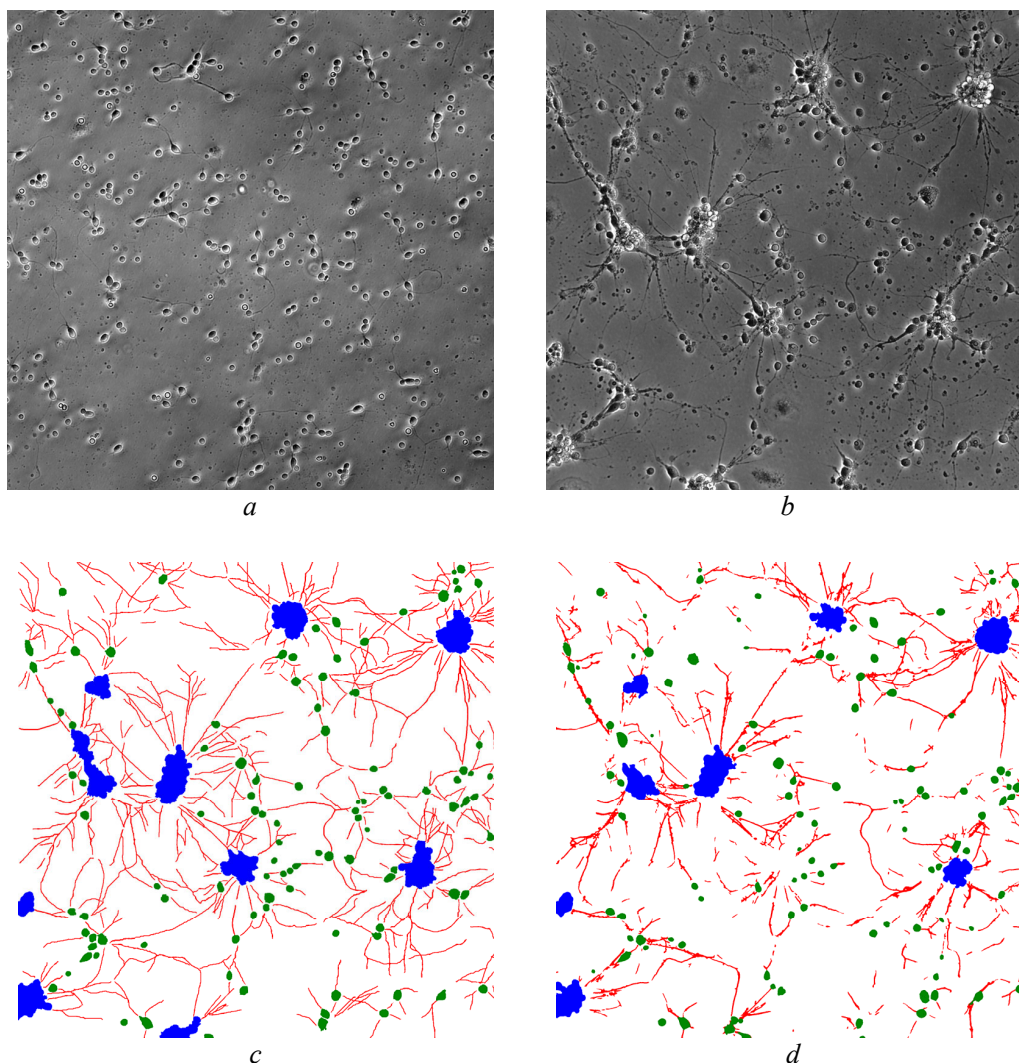


Рис. 1. Фазово-контрастное изображение нейронов коры головного мозга крысы, полученное после одних (а) и семи (b) суток культивирования. Маска для изображения нейронов после семи суток культивирования, полученная в результате ручной сегментации (c), и после нейросетевой сегментации (d) (зеленым цветом обозначены нейроны, синим – кластеры, красным – нейриты. Высота и ширина области на изображениях равны 747 мкм)

Fig. 1. Phase-contrast image of rat cerebral cortex neurons obtained after one day (a) and after seven days (b) of cultivation. Mask for neurons image after seven days of cultivation, obtained as a result of manual segmentation (c) and after neural network segmentation (d) (green indicates neurons, blue indicates clusters, and red indicates neurites. The height and width of the region in the images are equal to 747  $\mu\text{m}$ )

При сегментации тестовой выборки были получены следующие значения  $F_1$ -меры: для клеток и кластеров  $F_1 = 0,688$ , для нейритов  $F_1 = 0,609$ . Для исходной модели MEDIAR без дообучения при классификации клеток получено значение  $F_1 = 0,215$ . Таким образом, дообучение на полученных фотографиях культивируемых нейронов позволило существенно улучшить производительность сегментации нейронов.

Разработанный метод апробирован при характеристике развития сети культивируемых нейронов *in vitro* на основе подсчета длины нейритов на различных стадиях роста культуры. На рис. 2 представлен график зависимости рассчитанной суммарной длины нейритов на одном квадратном миллиметре поверхности при ручной и автоматической сегментации. Для данных на графике указаны средние значения и стандартные отклонения. Полученная зависимость для нейросетевой сегментации соответствует зависимости для ручной сегментации, но рассчитанные значения длины меньше, так как алгоритм распознает не все нейриты, определенные при ручной обработке.

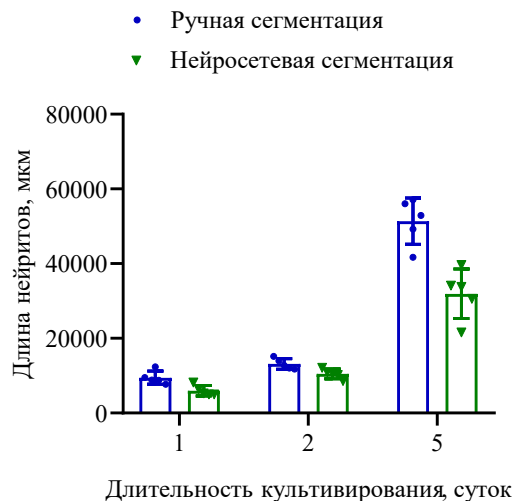


Рис. 2. Зависимость рассчитанной суммарной длины нейритов на 1 мм<sup>2</sup> поверхности от длительности культивирования при ручной и нейросетевой сегментации

Fig. 2. Dependence of the calculated total length of neurites per 1 mm<sup>2</sup> of the surface depending on the duration of cultivation with manual and neural network segmentation

Полученные значения  $F_1$ -меры при распознавании нейритов сравнимы со значениями для распознавания клеток, что свидетельствует об эффективности работы выбранной нейросетевой модели при распознавании нейритов по сравнению с классическими методами, основанными на детекции с применением порога интенсивности. При обработке изображений наиболее часто возникали сложности с дискриминацией между трехмерными кластерами и группами расположенных рядом клеток, а также при распознавании наиболее тонких нейритов, так как даже небольшие вариации фокусировки объектива при получении фазово-контрастных фотографий могут существенно изменять вид тонких объектов. Для повышения эффективности распознавания будет проводиться дальнейшее увеличение базы данных изображений культивируемых нейронов, используемых для обучения нейронной сети, а также модификация архитектуры для улучшения работы с протяженными объектами. Дальнейшее развитие представленных средств анализа также может быть направлено на разделение уже распознанных клеток на классы по морфологическим признакам, например, нейроны или глиальные клетки, при формировании соответствующей базы данных изображений. На основе получаемых в результате сегментации масок возможно проведение подсчета количества клеток на подложке, степени их адгезии к субстрату, морфологического исследования арборизации нейритов [12] и других видов анализа.

Культивирование клеток мозга *in vitro* является сложной методикой с тщательным контролем на различных этапах, поскольку нейроны требовательны и чувствительны к условиям культивирования. Тенденцию к образованию кластеров и параметры арборизации нейритов можно изменять путем нанесения дополнительных адгезивных покрытий на субстрат культивирования. При этом в научной литературе при описании особенностей методик культивирования нейронов часто встречаются лишь качественные характеристики особенностей формирования биологической нейронной сети. Это связано прежде всего с трудоемкостью количественного анализа роста нейритного дерева без высокопроизводительных средств автоматизации. Для используемых в работе изображений первичной культуры клеток коры головного мозга крысы, в отличие от фотографий перевиваемых линейных культур клеток, характерно наличие объектов с разнородной морфологией – клеток различных типов, сети нейритов, дебриса в виде остаточных фрагментов после этапов диспергирования нервной ткани, что в целом делает автоматизацию сегментации таких изображений трудновыполнимой задачей с применением классических методов на основе пороговой детекции объектов. В связи с этим полученные результаты могут применяться при апробации новых экспериментальных методик выращивания нейронов, в том числе на новых типах субстратов, для количественного мониторинга прикрепления и адгезии клеток, роста нейритов.

Примененные в данной работе нейросетевые подходы к обработке изображений требуют предварительного этапа подготовки – обучения на подготовленных и специально размеченных наборах данных, представляющих из себя выборку изображений, на которых выделены и классифицированы требуемые объекты. При этом, для них характерна высокая гибкость и адаптивность к изменяющимся характеристикам изображения без необходимости дополнительного применения ручной подстройки параметров для отдельных изображений. Особенностью представленного в работе подхода на основе метода глубокого обучения является возможность организации процесса анализа больших объемов данных с минимизацией этапов ручной обработки и настройки.

Разработанные методики могут применяться и для анализа изображений, получаемых при проведении других типов экспериментов с культивируемыми клетками, например, при исследовании процессов дифференцировки стволовых клеток в нейрональном направлении, при разработке биоинженерных конструкций для моделирования процессов регенерации нервной ткани [13]. Полученные результаты применимы дополнительно к стандартным процедурам фенотипирования, прижизненно, без ухудшения условий культивирования для стандартизации популяции клеток одного типа с воспроизводимым клеточным составом, после изъятия организма биологического материала с последующим культивированием клеток вне организма для создания лекарственных препаратов на основе соматических клеток. Возможности детекции классов клеток и клеточных кластеров могут быть использованы при работе с экспериментальными системами на основе органоидов – «минимозг», для моделирования процессов развития нервной системы [14; 15].

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность А. А. Калиновскому (компания OneSoil) за помощь при разработке нейросетевой модели.

**Acknowledgements.** The authors are grateful to A. A. Kalinovsky (OneSoil) for help in developing the neural network model.

#### Список использованных источников

1. The application of *in vitro*-derived human neurons in neurodegenerative disease modeling / G. X. D'Souza [et al.] // J. Neurosci. Res. – 2021. – Vol. 99, N 1. – P. 124–140. <https://doi.org/10.1002/jnr.24615>
2. Pacitti, D. Organs to Cells and Cells to Organoids: The Evolution of *in vitro* Central Nervous System Modelling / D. Pacitti, R. Privolizzi, B. E. Bax // Front. Cell. Neurosci. – 2019. – Vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00129>
3. Advances in *ex vivo* models and lab-on-a-chip devices for neural tissue engineering / S. Mobini [et al.] // Biomaterials. – 2019. – Vol. 198. – P. 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.05.012>
4. A rapid and accurate method to quantify neurite outgrowth from cell and tissue cultures: Two image analytic approaches using adaptive thresholds or machine learning / A. Ossinger [et al.] // J. Neurosci. Methods. – 2020. – Vol. 331. – Art. 108522. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2019.108522>
5. NeuroTES. Monitoring neurite changes through transfer entropy and semantic segmentation in bright-field time-lapse microscopy / A. Mencattini [et al.] // Patterns. – 2021. – Vol. 2, N 6. – Art. 100261. <https://doi.org/10.1016/j.patter.2021.100261>
6. U-Net and its Variants for Medical Image Segmentation: A Review of Theory and Applications / N. Siddique [et al.] // IEEE Access. – 2021. – Vol. 9. – P. 82031–82057. <https://doi.org/10.1109/access.2021.3086020>
7. Facci, L. Culture of rodent cortical and hippocampal neurons / L. Facci, S. D. Skaper // Neurotrophic Factors. – 2012. – Vol. 846. – P. 49–56. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-536-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-536-7_5)
8. Reza, A. M. Realization of the Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization (CLAHE) for Real-Time Image Enhancement / A. M. Reza // J. VLSI Signal Process. Syst. Signal Image Video Technol. – 2004. – Vol. 38, N 1. – P. 35–44. <https://doi.org/10.1023/b:vlsi.0000028532.53893.82>
9. MEDIAR: Harmony of Data-Centric and Model-Centric for Multi-Modality Microscopy / G. Lee [et al.] // arXiv:2212.03465. – 2022. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2212.03465>
10. Rother, C. “GrabCut”: interactive foreground extraction using iterated graph cuts / C. Rother, V. Kolmogorov, A. Blake // ACM Trans. Graph. – 2004. – Vol. 23, N 3. – P. 309–314. <https://doi.org/10.1145/1015706.1015720>
11. SNT: a unifying toolbox for quantification of neuronal anatomy / C. Arshadi [et al.] // Nat. Methods. – 2021. – Vol. 18, N 4. – P. 374–377. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01105-7>
12. Sholl analysis: a quantitative comparison of semi-automated methods / K. E. Binley [et al.] // J. Neurosci. Methods. – 2014. – Vol. 225. – P. 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.01.017>
13. Stukel, J. M. The interplay of peptide affinity and scaffold stiffness on neuronal differentiation of neural stem cells / J. M. Stukel, R. K. Willits // Biomed. Mater. – 2018. – Vol. 13, N 2. – Art. 024102. <https://doi.org/10.1088/1748-605x/aa9a4b>
14. Human brain organoid-on-a-chip to model prenatal nicotine exposure / Y. Wang [et al.] // Lab Chip. – 2018. – Vol. 18, N 6. – P. 851–860. <https://doi.org/10.1039/c7lc01084b>
15. Costamagna, G. Advancing Drug Discovery for Neurological Disorders Using iPSC-Derived Neural Organoids / G. Costamagna, G. P. Comi, S. Corti // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, N 5. – Art. 2659. <https://doi.org/10.3390/ijms22052659>

## References

1. D'Souza G. X., Rose S. E., Knupp A., Nicholson D. A., Keene C. D., Young J. E. The application of *in vitro*-derived human neurons in neurodegenerative disease modeling. *Journal of Neuroscience Research*, 2021, vol. 99, no. 1, pp. 124–140. <https://doi.org/10.1002/jnr.24615>
2. Pacitti D., Privolizzi R., Vax B. E. Organs to Cells and Cells to Organoids: The Evolution of *in vitro* Central Nervous System Modelling. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2019, vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00129>
3. Mobini S., Hye Y. S., McCrary M. W., Schmidt C. E. Advances in *ex vivo* models and lab-on-a-chip devices for neural tissue engineering. *Biomaterials*, 2019, vol. 198, pp. 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.05.012>
4. Ossinger A., Bajic A., Pan S., Andersson B., Ranefall P., Hailer N. P., Schizas N. A rapid and accurate method to quantify neurite outgrowth from cell and tissue cultures: Two image analytic approaches using adaptive thresholds or machine learning. *Journal of Neuroscience Methods*, 2020, vol. 331, art. 108522. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2019.108522>
5. Mencattini A., Spalloni A., Casti P., Comes M. C., Giuseppe D. D., Antonelli G., D'Orazio M., Filippi J., Corsi F., Isambert H., Di Natale C., Longone P., Martinelli E. NeuroTES. Monitoring neurite changes through transfer entropy and semantic segmentation in bright-field time-lapse microscopy. *Patterns*, 2021, vol. 2, no. 6, art. 100261. <https://doi.org/10.1016/j.patter.2021.100261>
6. Siddique N., Paheding S., Elkin C. P., Devabhaktuni V. U-Net and its Variants for Medical Image Segmentation: A Review of Theory and Applications. *IEEE Access*, 2021, vol. 9, pp. 82031–82057. <https://doi.org/10.1109/access.2021.3086020>
7. Facci L., Skaper S. D. Culture of rodent cortical and hippocampal neurons. *Neurotrophic Factors*, 2012, vol. 846, pp. 49–56. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-536-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-536-7_5)
8. Reza A. M. Realization of the Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization (CLAHE) for Real-Time Image Enhancement. *Journal of VLSI Signal Processing-Systems for Signal, Image, and Video Technology*, 2004, vol. 38, no. 1, pp. 35–44. <https://doi.org/10.1023/b:vlsi.0000028532.53893.82>
9. Lee G., Kim S., Kim J., Yun S.-Y. MEDIAR: Harmony of Data-Centric and Model-Centric for Multi-Modality Microscopy. *arXiv:2212.03465*, 2022. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2212.03465>
10. Rother C., Kolmogorov V., Blake A. “GrabCut”: interactive foreground extraction using iterated graph cuts. *ACM Transactions on Graphics*, 2004, vol. 23, no. 3, pp. 309–314. <https://doi.org/10.1145/1015706.1015720>
11. Arshadi C., Günther U., Eddison M., Harrington K. I. S., Ferreira T. A. SNT: a unifying toolbox for quantification of neuronal anatomy. *Nature Methods*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 374–377. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01105-7>
12. Binley K. E., Ng W. S., Tribble J. R., Song B., Morgan J. E. Sholl analysis: a quantitative comparison of semi-automated methods. *Journal of Neuroscience Method*, 2014, vol. 225, pp. 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.01.017>
13. Stukel J. M., Willits R. K. The interplay of peptide affinity and scaffold stiffness on neuronal differentiation of neural stem cells. *Biomedical Materials*, 2018, vol. 13, no. 2, art. 024102. <https://doi.org/10.1088/1748-605x/aa9a4b>
14. Wang Y., Wang L., Zhu Y., Qin J. Human brain organoid-on-a-chip to model prenatal nicotine exposure. *Lab on a Chip*, 2018, vol. 18, no. 6, pp. 851–860. <https://doi.org/10.1039/c7lc01084b>
15. Costamagna G., Comi G. P., Corti S. Advancing Drug Discovery for Neurological Disorders Using iPSC-Derived Neural Organoids. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 5, art. 2659. <https://doi.org/10.3390/ijms22052659>

## Информация об авторах

Денисов Андрей Анатольевич – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: an.denisov@gmail.com.

Никифоров Антон Владимирович – стажер мл. науч. сотрудника. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sky92033@live.com.

Богданова Анастасия Валерьевна – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: bognasty23@mail.ru.

Пашкевич Светлана Георгиевна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: skupasht@mail.ru.

Сердюченко Николай Сергеевич – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: temporo@mail.ru.

## Information about the authors

Denisov Andrey A. – Ph. D. (Biology), Head of the Laboratory. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: an.denisov@gmail.com.

Nikiforov Anton V. – Trainee Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sky92033@live.com.

Bahdanava Anastasiya V. – Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bognasty23@mail.ru.

Pashkevich Svetlana G. – Ph. D. (Biology), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: skupasht@mail.ru.

Serdyuchenko Nikolai S. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: temporo@mail.ru.



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

UDC 624.121:004.94

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-322-330>

Received 10.10.2022

Поступило в редакцию 10.10.2022

**Denis A. Diulin<sup>1</sup>, Academician Viktor Y. Prushak<sup>2</sup>, Maryna G. Gegedesh<sup>3</sup>**<sup>1</sup>*Trest Shahtospetsstroy, Soligorsk, Republic of Belarus*<sup>2</sup>*Soligorsk Institute of Resources Saving Problems with Pilot Production, Soligorsk, Republic of Belarus*<sup>3</sup>*Belarusian State University of Transport, Gomel, Republic of Belarus***ANALYSIS OF THE STRESS-STRAIN STATE OF PROBLEMATIC SECTIONS OF THE SHAFT OF THE MINE USING COMPUTER SIMULATION**

**Abstract.** The article presents the computer simulation results for the stress-strain state of the lining sections of the shaft No. 1 of mine 3 of JSC Belaruskali that were obtained using visual and instrumental investigation of the mine lining state. The loading parameters of the shaft take into account the specific feature of the lateral pressure calculation in the considered location. This means that the shaft intersects vertically rocks different in their physical and mechanical properties. Computer simulation of loading of the most problematic vertical mine shaft sections observed by the lining examination results was performed using the Static Structural component of the ANSYS Workbench engineering software package. Distribution diagrams of longitudinal normal, shear and von Mises equivalent stresses in the vertical mine shaft lining are obtained for the design and residual values of the cast-iron tubing thickness. A comparative analysis of the mine shaft residual bearing capacity for various parameters of the lining elements was carried out. Based on the computer simulation results, the conclusions were made on the bearing capacity of the shaft No. 1 of mine 3 of JSC Belaruskali and the recommendations for a further safe operation of the mine shaft were suggested.

**Keywords:** vertical mine shaft, rock pressure, stress-strain state, computer simulation, bearing capacity

**For citation.** Diulin D. A., Prushak V. Y., Gegedesh M. G. Analysis of the stress-strain state of problematic sections of the shaft of the mine using computer simulation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 322–330. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-322-330>

**Д. А. Диулин<sup>1</sup>, академик В. Я. Прушак<sup>2</sup>, М. Г. Гегедеш<sup>3</sup>**<sup>1</sup>*Трест Шахтоспецстрой, Солигорск, Республика Беларусь*<sup>2</sup>*Солигорский Институт проблем ресурсосбережения с Опытным производством, Солигорск, Республика Беларусь*<sup>3</sup>*Белорусский государственный университет транспорта, Гомель, Республика Беларусь***АНАЛИЗ НАПРЯЖЕННО-ДЕФОРМИРОВАННОГО СОСТОЯНИЯ ПРОБЛЕМНЫХ МЕСТ ШАХТНОГО СТВОЛА РУДНИКА НА ОСНОВЕ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**

**Аннотация.** Представлены результаты компьютерного моделирования напряженно-деформированного состояния участков крепи ствола № 1 рудника 3 ОАО «Беларуськалий», выполненные на основе визуального и инструментального обследования состояния крепи. Параметры нагружения ствола шахты учитывают особенность расчета бокового давления на рассматриваемом участке, заключающуюся в пересечении вертикальной выработкой различных по своим физико-механическим свойствам горных пород. Компьютерное моделирование нагружения части ствола, в которой наблюдаются наиболее проблемные по результатам обследования крепи участки, выполнено с использованием компоненты Static Structural инженерного программного комплекса ANSYS Workbench методом конечных элементов. Получены диаграммы распределения продольных нормальных, сдвиговых и эквивалентных по Мизесу напряжений в крепи вертикального ствола шахты на самом проблемном участке для проектных и остаточных значений толщин чугунного тубинга и затубинговой бетонной крепи. Произведен сравнительный анализ остаточной несущей способности ствола шахты при различных параметрах крепи. На основании результатов компьютерного моделирования сделаны выводы о несущей способности ствола № 1 рудника 3 ОАО «Беларуськалий» и предложены рекомендации по дальнейшей безопасной эксплуатации ствола шахты.



**Ключевые слова:** вертикальный ствол шахты, давление горных пород, напряженно-деформированное состояние, компьютерное моделирование, несущая способность

**Для цитирования.** Диулин, Д. А. Анализ напряженно-деформированного состояния проблемных мест шахтного ствола рудника на основе компьютерного моделирования / Д. А. Диулин, В. Я. Прушак, М. Г. Гегедеш // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 322–330. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-322-330>

**Introduction.** The stability of the mine shafts is a key problem of their operation and largely depends on the mechanical properties of the rock array. In many rocks, including salts, the monolithic concrete lining is traditionally used in the shaft construction [1]. Over time, its deformation and destruction takes place due to the constant pressure from the rock masses. Moreover, this pressure gradually increases due to the salt rocks creep without visible destruction of the massif [2; 3].

The most accurate information about the state of the shaft concrete lining and the cast-iron tubing can be obtained only by the experimental way [4], but it is often the complex problem due to the inaccessibility of the great amount of locations for the direct instrumental control [5]. Therefore, nowadays there are many methods for diagnosing the state of mine shaft lining elements, for example, field research [6], GPS monitoring [7], thermo sensors [8], methods of ultrasound tomography and shock echo [9], spectral and deformation analysis of the “shaft-arming” system for the vertical shafts [10], georadiolocation [11], etc. The mentioned methods can effectively provide data on the structures deformation but cannot prevent or predict the destruction of the elements in advance.

One of the perspective ways to evaluate the mine shaft bearing capacity is the computer simulation. In particular, the authors of works [12; 13] offered approaches to computer modeling at vertical mines designing stage. The numerical modeling of the concrete lining loading for the horizontal tunnels, strengthened by metal reinforcement with the experimentally confirmed results are given in [14].

In the investigation [15], there are presented the results of the stress-deformed state analysis for the part of the coal mine cylindrical vertical shaft obtained on the base of a finite-elemental modeling. The continuation of these studies is given in the dissertation [16]. In the study [17], an analysis of the stresses distribution around the vertical shaft of the mine with a 10 m diameter round cross-section under the action of three-dimensional load is carried out using the finite element method.

Thus, the purpose of the presented work is to evaluate the stress-deformed state of the shaft No. 1 of mine 3 of the JSC Belaruskali on the base of the finite element computer modeling considering the peculiarities of the shaft state obtained by its visual and instrumental control, described in [18].

**Features of the design and the state of the shaft No. 1 of mine 3.** The shaft upper part fastening from 12.6 to 322.54 m is made by the reinforced cast iron tubing type (K-30, K-40, K-50, K-60) with a wall thickness from 30 to 60 mm with a filling of the space around tubing with the M200 concrete. The shaft section between the marks of 322.54 and 615.57 m is fixed by a two-layer monolithic concrete lining with a total thickness of 450 mm. The bottom part of the shaft from 615.57 to 623.8 m is reinforced by the cast-iron tubing with the lead waterproofing and the M200 concrete in the space around the tubing [18].

In accordance with the report [18], the degree of corrosion of the shaft cast-iron tubing is reduced in the direction from the upper layer in the direction of the shaft bottom. The most intensive corrosion is observed in the upper part of the tubing column between 4–40 layers of reinforcement. The defects are the destruction by 30–40 % of the initial size of the tubing walls and the fastening bolts for the tubing sections. An intensive corrosion of tubing lining is also observed in the locations where the underground waters seal through the joints of tubing sections and the picotage seams (between layers 20–29 and 37–48).

The water sealing through the tubing lining can be characterized as sucking (the formation of wet spots) and dripping. The most intensive water sealing is observed in the location of support crowns No. 3 between layers 28–29 (fig. 1) and No. 4 between layers 37–38 (fig. 2) of the mine shaft lining.

**Materials and methods of research.** The geometric parameters of the mine shaft correspond to the parameters specified in [18]. Calculations of the lateral pressure on the shaft No. 1 of mine 3 ( $H = 623.8$  m) are performed on the basis of geological data from [18] and the formulas given in [19]. The obtained results were used as an initial data for the computer modeling. The external pressure acting from the surrounding rocks on the shaft is calculated considering every rock mass layer and it depends almost linearly on the depth  $H$ .

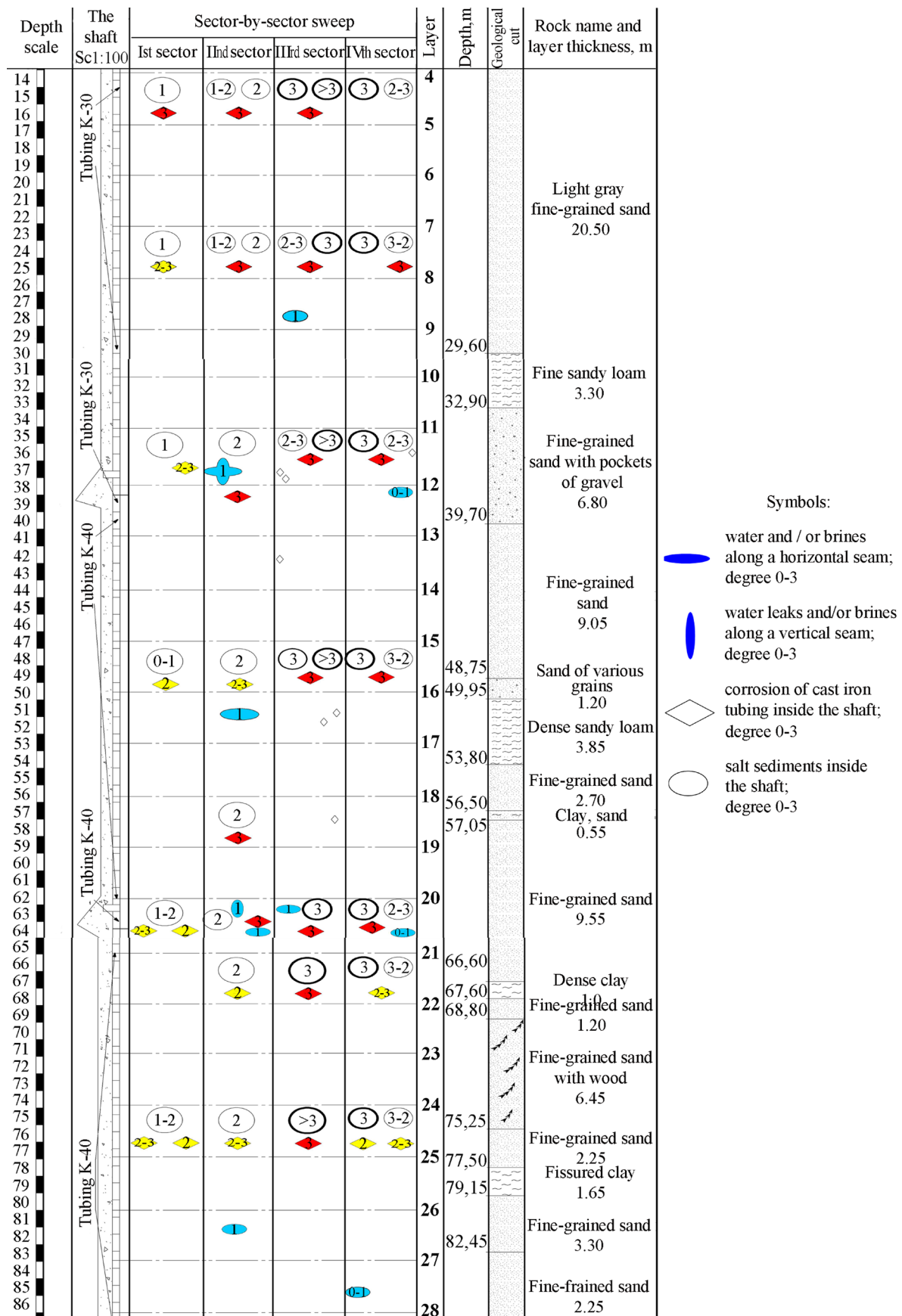


Fig. 1. Mining-geological and mining-technical conditions and technical condition of the lining of shaft No. 1 of mine 3 on layers 4–28

With a known value of the external pressure on the vertical mine shaft, the stresses in the  $i$ -th cross section of the shaft can be calculated using the Lamé formulas for a thick-walled cylinder [20]:

$$\sigma_{ri} = -\frac{1}{r_i^2 - r_{0i}^2} \left[ p_{(1)i} r_i^2 \left( 1 - \frac{r_{0i}^2}{r_i^2} \right) + p_{(0)i} r_{0i}^2 \left( \frac{r_i^2}{r_{0i}^2} - 1 \right) \right]; \tag{1}$$

$$\sigma_{\tau i} = -\frac{1}{r_i^2 - r_{0i}^2} \left[ p_{(1)i} r_i^2 \left( 1 + \frac{r_{0i}^2}{r_i^2} \right) - p_{(0)i} r_{0i}^2 \left( \frac{r_i^2}{r_{0i}^2} + 1 \right) \right], \tag{2}$$

where  $\sigma_{ri}$ ,  $\sigma_{\tau i}$  – the internal normal and shear stresses, Pa;  $r_i$ ,  $r_{0i}$  – the project and the internal radii of shaft lining for the circle cross-section, m;  $p_{(0)}$ ,  $p_{(1)}$  – the internal and the external pressure correspondingly, Pa.

If the external pressure on the mine shaft is equal to the value at its bottom, and the internal pressure is equal to zero, equations (1), (2) take the form:

$$\sigma_{ri} = -\frac{1}{r_i^2 - r_{0i}^2} q_{bi} r_i^2 \left( 1 - \frac{r_{0i}^2}{r_i^2} \right); \tag{3}$$

$$\sigma_{\tau i} = -\frac{1}{r_i^2 - r_{0i}^2} q_{ni} r_i^2 \left( 1 + \frac{r_{0i}^2}{r_i^2} \right). \tag{4}$$

However, the obtained equations (3), (4) are valid for sections with only concrete lining of a constant cross section. In the remaining sections of the shafts, it is necessary to use formulas for compound cylinders. Their application is difficult due to the changing thickness of the tubing and the concrete ring around the tubing. At different depths the cross-sections of shaft No. 1 of mine 3 vary in external  $R_{\text{external}}$  and internal  $R_{\text{internal}}$  radii, the thickness of concrete  $t_{\text{concrete}}$  and cast iron  $t_{\text{cast iron}}$  lining, as well as in the characteristics of the elements forming the annular section of the mine shaft (table).

**Characteristics of the shaft No. 1 of mine 3 lining ( $H = 623.8$  m)**

$H$ , m		Concrete lining				Cast-iron tuning		
from	to	$R_{\text{external}}$ , m	$R_{\text{internal}}$ , m	$t_{\text{concrete}}$ , mm	Concrete type	$R_{\text{external}}$ , m	$R_{\text{internal}}$ , m	$t_{\text{cast iron}}$ , mm
0	12.60	4.020	3.500	520	200	–	–	–
12.60	38.90	4.050	3.530	520	200	3.530	3.500	30
38.90	116.52	4.060	3.540	520	200	3.540	3.500	40
116.52	193.02	4.070	3.550	520	200	3.550	3.500	50
193.02	220.00	3.910	3.550	360	200	3.550	3.500	50
220.00	322.54	3.920	3.560	360	200	3.560	3.500	60
322.54	615.57	4.000	3.550	450	200	–	–	–
615.57	623.8	3.810	3.610	200	200	3.610	3.550	60

Typical defects of the cast-iron tubing and concrete lining of the shaft No. 1 of mine 3 are shown in fig. 3.

Therefore, there should be implemented the numerical approaches to solving problems on the mine shaft lining strength. So, the analysis of the stress-strained state of the shaft No. 1 of mine 3 is performed using the Static Structural component of the ANSYS Workbench. Computer simulations are performed for the design and 60 % values of tubing thicknesses in accordance with the results of the mine shaft control given in [18]. The stress-strain state of the shaft lining is analyzed at various values of the concrete lining thickness: from 100 to 60 %.

The following characteristics of the shaft lining materials are accepted [21; 22]: density:  $\rho_{\text{concrete}} = 2000 \text{ kg/m}^3$ ;  $\rho_{\text{cast iron}} = 7600 \text{ kg/m}^3$ ; elasticity modulus:  $E_{\text{concrete}} = 23.5 \text{ MPa}$ ;  $E_{\text{cast iron}} = 83.4 \cdot 10^4 \text{ MPa}$ ; Poisson's ratio:  $\mu_{\text{concrete}} = 0.2$ ;  $\mu_{\text{cast iron}} = 0.25$ . The parameters of the shaft

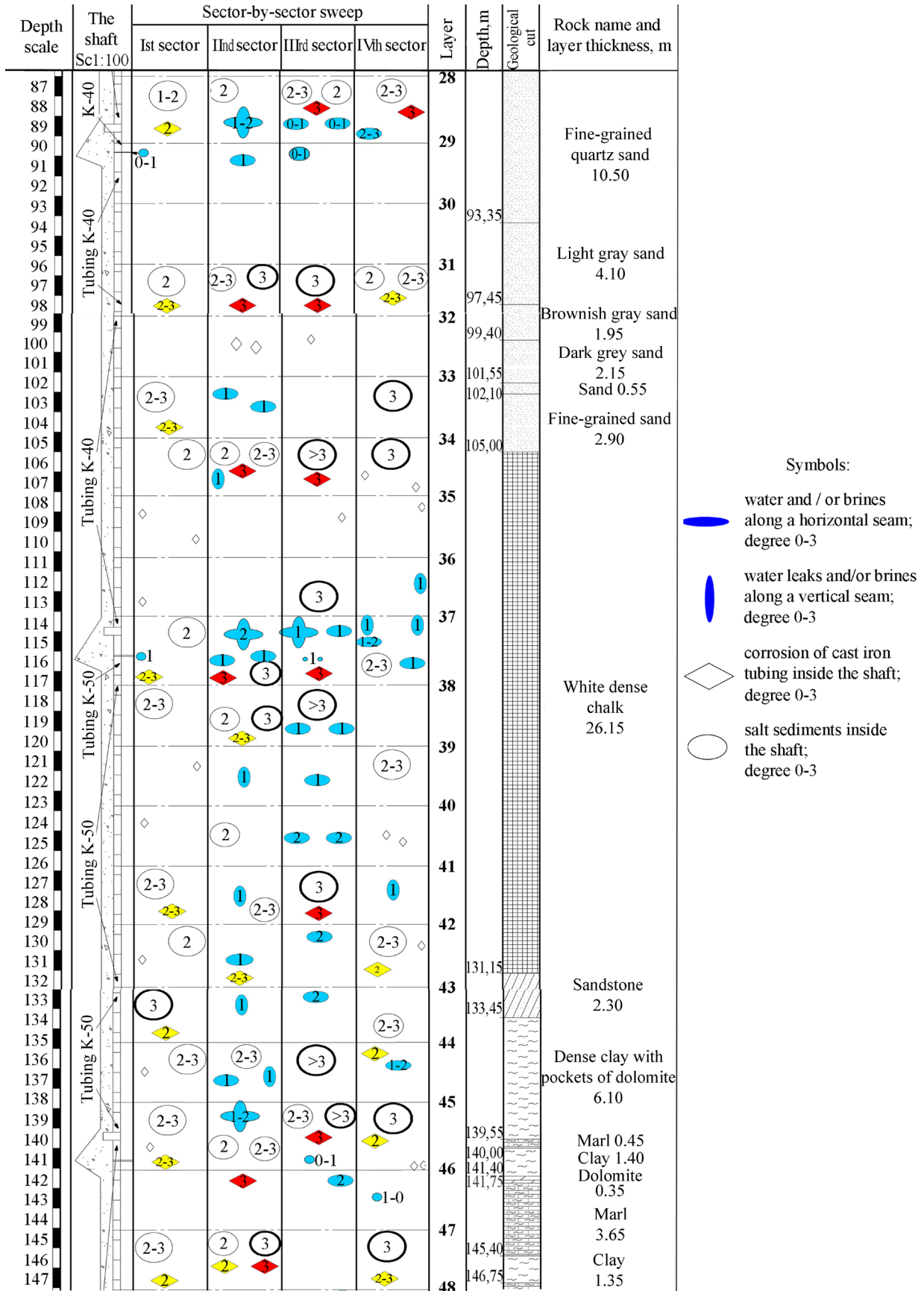


Fig. 2. Mining-geological and mining-technical conditions and technical condition of the lining of shaft No. 1 of mine 3 on layers 29–47



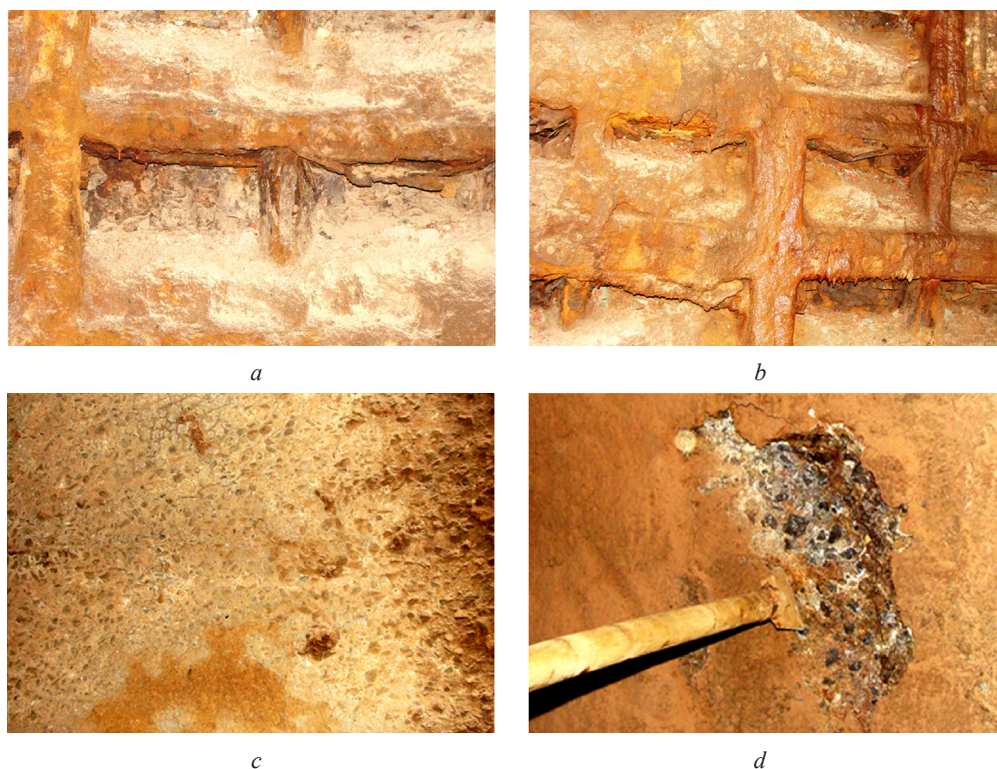


Fig. 3. Examples of the changed state of tubing and concrete lining of shaft No. 1 of mine 3: *a, b* – defects of cast-iron tubing; *c, d* – the condition of the lining

loading are taken from the [19]. The geometry, finite element models and the loading scheme of the mine shaft on lauers 1–47 are shown in fig. 4. The lower part of the considered shaft section is fixed from vertical movements.

The peculiarity of the performed analysis is that it is a multibody analysis and there are the surface-to-surface contact areas between the cast-iron tubing and the concrete lining around the tubing. The convex tubing surface is chosen as a contact surface and concave concrete surface is chosen as a target surface.

**Computer simulation results.** The stress distribution diagrams in the longitudinal and lateral directions, as well as von Mises equivalent stresses in the cast-iron tubing of the vertical mine shaft were obtained for the cast-iron tubing and the concrete lining design and residual thicknesses values.

The computational results of the shaft stress-strain state demonstrate that when the cast-iron tubing thickness is thinned by 40 %, the maximal von Mises equivalent stresses reach 162.86 MPa and exceed the values obtained for the design structure of the considered part of the shaft by 60.28 %. The maximal compressive stresses in the longitudinal direction of the shaft increase by 118.07 %, and the shear stresses increase by 54.89 %, but they don't exceed the allowed values for the cast iron (fig. 5, *a*).

With the design geometry of the vertical shaft, the maximal normal stresses values in the concrete lining reach 7.830 MPa, the maximal shear stresses are 4.858 MPa.

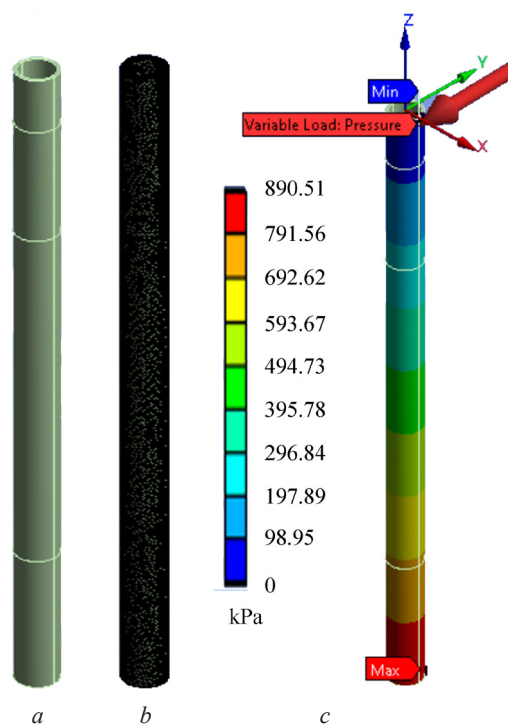


Fig. 4. The geometry, finite element models of the shaft No. 1 of mine 3 (layers 1–47) and the lateral loading scheme: *a* – geometry model; *b* – finite element model; *c* – lateral loading scheme



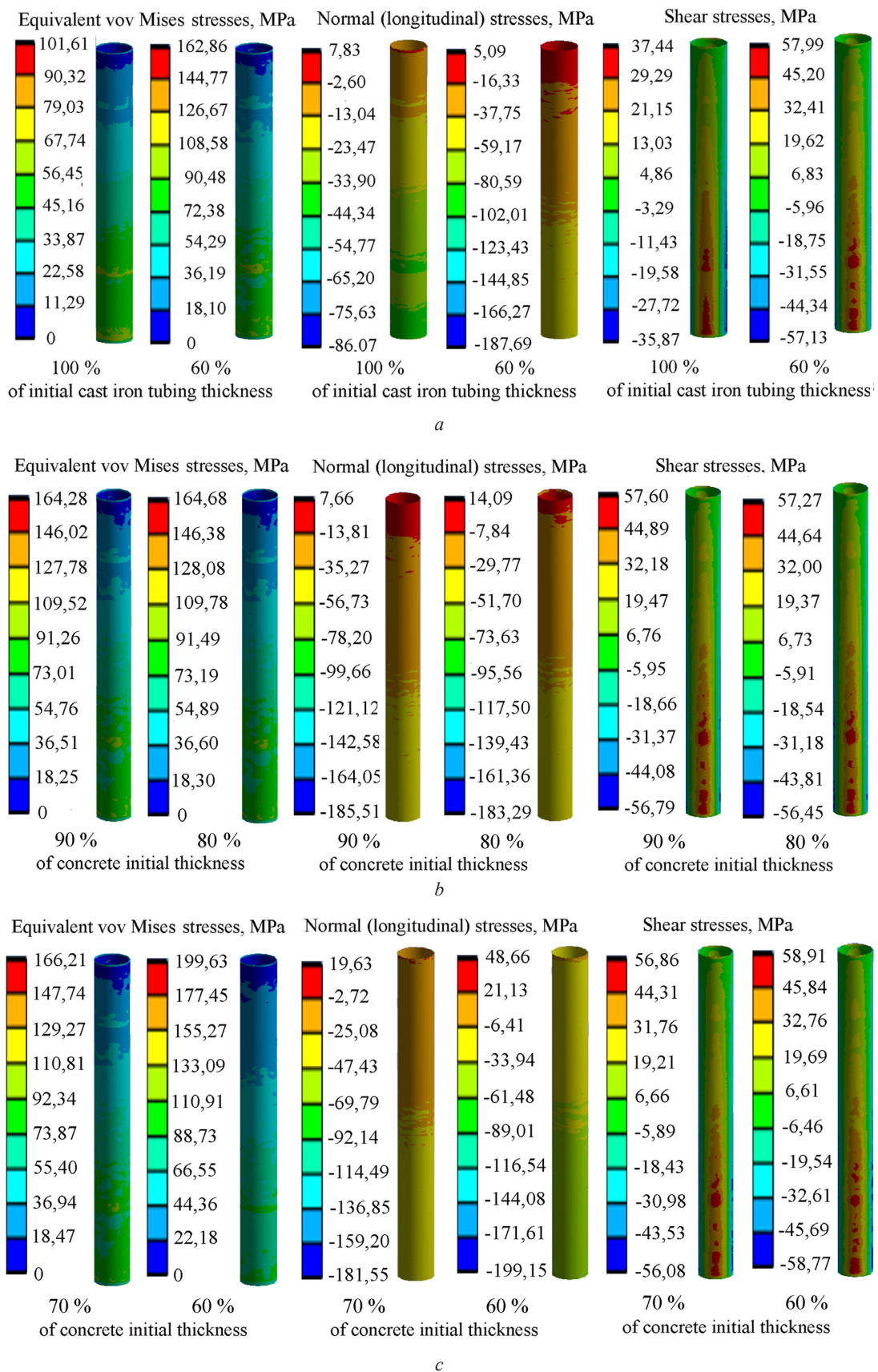


Fig. 5. The results of the stress-strain state calculation for the cast-iron tubing of the shaft No. 1 of mine 3 (layers 1–47):  
*a* – at its initial and changed and thicknesses (at 100 % of the initial thickness of concrete);  
*b, c* – with different thickness of concrete lining (at 60 % of the initial thickness of cast-iron tubing)

With a changed thickness of cast-iron tubing, the maximal values of normal stresses in the concrete lining reach 17.806 MPa, the maximal shear stresses values are 6.825 MPa.

For the projected thicknesses of the cast iron tubing and concrete lining the maximal deformations are 0.299 mm in longitudinal and 0.785 mm in lateral directions and 4.024 mm in longitudinal and 7.058 mm in lateral directions correspondingly. When the thickness of the cast-iron tubing is reduced to 60 %, the maximal deformations of the tubing are 0.300 mm in longitudinal and 0.797 mm in lateral directions; of the concrete lining: 4.091 mm in longitudinal and 7.091 mm in lateral directions.

Other results are obtained for various residual thicknesses of concrete lining and the 60 % thickness of cast-iron tubing (fig. 5, b, c).

The performed calculations show that at concrete thickness of 70–90 % from the initial value, the equivalent von Mises stresses increase insignificantly (up to 3 %) compared to the results obtained for the initial concrete thickness in the space around cast iron tubing.

When the concrete thickness reaches 312 mm (it is 60 % of the initial thickness of the concrete lining) there can be observed a sharp increase in the maximal equivalent stresses by 21.22 %. In this case, the maximal deformation of the tubing is 0.375 mm in longitudinal direction and 0.796 mm in lateral direction; in the concrete lining: 4.105 mm in the longitudinal and 7.091 mm in the transverse directions; the maximal normal stresses in concrete in the longitudinal direction of the shaft are 21.125 MPa, the maximal shear stresses reach 6.964 MPa.

**Conclusions.** For the analyzed part of the lining (layers 1–47) shaft No. 1 of mine 3, at the most unfavorable conditions (residual thicknesses of the cast iron tubing and behind-tubing concrete lining), the maximal equivalent von Mises stresses reach 199.63 MPa and they are 96.47 % higher than the values obtained for the initial thicknesses of the considered shaft part cross-sections. The maximal longitudinal compressive stresses increase in this case by 131.38 % for the cast iron tubing and by 169.80 % for the concrete lining.

Normal stresses in the shaft concrete lining increase by 19 % and more with a decrease in its thickness by 30 % and more for the case of 60 % cast iron tubing thickness. Additionally, it is necessary to take into account the factor of deterioration of concrete properties over a long period of the mine operation.

It is recommended to carry out regular diagnostics of the cast-iron tubing and concrete lining state, as well as to implement measures to strengthen the cast-iron tubing and restore the bearing capacity of the mine shaft to reduce the likelihood of an emergency during its operation.

## References

1. Olhovikov Yu. P. *Lining of capital excavations of potash and salt mines*. Moscow, 1984. 238 p. (in Russian).
2. Alymenko D. N., Soloviev V. A., Aptukov V. N., Kotlyar E. K. The use of lightweight types of lining while maintaining shaft workings in salt rocks. *Gornyi zhurnal*, 2019, no. 5, pp. 42–45 (in Russian). <https://doi.org/10.17580/gzh.2019.05.07>
3. Tarasov V. V., Pestrikova V. S., Afanasiev I. A., Sushkov S. L. Revealing causes of deforming underground all-mine bunker lining. *Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Nauki o zemle = News of the Tula State University. Sciences of Earth*, 2017, no. 1, pp. 133–144 (in Russian).
4. Bogatyr'ova I. V. *Inspection and testing of structures of buildings and structures*. Tomsk, 2015. 110 p. (in Russian).
5. Sergeev S. V., Vorobyev E. D., Frolov N. V. Mine shaft inspection the trunk of mine operated in difficult engineering-geological conditions. *Vestnik Belgorodskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta im. V. G. Shukhova = Bulletin of BSTU named after V. G. Shukhov*, 2017, no. 2, pp. 63–67 (in Russian).
6. Sergeev S. V., Kazikaev D. M. *Diagnostics and monitoring of the stress state of the lining of vertical shafts*. Moscow, 2011. 244 p. (in Russian).
7. Wang D., Yang W. Research on Monitoring of Coal Mine Shaft Deformation Based on Fiber Grating Technology. *Journal of Physics: Conference Series*, 2020, vol. 1549, no. 4, art. 042088. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1549/4/042088>
8. Moghaddam R. B., Belardo D. S., Piscalko G., Likins G. Quality Control of Drilled Foundations for Base Cleanliness, Concrete Integrity, and Geometry. *10th International Conference on Stress Wave Theory and Testing Methods for Deep Foundations*, 2019, pp. 223–237. <https://doi.org/10.1520/stp161120170198>
9. Hola J., Schabowicz K., Sadowski L. Evaluation of adhesion of concrete screed to mine shaft wall by means of nondestructive acoustic methods. *Materials of the 19th World Conference on Non-Destructive Testing*, 2016. 8 p.
10. Ilyin S. R., Dubinin M. V. Spectral and deformation analysis of systems “vessels–reinforcement” of vertical shafts. *Geotechnical Mechanics*. Dnepropetrovsk, 2015, vol. 122, pp. 164–193 (in Ukrainian).

11. Glazounov V. V., Daniliev S. M. Application of the GPR method for investigation of barring condition and outbarring spaces “Octyabr’skiy” mine. *Zapiski Gornogo instituta = Journal of Mining Institute*, 2011, vol. 189, pp. 15–18 (in Russian).
12. Igolka D. A. Possibilities of using 3D finite element modeling in the design of vertical mine shafts. *Gornaya mekhanika i mashinostroenie = Mine Mechanical Engineering and Machine-Building*, 2012, no. 1, pp. 40–46 (in Russian).
13. Seryakov V. M. Calculation of stress behavior of underground mining support considering its interaction with rock solid. *Interesko Geo-Sibir’ [Interesko Geo-Syberia]*, 2019, vol. 2, no. 5, pp. 12–19 (in Russian).
14. Lv Z., Qin Q., Jiang B., Luan Y., Yu H. Comparative study on the mechanical mechanism of confined concrete supporting arches in underground engineering. *Plos one*, 2018, vol. 13, no. 2, art. e0191935. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191935>
15. Pleshko M. S., Stradanchenko S. G., Maslennikov S. A., Pashkova O. V. Study of technical solutions to strengthen the lining of the barrel in the zone of influence of construction near-wellbore production. *ARP Journal of Engineering and Applied*, 2015, vol. 10, no. 1, pp. 14–19.
16. Pashkova O. V. *Justification of technical and technological solutions for the construction of near-shaft workings in passed vertical shafts*. Novocherkassk, 2015. 145 p. (in Russian).
17. Georgiannou V. N., Serafis A., Pavlopoulou E. M. Analysis of a vertical segmental shaft using 2D&3D finite element codes. *International Journal of GEOMATE*, 2017, vol. 13, no. 36, pp. 138–146. <https://doi.org/10.21660/2017.36.88132>
18. *Perform an analysis of the results of surveys of shaft lining, assess the need and scope of geophysical work in deformed areas*. Minsk, 2009. 42 p. (in Russian).
19. Diulin D. A. Research of the Soligorsk vertical mine shafts. *Gornaya mekhanika i mashinostroenie = Mine Mechanical Engineering and Machine-Building*, 2021, no. 4, pp. 22–28 (in Russian).
20. Timoshenko S. P., Gudier G. *Elasticity theory*. Moscow, 1979. 560 p. (in Russian).
21. Baier V. E. *Construction materials*. Moscow, 2004. 240 p. (in Russian).
22. Rudnov V. S., Vladimirova E. V., Domanskaya I. K., Gerasimova E. S. *Building materials and products*. Ekaterinburg, 2018. 203 p. (in Russian).

### Information about the authors

*Diulin Denis A.* – General Director. Trest Shahtospe-tsstroy (Soligorsk-4, 223710, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: [trest@shahta.by](mailto:trest@shahta.by).

*Prushak Viktor Y.* – Academician, D. Sc. (Engineering), Professor, Technical Director. Soligorsk Institute of Resource Saving Problems with Pilot Production (69, Kozlov Str., 223710, Soligorsk, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: [ipr@sipr.by](mailto:ipr@sipr.by).

*Gegedesh Maryna G.* – Ph. D. (Engineering), Associate Professor. Belarusian State University of Transport (34, Kirov Str., 246653, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: [marina-kuzn@mail.ru](mailto:marina-kuzn@mail.ru).

### Информация об авторах

*Диулин Денис Александрович* – генеральный директор. Трест Шахтоспецстрой (Солигорск-4, 223710, Минская область, Республика Беларусь). E-mail: [trest@shahta.by](mailto:trest@shahta.by).

*Прушак Виктор Яковлевич* – академик, д-р техн. наук, профессор, технический директор. Солигорский Институт проблем ресурсосбережения с Опытным производством (ул. Козлова, 69, 223710, Солигорск, Минская область, Республика Беларусь). E-mail: [ipr@sipr.by](mailto:ipr@sipr.by).

*Гегедеш Марина Григорьевна* – канд. техн. наук, доцент. Белорусский государственный университет транспорта (ул. Кирова, 34, 246653, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: [marina-kuzn@mail.ru](mailto:marina-kuzn@mail.ru).

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

УДК 621.762:536.75  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-331-339>

Поступило в редакцию 20.06.2023  
Received 20.06.2023

**Академик П. А. Витязь, В. Т. Сенють, А. М. Парницкий**

*Объединенный институт машиностроения Национальной академии наук Беларуси, Минск,  
Республика Беларусь*

## **АНАЛИЗ ПРОЦЕССА ПРЕВРАЩЕНИЯ В АЛМАЗ ТОНКОГО СЛОЯ ГРАФИТОПОДОБНОГО УГЛЕРОДА НА ПОВЕРХНОСТИ ДЕТОНАЦИОННОГО НАНОАЛМАЗА**

**Аннотация.** Рассмотрен процесс получения наноструктурных алмазных материалов за счет фазового превращения в алмаз тонких пленок на основе неалмазных форм углерода, сформированных на поверхности наноалмаза. Для синтеза наноструктурного алмазного поликристаллического сверхтвердого материала предложены различные варианты исходной шихты на основе наноалмаза с неалмазным углеродом на поверхности (поверхностно-графитизированный наноалмаз, поверхностно-графитизированный наноалмаз с добавкой очищенного наноалмаза, детонационная алмазосодержащая шихта с поверхностным слоем «аморфного» углерода, в т. ч. с добавкой очищенного наноалмаза). Выявлено влияние структуры тонкого неалмазного слоя на параметры перехода графита в алмаз. Для углеродной пленки с неупорядоченной структурой (так называемый аморфный углерод) давление перехода в алмаз составит порядка 10–15 ГПа, что существенно выше давления фазового превращения для тонких пленок графита в данном температурном диапазоне. Показано, что рост давления превращения тонкого слоя «аморфного» углерода вызван его более низкой поверхностной энергией по сравнению с поверхностной энергией графита. Установлено, что область превращения тонкой графитоподобной пленки толщиной порядка 1 нм, сформированной на поверхности наноалмаза размером 2–10 нм, в алмаз будет находиться ниже линии равновесия графит–алмаз в диапазоне температур 1000–2500 °С. Дополнительное введение очищенных частиц наноалмазов приводит к снижению давления превращения тонких слоев неалмазного углерода в алмазную структуру с 10–15 до 2–7 ГПа, что обусловлено влиянием поверхности каталитически активных алмазных наночастиц.

**Ключевые слова:** наноалмаз, неалмазные формы углерода, диаграмма состояния, фазовые превращения, химический потенциал, наноструктурный поликристаллический материал

**Для цитирования.** Витязь, П. А. Анализ процесса превращения в алмаз тонкого слоя графитоподобного углерода на поверхности детонационного наноалмаза / П. А. Витязь, В. Т. Сенють, А. М. Парницкий // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 331–339. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-331-339>

**Academician Petr A. Vityaz, Vladimir T. Senyut, Aleksandr M. Parnitskiy**

*Joint Institute of Mechanical Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

## **ANALYSIS OF TRANSFORMATION OF A THIN GRAPHITE-LIKE CARBON LAYER ON THE DETONATION NANODIAMOND SURFACE INTO DIAMOND**

**Abstract.** The article considers the process of obtaining nanostructured diamond materials due to phase transformation of thin films based on carbon non-diamond forms on the nanodiamond surface into diamond. For the synthesis of nanostructured diamond polycrystalline superhard material, various variants of the initial mixture based on nanodiamond with non-diamond carbon on the surface are proposed (surface-graphitized nanodiamond, surface-graphitized nanodiamond with addition of purified nanodiamond, detonation diamond-containing charge with a surface layer of “amorphous” carbon, including purified nanodiamond additives). The influence of the structure of a thin non-diamond layer on the parameters of graphite to diamond transition is revealed. For a carbon film with a disordered structure (the so-called “amorphous” carbon), the transition pressure to diamond will be about 10–15 GPa, which is significantly higher than the phase transformation pressure for thin graphite films in this temperature range. It is shown that the increase in the pressure of transformation of a thin layer of “amorphous” carbon is caused by its lower surface energy compared to the surface energy of graphite. It has been established that the region of transformation of a thin graphite-like film with a thickness of about 1 nm, formed on the 2–10 nm nanodiamond surface into diamond will be below the graphite-diamond equilibrium line in the temperature range of 1000–2500 °C. Additional introduction of purified nanodiamond particles leads to a decrease in the pressure of transformation of thin layers of non-diamond carbon into a diamond structure from 10–15 to 2–7 GPa, which is due to the effect of the surface of catalytically active diamond nanoparticles on the thermodynamic stimulus of phase transformation.



**Keywords:** nanodiamond, non-diamond forms of carbon, state diagram, phase transformations, chemical potential, nanostructured polycrystalline material

**For citation.** Vityaz P. A., Senyut V. T., Parnitskiy A. M. Analysis of transformation of a thin graphite-like carbon layer on the detonation nanodiamond surface into diamond. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 331–339 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-331-339>

**Введение.** Синтез новых поликристаллических сверхтвердых материалов (ПСТМ) на основе наноалмаза с повышенными физико-механическими характеристиками является важной научно-технической и производственной задачей. В наноструктурных алмазных ПСТМ возможна реализация уникального комплекса механических характеристик, например, высоких твердости и трещиностойкости, недостижимых для материалов на основе крупнозернистых алмазных порошков [1]. Сегодня для создания наноструктурных алмазных ПСТМ на практике используются методы спекания нанопорошков алмаза и прямого превращения графита в алмаз, осуществляемые при сверхвысоких давлениях и температурах [2; 3]. Формирование наноалмазного материала с помощью указанных методов требует применения давлений порядка 10–20 ГПа, что препятствует реализации процесса получения данного класса ПСТМ в производственных условиях.

Применение активирующих спекание алмазного порошка добавок и катализаторов фазового превращения графита в алмаз существенно ухудшает физико-механические характеристики (твердость, термостойкость и др.) конечного продукта [4]. Поэтому сегодня актуален поиск новых научных подходов и технологических решений, позволяющих получать объемные наноструктурные ПСТМ на основе алмаза с высоким уровнем физико-механических характеристик при умеренных (4–8 ГПа) давлениях синтеза.

**Анализ влияния размеров частиц углерода на параметры фазового превращения графит–алмаз.** Известно, что для частиц графита и алмаза малых размеров линия равновесия на фазовой диаграмме углерода может располагаться существенно ниже, чем для соответствующих «массивных» фаз, так как в этом случае поверхностная энергия вносит значительный вклад в их полный термодинамический потенциал [5; 6]. Согласно [6], кривая перехода графит–алмаз для нанокристаллитов графита с отношением высоты к диаметру основания в пределах (2–5) : 1 смещается в область более низких давлений, вплоть до отсутствия внешнего давления. В соответствии с результатами теоретических и экспериментальных работ [7; 8], для размеров частиц, относящихся к нанодиапазону, алмаз является более стабильной формой углерода по сравнению с графитом. В [5] показано, что при близких значениях поверхностных энергий наночастиц графита и алмаза сферической формы положение кривой равновесия алмаз–графит также будет смещаться в область более низких давлений с расширением области стабильности алмаза.

Полученные теоретические результаты нашли подтверждение в экспериментальных исследованиях процессов алмазообразования при помощи нагрева нанографита (луковичного углерода) без применения давления [9]. Например, в процессе термобарической обработки фуллеренсодержащей шихты при давлении 2 ГПа и температуре свыше 1300 К в присутствии металлов-катализаторов синтезированы кристаллы алмаза размером 100–800 мкм [4].

Из анализа экспериментальных данных можно заключить, что в основном наноструктуры на основе неалмазных форм углерода могут быть использованы при синтезе отдельных алмазных кристаллитов (наноалмазных кластеров) или алмазных (алмазоподобных) тонких пленок [4; 6].

Для получения объемных наноалмазных поликристаллов при умеренных параметрах синтеза необходимо использовать наночастицы неалмазного (графитоподобного) углерода со «столбчатой» (цилиндрической) формой кристаллитов с преобладанием призматических (боковых) граней. При этом для повышения термодинамического стимула превращения в алмаз необходимо исключить их рекристаллизацию в процессе нагрева, что сложно реализовать на практике.

В тонких графитовых пленках и графитоподобных наноструктурах, таких как бислойные и многослойные графены [10] с малым соотношением высоты  $H$  к площади основания  $S$  в границе преобладают базисные грани с малой энергией, а доля боковых граней относительно невелика. Переход таких структур в алмаз будет сопровождаться значительным ростом поверхностной энергии, относительная величина которой в полной энергии увеличивается с уменьшением



размера наночастицы [5; 11]. Поэтому давление перехода в алмаз тонких пленок графита (многослойных нанографенов) будет значительно превышать равновесное, рассчитанное для крупнокристаллических графита и алмаза, что подтверждается практическими результатами исследований [1; 12].

Одним из перспективных путей некаталитического синтеза объемных наноструктурных ПСТМ на основе алмаза является термобарическая обработка алмазных нано- и микропорошков с тонким слоем неалмазного (графитоподобного) углерода на поверхности, при котором совмещаются процессы фазового превращения тонких поверхностных слоев неалмазного углерода в алмаз и спекания алмазных частиц [1; 4]. В этом случае поверхность алмазного кристаллита (подложки) будет оказывать влияние на процесс перехода тонкого слоя графита (графитоподобного углерода) в алмаз при более низких  $p, T$ -параметрах. Исходным материалом при создании подобного класса ПСТМ может быть наноалмаз (НА) детонационного синтеза с размером частиц 4–10 нм, обладающий повышенной поверхностной энергией [11].

Целью настоящей работы является термодинамический анализ процесса синтеза наноструктурного алмазного поликристаллического материала за счет превращения тонких углеродных слоев, сформированных на поверхности НА.

**Формирование наноалмазов с пленкой неалмазного (графитоподобного) углерода на поверхности за счет поверхностной графитизации наноалмаза.** Наиболее энергетически выгодной представляется схема синтеза, когда углеродный слой непосредственно сформирован на поверхности частицы наноалмаза [1; 13]. С одной стороны частицы НА – готовые центры кристаллизации при синтезе алмаза, с другой – выступают в роли катализатора фазового превращения графит–алмаз [4; 13].

С помощью ПЭМ высокого разрешения установлено [11], что частица НА представляет собой полиэдр в виде усеченного октаэдра или кубооктаэдра диаметром 2–5 нм (рис. 1, *a*). Методом функционала электронной плотности морфология кристаллита наноалмаза определена как усеченный октаэдр (рис. 1, *b*) [14]. При такой форме алмазных нанокристаллитов поверхностная графитизация начинается преимущественно с граней (111), обладающих наименьшей поверхностной энергией [15; 16].

Наноструктурный углеродный слой на частицах НА может быть получен за счет поверхностной графитизации НА в вакууме при давлении  $10^{-3}$  мм рт. ст. и температуре 1200 К [13].

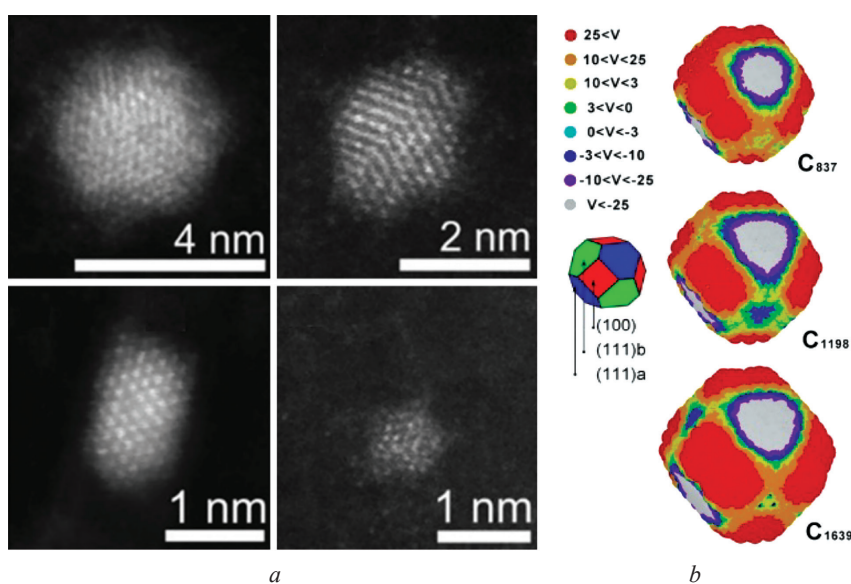


Рис. 1. Изображение индивидуальных частиц наноалмазов полиэдрической формы (*a*) и морфология наноалмазов, рассчитанная методом функционала электронной плотности (*b*)

Fig. 1. Image of individual particles of polyhedral nanodiamonds (*a*) and nanodiamond morphology calculated by the electron density functional method (*b*)

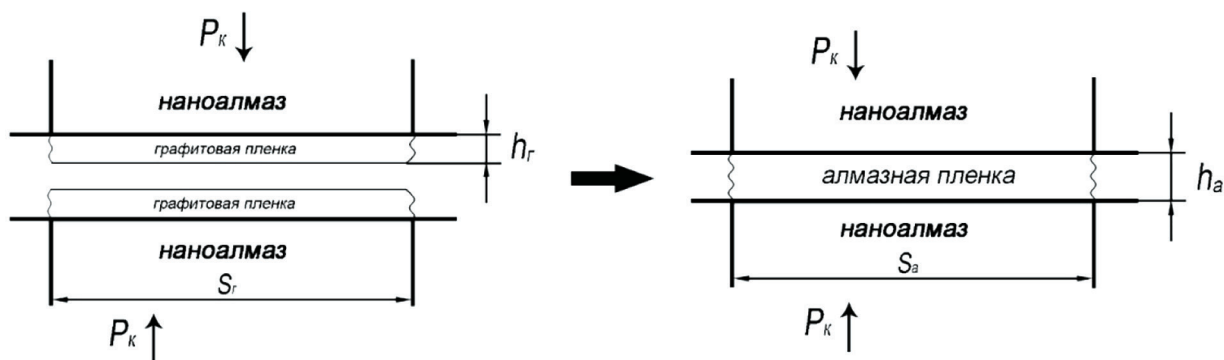


Рис. 2. Изменение поверхностной энергии при переходе графитовых пленок на алмазных поверхностях в алмаз

Fig. 2. Change in surface energy during the transition of graphite films on diamond surfaces to diamond

**Термодинамический анализ процесса фазового превращения в алмаз тонкого слоя неалмазного (графитоподобного) углерода на поверхности НА.** Ниже рассмотрим процессы фазового превращения тонкого углеродного слоя (пленки) на поверхности наноалмаза в алмазную структуру для следующих случаев:

- 1 – НА с графитоподобной пленкой на поверхности (поверхностно-графитизированный НА);
- 2 – поверхностно-графитизированный НА с добавкой очищенных НА;
- 3 – детонационная алмазосодержащая шихта (НА с тонким слоем неупорядоченного «аморфного» углерода на поверхности) [11];
- 4 – детонационная алмазосодержащая шихта с добавкой очищенных НА.

1. При использовании поверхностно-графитизированного НА тонкий слой (пленка) графита (графитоподобного углерода) когерентно связан с поверхностью наноалмаза. Для оценки граничной энергии графитовой пленки на алмазной частице допустим, что она определяется силами Ван-дер-Ваальса и равна энергии взаимодействия между графитовыми монослоями. Пленка островкового типа на поверхности наноалмазной частицы образована графитовыми кристаллитами цилиндрической формы площадью  $S$  и высотой  $h$ . На рис. 2 схематически показано образование алмазной пленки при трансформации графитового слоя на поверхностях НА в алмазную структуру.

При сжатии происходит сближение слоев графита, их трансформация по механизму гофрировки с образованием алмазных связей [15]. Площади оснований графита и образующегося алмаза при мартенситном механизме перехода будут одинаковы и равны  $S$ . Исходная поверхностная энергия для границ раздела «алмаз–графит» определяется в соответствии с [5; 13] и будет равна  $\sigma_{\alpha\beta} = \sigma_{\alpha\text{пов}} + \sigma_{\beta\text{пов}} - 2\sigma_{\beta\text{пов}}$ , где  $\sigma_{\alpha\text{пов}}$  и  $\sigma_{\beta\text{пов}}$  – поверхностные энергии оснований частиц алмаза и графита. При этом исходная межфазная энергия между контактирующими пленками графита при условии когерентности контакта будет равна нулю:  $\sigma_{\beta\text{пов}} + \sigma_{\beta\text{пов}} - 2\sigma_{\beta\text{пов}}$ .

Тогда изменение химического потенциала (в пересчете на моль) при переходе графитового слоя в алмазную структуру можно определить как

$$\Delta\mu = m(\mu_{\alpha} - \mu_{\beta}) + 2S(\sigma_{\beta\text{пов}} - \sigma_{\alpha\text{пов}}) + 4\sqrt{\pi S}(h_{\alpha}\sigma_{\alpha\text{бок}} - h_{\beta}\sigma_{\beta\text{бок}}), \quad (1)$$

где  $m$  – масса слоя;  $\mu_{\alpha}$  и  $\mu_{\beta}$  – химические потенциалы алмаза и графита;  $\sigma_{\alpha\text{пов}}$  и  $\sigma_{\beta\text{пов}}$  – поверхностная энергия оснований кристаллитов алмаза и графита;  $\sigma_{\alpha\text{бок}}$  и  $\sigma_{\beta\text{бок}}$  – поверхностная энергия боковых поверхностей кристаллитов алмаза и графита;  $S$  – площадь межфазного контакта;  $h_{\alpha}$  и  $h_{\beta}$  – толщина (высота) слоев образующегося алмаза и исходного графита.

При переходе слоя графита в алмаз на поверхности НА граница между фазами исчезает, и межфазная энергия поверхности после превращения становится равной нулю.

Величина  $\sigma_{\beta\text{пов}} - \sigma_{\alpha\text{пов}}$  будет значительно меньше нуля, так как  $\sigma_{\alpha\text{пов}}$  всегда больше  $\sigma_{\beta\text{пов}}$ , а изменение энергии боковой поверхности при фазовом переходе будет либо меньше нуля (равно нулю при  $h_{\alpha}\sigma_{\alpha\text{бок}} = h_{\beta}\sigma_{\beta\text{бок}}$ ), либо незначительно больше нуля из-за близости значений  $\sigma_{\alpha\text{бок}}$

и  $\sigma_{\beta \text{бок}}$ . В этом случае фазовый переход графит–алмаз будет происходить ниже линии равновесия «массивных» алмаза и графита.

2. Поверхность наноалмаза характеризуется высокой каталитической активностью [4; 11; 13], поэтому использование добавки НА после очистки от неалмазных форм углерода будет стимулировать процесс перехода пленки графитоподобного углерода (графита) в алмазную структуру.

Со стороны алмаза с графитизированной поверхностью исходные значения поверхностной энергии границы раздела алмаз–графит находим из выражения  $\sigma_{\alpha\beta} = \sigma_{\alpha \text{пов}} + \sigma_{\beta \text{пов}} - 2\sigma_{\beta \text{пов}}$ .

При когерентном взаимодействии поверхности очищенного НА с поверхностью графитовой пленки разность химических потенциалов алмаза и графита определим следующим образом:

$$\Delta\mu = m(\mu_{\alpha} - \mu_{\beta}) + 2S(\sigma_{\beta \text{пов}} - \sigma_{\alpha \text{пов}}) + 2\sqrt{\pi S}h_{\alpha}\sigma_{\alpha \text{бок}} - 2\sqrt{\pi S}h_{\beta}\sigma_{\beta \text{бок}}. \quad (2)$$

В этом случае фазовый переход графит–алмаз будет происходить ниже линии равновесия «массивных» графита и алмаза на фазовой диаграмме углерода.

При неполном сращивании образующейся алмазной пленки с поверхностью НА остается граница, межфазная энергия которой не равна нулю. Тогда разность химических потенциалов алмаза и графита в случае наибольшей межфазной энергии (при отсутствии когерентности на границе раздела) будет равна

$$\Delta\mu = m(\mu_{\alpha} - \mu_{\beta}) + S\sigma_{\beta \text{пов}} - S\sigma_{\alpha \text{пов}} + S\sigma_{\beta \text{пов}} + 2(\sqrt{\pi S}h_{\alpha}\sigma_{\alpha \text{бок}} - \sqrt{\pi S}h_{\beta}\sigma_{\beta \text{бок}})$$

или

$$\Delta\mu = m(\mu_{\alpha} - \mu_{\beta}) + 2S\sigma_{\beta \text{пов}} - S\sigma_{\alpha \text{пов}} + 2(\sqrt{\pi S}h_{\alpha}\sigma_{\alpha \text{бок}} - \sqrt{\pi S}h_{\beta}\sigma_{\beta \text{бок}}). \quad (3)$$

При сохранении межфазной границы образующейся алмазной пленки параметры ее образования будут выше, чем при когерентном срастании пленок, но ниже линии равновесия «массивных» алмаза и графита. Схема перехода графитовой пленки в алмазную при добавлении очищенного НА показана на рис. 3.

3. При переходе углеродной пленки с аморфной структурой на поверхности частиц детонационной алмазосодержащей шихты в алмаз энергия взаимодействия аморфного слоя с алмазной поверхностью будет меньше, чем для графитовой (графитоподобной) пленки.

В предельном случае при отсутствии взаимодействия аморфного слоя с алмазной поверхностью изменение химического потенциала при фазовом переходе составит

$$\Delta\mu = m(\mu_{\alpha} - \mu_{\beta}) + 2S(\sigma_{\alpha \text{пов}} - \sigma_{\beta \text{пов.аморф}}) + 4\sqrt{\pi S}h_{\alpha}\sigma_{\alpha \text{бок}} - 4\sqrt{\pi S}h_{\beta}\sigma_{\beta \text{бок.аморф}}, \quad (4)$$

где  $\sigma_{\alpha \text{пов}}$  и  $\sigma_{\alpha \text{бок}}$  – энергии основания и боковой поверхности частиц алмаза;  $\sigma_{\beta \text{пов.аморф}}$  и  $\sigma_{\beta \text{бок.аморф}}$  – энергии основания и боковой поверхности частиц слоя аморфного углерода.

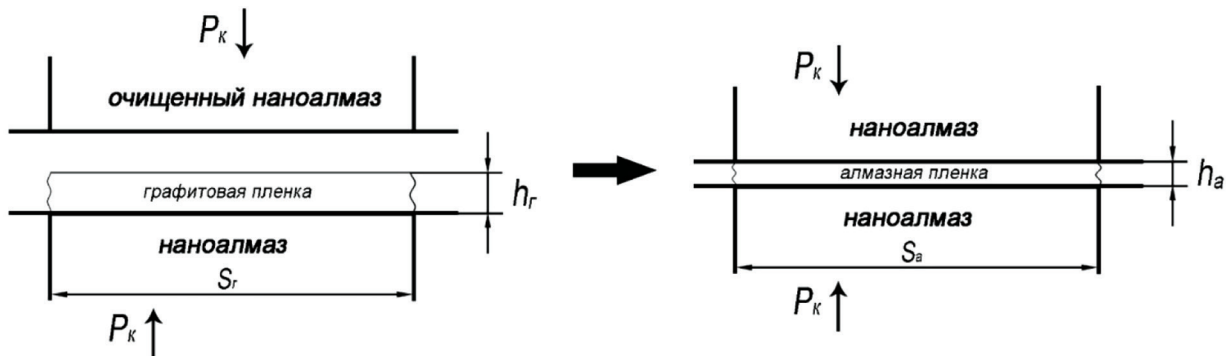


Рис. 3. Изменение поверхностной энергии при переходе графитовой пленки в алмаз при добавлении очищенного наноалмаза

Fig. 3. Change in the surface energy during the transition of a graphite film to diamond with the addition of purified nanodiamond

Значения поверхностной энергии аморфного углерода  $\sigma_{\beta \text{ пов.аморф}} \ll \sigma_{\beta \text{ пов.графит}}$ , поэтому  $2S(\sigma_{\alpha \text{ пов}} - \sigma_{\beta \text{ пов.аморф}}) > 0$  и  $(\sqrt{\pi S} 2h_{\alpha} \sigma_{\alpha \text{ бок}} - \sqrt{\pi S} 2h_{\beta} \sigma_{\beta \text{ бок.аморф}}) > 0$ , следовательно, превращение аморфной пленки в алмаз будет выше линии равновесия и существенно выше параметров перехода для упорядоченного графитового слоя.

4. Для детонационной алмазосодержащей шихты с добавкой очищенных от неалмазных форм углерода наноалмазов параметры превращения слоя аморфного углерода в алмаз в соответствии с (2)–(4) будут ниже по сравнению с предыдущим случаем, но выше линии равновесия «массивного» графита и алмаза. На практике при добавлении к детонационной алмазосодержащей шихте очищенных НА, обладающих каталитической активностью, параметры формирования алмазной структуры могут существенно снижаться по сравнению с исходной алмазосодержащей шихтой [13].

Изменение изобарно-изотермического потенциала (энергии Гиббса) при переходе графита в алмаз под воздействием давления и температуры имеет вид

$$\Delta G_T^p = \Delta H_{298}^0 - T\Delta S_{298}^0 + \int_{298}^T \Delta C_p^0 dT - T \int_{298}^T \frac{C_p}{T} dT + \int_{0,1013}^P \Delta V dP,$$

где  $\Delta H_{298}^0$ ,  $\Delta S_{298}^0$  – изменение стандартных энтальпии и энтальпии превращения при нормальных условиях;  $\Delta C_p$  – изменение теплоемкости при постоянном давлении [15].

Для упрощенного расчета  $\Delta C_p = 0$  и  $\Delta V = \text{const}$ . Отсюда

$$\Delta G_T^p = \Delta H_{298}^0 - T\Delta S_{298}^0 + P\Delta V_{298}^0.$$

Для нахождения равновесного давления превращения принимаем

$$\Delta G_T^p = \Delta H_{298}^0 - T\Delta S_{298}^0 + P\Delta V_{298}^0 = 0.$$

В соответствии с преобразованиями Лежандра химический потенциал системы можно представить как

$$\mu_k = (\partial G / \partial N_k)_{T,P,N} = (\partial H / \partial N_k)_{S,P,N},$$

где  $G$  – энергии Гиббса;  $H$  – энтальпия при постоянных  $S$ ,  $P$ ,  $T$ ,  $N$  ( $S$  – энтропия,  $P$  – давление,  $T$  – температура,  $N_k$  – количество частиц  $k$ -го сорта в системе).

При вычислении энергии Гиббса при различных  $p, T$ -параметрах для каждого рассматриваемого случая использовали значения  $\Delta \mu$  из (1)–(4). Изменение химических потенциалов  $\Delta \mu$  находили для стандартных условий, при которых разность объемных химических потенциалов алмаза и графита равна изменению стандартной энтальпии при фазовом переходе.

Для оценки термодинамических параметров фазового превращения слоев неалмазного углерода в алмаз использовали значения термодинамических и структурных параметров графита и алмаза, приведенные в [11; 15; 16].

В таблице даны параметры структуры и поверхностной энергии НА и пленок неалмазного углерода с графитоподобной и аморфной структурой.

Расчеты давлений фазового перехода тонкопленочных структур графита в алмаз проводили для диапазона температур 1000–2500 °С. Были рассчитаны положения линий равновесия (заштрихованные области на  $p, T$ -диаграмме) для различных значений параметров структуры тонких пленок неалмазного (графитоподобного) углерода.

На рис. 4 на основе проведенного термодинамического анализа показаны области перехода тонких пленок неалмазных форм углерода на поверхности НА в алмаз при формировании наноалмазного поликристаллического материала из различных исходных компонентов. Значками на диаграмме обозначены точки, полученные опытным путем [12; 13].

**Поверхностная энергия и размеры алмазной и графитовой (графитоподобной) структур**  
**Surface energy and dimensions of diamond and graphite (graphite-like) structures**

Параметр	Значение
Поверхностная энергия плоскости базиса алмаза, $\sigma_{\alpha \text{ пов}}$ , Дж/м <sup>2</sup>	5–7
Поверхностная энергия боковой плоскости алмаза, $\sigma_{\alpha \text{ бок}}$ , Дж/м <sup>2</sup>	8–10
Поверхностная энергия плоскости базиса графита, $\sigma_{\beta \text{ бок}}$ , Дж/м <sup>2</sup>	0,13–0,15
Поверхностная энергия боковой плоскости графита, $\sigma_{\beta \text{ пов}}$ , Дж/м <sup>2</sup>	1,5–5
Поверхностная энергия аморфного углерода, $\sigma_{\beta \text{ пов}}/\sigma_{\beta \text{ бок}}$ , Дж/м <sup>2</sup>	0,14–0,16
Высота графитовой (графитоподобной) пленки, $h_{\beta}$ , нм	0,9–1,2
Высота алмазной пленки, $h_{\alpha}$ , нм	0,85–1,1
Площадь межфазной поверхности алмаз–графит, $S$ , нм <sup>2</sup>	5–15

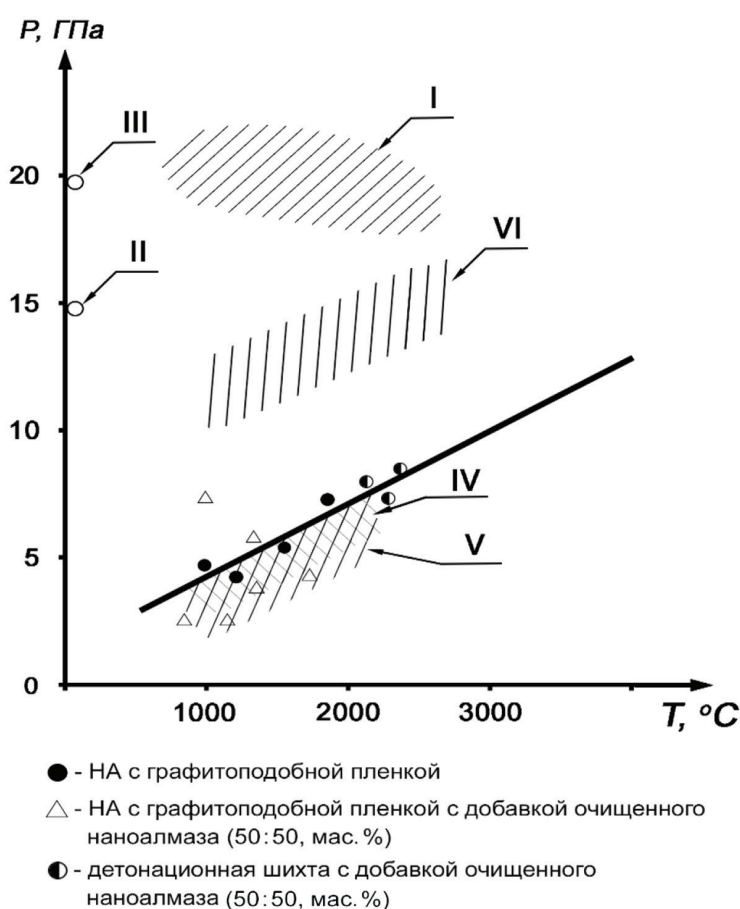


Рис. 4. Области перехода различных форм неалмазного углерода в алмаз: I – область прямого фазового превращения крупнокристаллического графита в алмаз [3]; II, III – области перехода графеновых наноластин и микрокристаллитов графита в алмаз [12]; IV – область перехода в алмаз тонкого слоя графита на поверхности графитизированного наноалмаза; V – область перехода тонкого слоя графита на поверхности графитизированного наноалмаза с добавкой очищенного наноалмаза; VI – область перехода в алмаз тонкого слоя «аморфного» неалмазного углерода на поверхности частиц детонационной алмазосодержащей шихты

Fig. 4. Regions of transition of various forms of non-diamond carbon into diamond: I – region of direct phase transformation of coarse-grained graphite into diamond [3]; II, III – regions of transition of graphene nanoplates and graphite microcrystallites into diamond [12]; IV – region of transition of a thin layer of graphite on the surface of graphitized nanodiamond into diamond; V – region of transition of a thin layer of graphite on the surface of graphitized nanodiamond with the addition of purified nanodiamond into diamond; VI – region of transition of a thin layer of «amorphous» non-diamond carbon on the surface of particles of a detonation diamond-containing mixture into diamond



**Заключение.** На основании проведенного термодинамического анализа рассмотрены особенности превращения в алмаз в условиях высоких давлений и температур тонких слоев графитоподобного углерода на поверхности детонационного наноалмаза. Показано, что фазовый переход в алмазную структуру в этом случае будет происходить при более низких параметрах синтеза по сравнению с крупнокристаллическим «массивным» графитом и тонкими пленками графитоподобного углерода, не связанными с алмазной поверхностью.

Сделан вывод, что наиболее перспективным исходным материалом при синтезе наноструктурных алмазных ПСТМ являются НА с тонким нанометровым слоем графитоподобного углерода, когерентно связанного с поверхностью НА. Использование детонационной алмазосодержащей шихты на основе НА с тонким слоем «аморфного» углерода на поверхности приводит к повышению параметров фазового превращения в алмаз вследствие более низкой поверхностной энергии углерода с «аморфной» структурой.

Дополнительное введение в реакционную шихту очищенных частиц НА способствует снижению давления перехода неалмазного (как графитоподобного, так и неупорядоченного «аморфного») углерода в алмазную структуру, что обусловлено влиянием каталитически активной поверхности НА на термодинамический стимул превращения.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (проект № T23КИТГ-001).

**Acknowledgments.** The work was carried out with the financial support of the BRFFR (project No. T23KITG-001).

### Список использованных источников

1. Синтез и спекание сверхтвердых материалов для производства инструмента / Н. П. Беженар [и др.]; под ред. П. А. Витязя, В. З. Туркевича. – Минск, 2021. – 337 с.
2. Даниленко, В. В. Синтез и спекание алмаза взрывом / В. В. Даниленко. – М., 2003. – 272 с.
3. Microstructure features of polycrystalline diamond synthesized directly from graphite under static high pressure / H. Sumiya [et al.] // J. of Mater. Sci. – 2004. – Vol. 39, N 2. – P. 445–450. <https://doi.org/10.1023/b:jmsc.0000011496.15996.44>
4. Витязь, П. А. Синтез и применение сверхтвердых материалов / П. А. Витязь, В. Д. Грицук, В. Т. Сеньют. – Минск, 2005. – 359 с.
5. Кристаллизация алмаза / Д. В. Федосеев [и др.]. – М., 1984. – 136 с.
6. Чайковский, Э. Ф. Фазовая диаграмма углерода и возможность получения алмаза при низких давлениях / Э. Ф. Чайковский, Г. Х. Розенберг // Докл. АН СССР. – 1984. – Т. 279, № 6. – С. 1372–1375.
7. Gamarnik, M. Y. Energetical preference of diamond nanoparticles / M. Y. Gamarnik // Phys. Rev. B. – 1996. – Vol. 54, N 3. – P. 2150–2156. <https://doi.org/10.1103/physrevb.54.2150>
8. Diamond synthesis in aluminum matrix in molten alkali-halide at ambient pressure / L. A. Yolshina [et al.] // Diamond and Relat. Mat. – 2015. – Vol. 55. – P. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2015.02.005>
9. Transformations of carbon onions to diamond by low-temperature heat treatment in air / S. Tomita [et al.] // Diamond and Relat. Mat. – 2000. – Vol. 9, N 3–6. – P. 856–860. [https://doi.org/10.1016/s0925-9635\(99\)00217-4](https://doi.org/10.1016/s0925-9635(99)00217-4)
10. Синтез многослойного графена методом газозафазного осаждения на меди / И. А. Костогруд [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=10279>. – Дата доступа: 16.06.2023.
11. Долматов, В. Ю. Детонационные наноалмазы. Получение, свойства, применение / В. Ю. Долматов. – СПб., 2011. – 536 с.
12. High pressure transformation of graphene nanoplates: A Raman study / Sh. Lu [et al.] // Chem. Phys. Lett. – 2013. – Vol. 585. – P. 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2013.08.085>
13. Наноалмазы детонационного синтеза: получение и применение / П. А. Витязь [и др.]; под общ. ред. П. А. Витязя. – Минск, 2013. – 381 с.
14. Barnard, A. S. Crystallinity and surface electrostatics of diamond nanocrystals / A. S. Barnard, M. Sternberg // J. Mater. Chem. – 2007. – Vol. 17, N 45. – P. 4811–4819. <https://doi.org/10.1039/b710189a>
15. Физические свойства алмаза: справ. / Н. В. Новиков [и др.]; под ред. Н. В. Новикова. – Киев, 1987. – 188 с.
16. Ножкина, А. В. Физико-химические процессы на межфазной поверхности алмаза с обрабатываемым материалом / А. В. Ножкина, В. И. Костиков, В. Б. Дудаков // Породоразрушающий и металлообрабатывающий инструмент-техника, технология его изготовления и применения. – Киев, 2012. – Вып. 15. – С. 351–358.

### References

1. Bezhenar N. R. [et al.], Vityaz P. A., Turkhevich V. Z., eds. *Synthesis and sintering of superhard materials for tool making*. Minsk, 2021. 337 p. (in Russian).
2. Danilenko V. V. *Synthesis and sintering of diamonds by explosion*. Moscow, 2003. 272 p. (in Russian).

3. Sumiya H., Irifune T., Kurio A., Sakamoto S., Inoue T. Microstructure features of polycrystalline diamond synthesized directly from graphite under static high pressure. *Journal of Materials Science*, 2004, vol. 39, no. 2, pp. 445–450. <https://doi.org/10.1023/b:jmsc.0000011496.15996.44>
4. Vityaz P. A., Gritsuk V. D., Senyut V. T. *Synthesis and Applications of Superhard Materials*. Minsk, 2005. 359 p. (in Russian).
5. Fedoseev D. V., Deryagin B. V., Varshavskaya J. G., Semenova-Tyan-Shchanskaya A. S. *Diamond crystallization*. Moscow, 1984. 136 p. (in Russian).
6. Tchaikovsky E. F., Rosenberg G. H. Phase diagram of carbon and the possibility of obtaining diamond at low pressures. *Doklady AN SSSR*, 1984, vol. 279, no. 6, pp. 1372–1375 (in Russian).
7. Gamarnik M. Y. Energetical preference of diamond nanoparticles. *Physical Review B*, 1996, vol. 54, no. 3, pp. 2150–2156. <https://doi.org/10.1103/physrevb.54.2150>
8. Yolshina L. A., Muradymov R. V., Vovkotrub E. G., Smirnov S. V. Diamond synthesis in aluminum matrix in molten alkali-halide at ambient pressure. *Diamond and Related Materials*, 2015, vol. 55, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2015.02.005>
9. Tomita S., Fujii M., Hayashi S., Yamamoto K. Transformations of carbon onions to diamond by low-temperature heat treatment in air. *Diamond and Related Materials*, 2000, vol. 9, no. 3–6, pp. 856–860. [https://doi.org/10.1016/s0925-9635\(99\)00217-4](https://doi.org/10.1016/s0925-9635(99)00217-4)
10. Kostogrud I. A., Zamchiy A. O., Baranov E. A., Kalyuzhnyy N. A., Zmovzh D. V. Synthesis of few-layer graphene by chemical vapor deposition on copper foil. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education*, 2013, no. 5. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=10279> (access 16 June 2023) (in Russian).
11. Dolmatov V. Yu. *Detonation of nanodiamonds. Preparation, properties, application*. Saint Peterburg, 2011. 536 p. (in Russian).
12. Lu Sh., Yao M., Yang X., Li Q., Xiao J., Yao Z., Jiang L., Liu R., Liu B., Chen S., Cui T., Liu B. High pressure transformation of graphene nanoplates: A Raman study. *Chemical Physics Letters*, 2013, vol. 585, pp. 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2013.08.085>
13. Vityaz P. A., ed. *Nanodiamonds of detonation synthesis: preparation and use*. Minsk, 2013. 381 p. (in Russian).
14. Barnard A. S., Sternberg M. Crystallinity and surface electrostatics of diamond nanocrystals. *Journal of Materials Chemistry*, 2007, vol. 17, no. 45, pp. 4811–4819. <https://doi.org/10.1039/b710189a>
15. Novikov N. V., ed. *Physical properties of diamond. Handbook*. Kiev, 1987. 188 p. (in Russian).
16. Nozhkina A. V., Kostikov V. I., Dudakov V. B. Physical and chemical processes on the interphase surface of diamond with machined material. *Porodorazrushayushchii i metalloobrabatyvayushchii instrument-tekhnika, tekhnologiya ego izgotovleniya i primeneniya* [Porous cutting and metalworking tools: technology, manufacturing and application]. Kiev, 2012, iss. 15, pp. 351–358 (in Russian).

### Информация об авторах

*Витязь Петр Александрович* – академик, д-р техн. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Объединенный институт машиностроения НАН Беларуси (ул. Академическая, 12, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [vityaz@presidium.bas-net.by](mailto:vityaz@presidium.bas-net.by). ORCID: 0000-0001-9950-2120.

*Сенютъ Владимир Тадеушевич* – канд. техн. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Объединенный институт машиностроения НАН Беларуси (ул. Академическая, 12, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [vsenyut@tut.by](mailto:vsenyut@tut.by). ORCID: 0000-0002-1595-8516.

*Парницкий Александр Михайлович* – канд. техн. наук, доцент, ст. науч. сотрудник. Объединенный институт машиностроения НАН Беларуси (ул. Академическая, 12, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [europacorp@tut.by](mailto:europacorp@tut.by). ORCID: 0009-0001-2162-2488.

### Information about the authors

*Vityaz Petr A.* – Academician, D. Sc. (Engineering), Professor. Chief Researcher. Joint Institute of Mechanical Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (12, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [vityaz@presidium.bas-net.by](mailto:vityaz@presidium.bas-net.by). ORCID: 0000-0001-9950-2120.

*Senyut Vladimir T.* – Ph. D. (Engineering), Associate Professor, Leading Researcher. Joint Institute of Mechanical Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (12, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [vsenyut@tut.by](mailto:vsenyut@tut.by). ORCID: 0000-0002-1595-8516.

*Parnitskiy Alexander M.* – Ph. D. (Engineering), Associate Professor, Senior Researcher. Joint Institute of Mechanical Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (12, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [europacorp@tut.by](mailto:europacorp@tut.by). ORCID: 0009-0001-2162-2488.

Академик С. А. Жданок<sup>1</sup>, С. Н. Леонович<sup>2,3</sup>, Е. А. Садовская<sup>2</sup>, Е. А. Полонина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Передовые исследования и технологии, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский национальный технический университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Циндаоский технологический университет, Циндао, Китайская Народная Республика

## ПРОЧНОСТЬ И ТРЕЩИНОСТОЙКОСТЬ ЦЕМЕНТНЫХ КОМПОЗИТОВ ПРИ МНОГОУРОВНЕВОМ АРМИРОВАНИИ

**Аннотация.** Подтверждена рабочая гипотеза о том, что требуемая вязкость разрушения конструкционного бетона может обеспечиваться многоуровневым армированием: на уровне кристаллического сростка цементного камня – углеродные нанотрубки, а на уровне мелкозернистого бетона – различные фибровые волокна макроразмера (стальная, полимерная). Армирование углеродными нанотрубками кристаллического сростка приводит к повышению прочности на растяжение на 20 %, повышению модуля Юнга. При дисперсном армировании модифицированного наночастицами бетона на уровне мелкозернистого бетона прочность на растяжение увеличивается на 109 %, критический коэффициент интенсивности напряжений (показатель трещиностойкости) при нормальном отрыве увеличивается на 280 %, при поперечном сдвиге – на 48 %.

**Ключевые слова:** наночастицы, бетон, вязкость разрушения, фибра, фибробетон

**Для цитирования:** Прочность и трещиностойкость цементных композитов при многоуровневом армировании / С. А. Жданок [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 340–344. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-340-344>

Siarhei A. Zhdanok<sup>1</sup>, Siarhei N. Leonovich<sup>2,3</sup>, Elena A. Sadovskaya<sup>2</sup>, Elena N. Polonina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Advanced Research and Technologies, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Belarusian National Technical University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Qingdao University of Technology, Qingdao, China

## STRENGTH AND CRACK RESISTANCE OF CEMENT COMPOSITES UNDER MULTILEVEL REINFORCEMENT

**Abstract.** The working hypothesis is confirmed that the required fracture toughness of structural concrete can be provided by multi-level reinforcement: at the level of the crystalline joint of cement stone – carbon nanotubes, and at the level of fine-grained concrete – various macro-sized fiber fibers (steel, polymer). Reinforcement of a crystalline splice with carbon nanotubes leads to an increase in tensile strength by 20 %, an increase in Young's modulus. With dispersed reinforcement of concrete modified with nanoparticles at the level of fine-grained concrete, the tensile strength increases by 109 %, the critical stress intensity coefficient (crack resistance index) increases by 280 % at normal separation, and by 48 % at transverse shear.

**Keywords:** nanoparticles, concrete, fracture toughness, fiber, fiber-reinforced concrete

**For citation.** Zhdanok S. A., Leonovich S. N., Sadovskaya E. A., Polonina E. N. Strength and crack resistance of cement composites under multilevel reinforcement. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 340–344 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-340-344>

**Введение.** Обеспечение требуемой вязкости разрушения (трещиностойкости) конструкционного бетона может достигаться введением ингибиторов распространения трещин: нановолокна армируют кристаллический сросток цементного камня, фибра макроуровня (стальная, полимерная, базальтовая либо их комбинация) различной концентрации армирует мелко- и крупнозернистый бетон. Бетон рассматривается как многоуровневая структура и начало зарождения трещин происходит на наноуровне в цементной матрице с последующим ростом до размера макротрещин. Дисперсные волокна, равномерно распределяясь по всему объему материала, создают пространственный каркас и способствуют торможению развивающихся трещин под действием разрушающих усилий [1; 2].

В качестве нановолокон использованы углеродные нанотрубки (УНТ), позитивное влияние которых на микроструктуру и наноструктуру модифицированного цементного камня в зависи-

мости от типа углеродного материала, его физических и химических характеристик, геометрических параметров волокон и равномерности диспергирования в теле композита подтверждено в [1–8]. Присутствие углеродных нановолокон изменяет микроструктуру и наноструктуру бетона. Зафиксировано уменьшение капиллярной и общей пористости с последующим улучшением структуры пор [3–5]. Результатом процессов, происходящих в капиллярах и трещинах, являются деформации в межзерновой матрице, свободному течению которых препятствуют жесткие зерна клинкера и углеродные нанотрубки, что создает в вершинах разделительных трещин некоторую интенсивность напряжения. Интенсивность напряжений, а также напряженно-деформированное состояние вблизи вершин капилляров и трещин определяются критерием трещиностойкости ( $K_c$ ) и коэффициентами интенсивности напряжений ( $K_{IC}$ ,  $K_{IIC}$ ) [9–12].

**Материалы и методы исследования.** В качестве основных компонентов для исследования модифицированного наночастицами цементного камня использовались: вяжущее – портландцемент ПЦ 500 Д0; модифицирующее вещество – многослойные углеродные нанотрубки (МУНТ) производства ООО «Передовые исследования и технологии» по ТУ ВУ 690654933.001–2011: средний диаметр трубок 10–15 нм, средняя длина – 1–5 мкм, 10–20 стенок; суперпластификатор (СП) в виде водного раствора – поликарбоксилатный сополимер, содержание нелетучих веществ 39–41 %; вода для затворения и последующего твердения. Исследуемые цементные составы содержали 0,4 % от массы цемента добавки, причем в серии образцов № 1 не было никаких добавок, в серии № 2 – только водный раствор СП, в серии № 3 – водный раствор СП с углеродными нанотрубками (0,00004 % от массы цемента) [13].

Исследования механических свойств цементных материалов (многофазных материалов) на наноразмерном уровне выполнены методом наноиндентирования, и зафиксирован его модуль упругости – показатель упругого деформирования материала (рис. 1, *a*).

Полученные результаты показывают, что гистограммы распределения объема по приведенному модулю упругости ( $M$ ) в образцах состава № 3 сдвинулись в область больших средних значений по сравнению с образцом состава № 2 (рис. 1, *a*). При этом уменьшилась объемная доля фазы 1 с меньшими средними значениями  $M$  и возросла объемная доля фаз 2 и 3 с большими

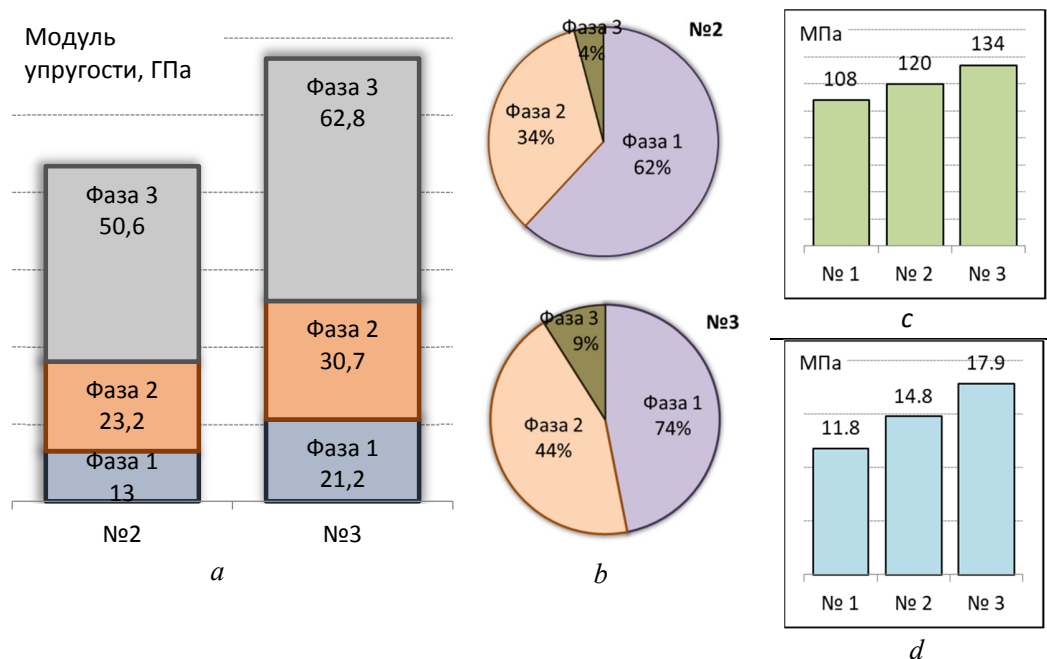


Рис. 1. Результаты испытаний модифицированного наночастицами цементного камня: *a* – значения модуля упругости по трем фазам; *b* – объемные доли фаз; *c* – прочность на сжатие; *d* – прочность на растяжение при изгибе

Fig. 1. Test results of tests of cement stone modified with nanoparticles: *a* – the values of the modulus of elasticity in three phases; *b* – volume fractions of phases; *c* – compressive strength; *d* – tensile strength in bending

средними значениями  $M$  и  $c$  более плотной объемной упаковкой частиц геля С–S–Н. Полученные данные свидетельствуют об изменении структуры С–S–Н геля в образцах, модифицированных наночастицами УНТ.

Подтверждено позитивное влияние углеродных нанотрубок: прирост прочности на сжатие матрицы составил 12 % относительно состава с пластификатором без УНТ и прочности на растяжение при изгибе на 20 % (рис. 1, с).

Для исследования тяжелого модифицированного наночастицами фибробетона на прочность и вязкость разрушения в качестве дисперсного армирования в цементно-песчаную матрицу с УНТ вводилась фибра стальная проволочная с анкерами на концах ( $\mu_v = 1\%$ ) (таблица).

#### Рецептуры фибробетонных составов, модифицированных наночастицами Recipes of fiber-reinforced concrete compositions modified with nanoparticles

Номер состава	Состав сырьевой смеси				Состав добавки		Фибра	Марка по удобоукладываемости
	Цемент	Щебень Фр.5-20 мм	Песок	Наномодифицированная добавка (% от массы вяжущего)	Массовая доля СП (по сух. вещ-ву) к цементу, %	Массовая доля тв. нанокремнезема к цементу, %		
Ф0	400	1020	820	0,8	0,32	0,0006	–	П5
Ф2	400	1020	820	0,8	0,32	0,0006	80	П3

Введение стальной фибры в наномодифицированную матрицу оказывает существенное влияние на прочность при растяжении (на растяжение при изгибе 109 %, на осевое растяжение 25 %, на растяжение при раскалывании от 43 до 63 %) (рис. 2).

Результаты испытаний на вязкость разрушения показывают увеличение на 280 и 109 % значения коэффициента интенсивности напряжений при нормальном отрыве, увеличение на 48 % значения коэффициента интенсивности напряжений при поперечном сдвиге (рис. 3).

**Заключение.** Многоуровневое армирование оказывает положительное влияние на прочность и трещиностойкость бетонов. Об этом свидетельствует увеличение показателей прочности на растяжение и вязкости разрушения  $K_{IC}$  и  $K_{IIC}$ . Модифицированные наночастицами фибробетоны с многоуровневым дисперсным армированием являются перспективными материалами для использования в конструкциях с повышенными требованиями по трещиностойкости, морозо-

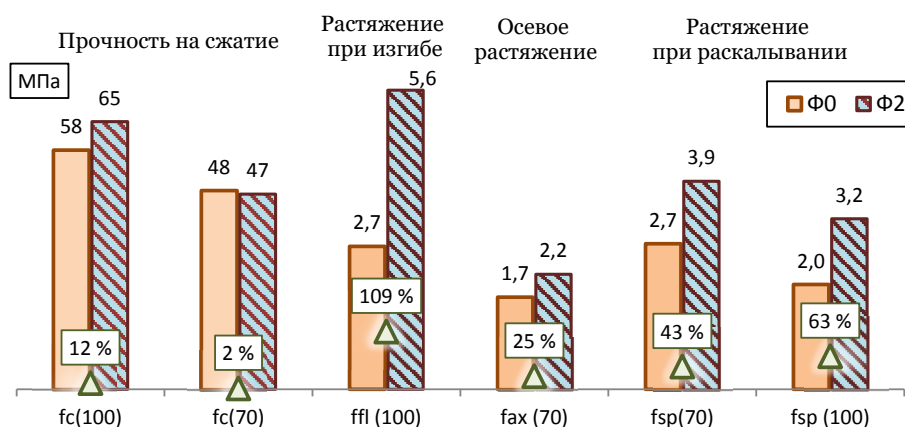


Рис. 2. Результаты испытаний модифицированного наночастицами фибробетона на прочность (приведенные значения):  $f_c(100)$  – осевое сжатие по кубам  $100 \times 100 \times 100$  мм;  $f_c(70)$  – осевое сжатие по кубам  $70 \times 70 \times 70$  мм;  $ffl(100)$  – растяжение при изгибе призм сечением  $100 \times 100$  мм;  $f_{ax}(70)$  – осевое растяжение призм сечением  $70 \times 70$  мм;  $f_{sp}(70)$  – растяжение при раскалывании, сечение  $70 \times 70$  мм;  $f_{sp}(100)$  – растяжение при раскалывании, сечение  $100 \times 100$  мм

Fig. 2. The results of strength tests of fiber-reinforced concrete modified with nanoparticles:  $f_c(100)$  – axial compression in cubes  $100 \times 100 \times 100$  mm;  $f_c(70)$  – axial compression in cubes  $70 \times 70 \times 70$  mm;  $ffl(100)$  – stretching during bending of prisms with a section of  $100 \times 100$  mm;  $f_{ax}(70)$  – axial tension of prisms with a section of  $70 \times 70$  mm;  $f_{sp}(70)$  – tension during splitting, section  $70 \times 70$  mm;  $f_{sp}(100)$  – tension during splitting, section  $100 \times 100$  mm



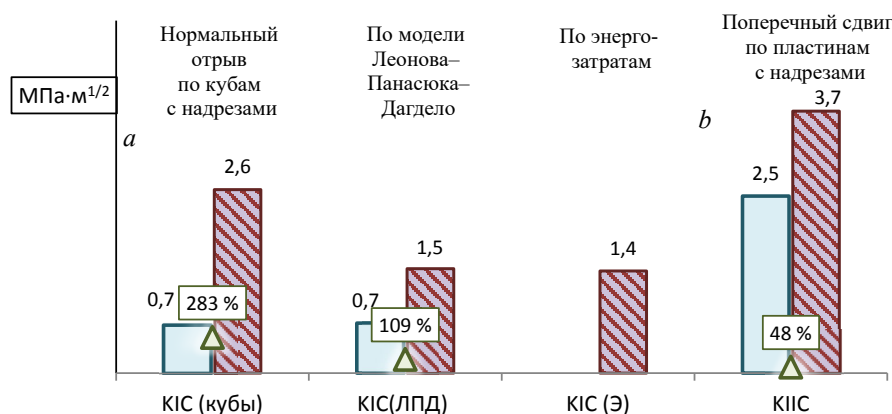


Рис. 3. Коэффициенты интенсивности напряжений:  $a - K_{IC}$  и  $b - K_{IIC}$  модифицированного наночастицами фибробетона: KIC (кубы) – при нормальном отрыве при внецентренном сжатии кубов с боковыми надрезами; KIC(ЛПД) – при расчете по формуле Леонова–Панасюка–Дагдейло; KIC(Э) – по энергозатратам полученных из полной диаграммы деформирования образцов-призм на изгиб; KIIС – при поперечном сдвиге образцов-пластин при центральном сжатии

Fig. 3. Stress intensity factors:  $a - K_{IC}$  and  $b - K_{IIC}$  of nanoparticle-modified fiber-reinforced concrete: KIC (cubes) – at normal separation with eccentric compression of cubes with side cuts; KIC (LPD) – when calculated according to the Leonov–Panasjuk–Dagdeilo formula; KIC (E) – according to the energy consumption obtained from the complete diagram of the deformation of specimens-prisms for bending; KIIС – with transverse shear of specimens-plates under central compression

стойкости, водонепроницаемости, а в комплексе – долговечности. Это позволит перейти к производственному выпуску наномодифицированного фибробетона для объектов промышленного, жилищно-коммунального и дорожного строительства.

### Список использованных источников

1. Механизм повышения прочности цементного материала, модифицированного наночастицами SiO<sub>2</sub> и МУНТ / Е. Н. Полонина [и др.] // Инженерно-физ. журн. – 2021. – Т. 94, № 1. – С. 72–83.
2. Садовская, Е. А. Многоуровневая структура бетона: анализ и классификация уровней организации структуры конгломератных строительных композитов / Е. А. Садовская, Е. Н. Полонина, С. Н. Леонович // Проблемы современного строительства. – Минск, 2019. – С. 285–297.
3. Физико-механические характеристики бетона, модифицированного пластифицирующей добавкой на основе наноструктурированного углерода / С. А. Жданок [и др.] // Инженерно-физ. журн. – 2019. – Т. 92, № 1. – С. 14–20.
4. Влияние пластифицирующей добавки, содержащей углеродный наноматериал на свойства самоуплотняющегося бетона / С. А. Жданок [и др.] // Вестн. гражданских инженеров. – 2018. – № 6 (71). – С. 76–85. <https://doi.org/10.23968/1999-5571-2018-15-6-76-85>
5. Повышение прочности бетона пластифицирующей добавкой на основе наноструктурированного углерода / С. А. Жданок [и др.] // Строительные материалы. – 2018. – № 6. – С. 67–72. <https://doi.org/10.31659/0585-430x-2018-760-6-67-72>
6. Материалы на основе цемента, модифицированные наноразмерными добавками / Е. Н. Полонина [и др.] // Наука и техника. – 2021. – Т. 20, № 3. – С. 189–194. <https://doi.org/10.21122/2227-1031-2021-20-3-189-194>
7. Жданок, С. А. Влияние полимерных суперпластификаторов на различные виды углеродных наноматериалов / С. А. Жданок, Е. Н. Полонина, С. Н. Леонович // Инженерно-физ. журн. – 2022. – Т. 95, № 1. – С. 165–168.
8. Influence of the nanostructured-carbon-based plasticizing admixture in a self-compacting concrete mix on its technological properties / S. A. Zhdanok [et al.] // Journal of Engineering Physics and Thermophysics. – 2019. – Vol. 92, N 2. – P. 376–382. <https://doi.org/10.1007/s10891-019-01941-7>
9. Садовская, Е. А. Расчет коэффициента интенсивности напряжения при нормальном отрыве по прочности на растяжение при изгибе / Е. А. Садовская, С. Н. Леонович // Вестн. Полоцкого гос. ун-та. Сер. Ф. Строительство. Прикладные науки. – 2022. – № 8. – С. 27–31. <https://doi.org/10.52928/2070-1683-2022-31-8-27-31>
10. Критический коэффициент интенсивности напряжений при поперечном сдвиге для нанофибробетона / Е. А. Садовская [и др.] // Строительные материалы. – 2021. – № 9. – С. 41–46. <https://doi.org/10.31659/0585-430X-2021-795-9-41-46>
11. Вязкость разрушения цементных материалов, модифицированных углеродными нанотрубками / С. А. Жданок [и др.] // Вестник БрГТУ. – 2021. – № 3(126). – С. 48–53. <https://doi.org/10.36773/1818-1112-2021-126-3-48-53>
12. Вязкость разрушения нанофибробетона при нормальном отрыве и поперечном сдвиге / Е. А. Садовская [и др.] // Инженерно-физ. журн. – 2022. – Т. 95, № 4. – С. 961–968.
13. Жданок, С. А. Синергетическое влияние наночастиц SiO<sub>2</sub> и углеродных нанотрубок на свойства бетона / С. А. Жданок, С. Н. Леонович, Е. Н. Полонина // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 1. – С. 109–112. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-1-109-112>

## References

1. Polonina E. N., Potapov V. V., Zhdanok S. A., Leonovich S. N. Mechanism for improving the strength of a cement material modified by SiO<sub>2</sub> nanoparticles and multiwall carbon nanotubes. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2021, vol. 94, no. 1, pp. 67–78. <https://doi.org/10.1007/s10891-021-02274-0>
2. Sadovskaya E. A., Polonina E. N., Leonovich S. N. Multi-level structure of concrete: analysis and classification of levels of organization of the structure of conglomerate building composites. *Problemy sovremennogo stroitel'stva* [Problems of modern construction]. Minsk, 2019, pp. 285–297 (in Russian).
3. Zhdanok S. A., Polonina E. N., Khroustalev B. M., Koleda E. A., Leonovich S. N. Physicomechanical characteristics of concrete modified by a nanostructured-carbon-based plasticizing admixture. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2019, vol. 92, no. 1, pp. 12–18. <https://doi.org/10.1007/s10891-019-01902-0>
4. Zhdanok S. A., Polonina E. N., Khroustalev B. M., Koleda E. A. The influence of the plasticizing additive containing carbon nanomaterial on the properties of self-compacting concrete. *Vestnik grazhdanskikh inzhenerov* [Bulletin of Civil Engineers], 2018, no. 6(71), pp. 76–85 (in Russian). <https://doi.org/10.23968/1999-5571-2018-15-6-76-85>
5. Zhdanok S. A., Polonina E. N., Leonovich S. N., Khroustalev B. M., Koleda E. A. Strength enhancement of concrete with a plasticizer on the basis of nano-structured carbon. *Stroitel'nye materialy* [Construction Materials], 2018, no. 6, pp. 67–72 (in Russian). <https://doi.org/10.31659/0585-430x-2018-760-6-67-72>
6. Polonina E. N., Leonovich S. N., Khroustalev B. M., Sadovskaya E. A., Budrevich N. A. Cement-Based Materials Modified with Nanoscale Additives. *Science & Technique*, 2021, vol. 20, no. 3, pp. 189–194. <https://doi.org/10.21122/2227-1031-2021-20-3-189-194>
7. Zhdanok S. A., Polonina E. N., Leonovich S. N. Influence of polymer superplasticizers on various types of carbon nanomaterials. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2022, vol. 95, no. 1, pp. 163–167. <https://doi.org/10.1007/s10891-022-02464-4>
8. Zhdanok S. A., Polonina E. N., Leonovich S. N., Khroustalev B. M., Koleda E. A. Influence of the nanostructured-carbon-based plasticizing admixture in a self-compacting concrete mix on its technological properties. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2019, vol. 92, no. 2, pp. 376–382. <https://doi.org/10.1007/s10891-019-01941-7>
9. Sadovskaya E. A., Leonovich S. N. Relationship of the stress-intensity coefficient at normal separation and the strength in tension. *Vestnik Polotskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya F. Stroitel'stvo. Prikladnye nauki* [Bulletin of the Polotsk State University. Series F. Construction. Applied Science], 2022, no. 8, pp. 27–31 (in Russian). <https://doi.org/10.52928/2070-1683-2022-31-8-27-31>
10. Sadovskaya E. A., Polonina E. N., Leonovich S. N., Zhdanok S. A., Potapov V. V. Critical stress intensity coefficient at transverse shear for nanofibrobeton. *Stroitel'nye materialy* [Construction Materials], 2021, no. 9, pp. 41–46 (in Russian). <https://doi.org/10.31659/0585-430X-2021-795-9-41-46>
11. Zhdanok S. A., Polonina E. N., Sadovskaya E. A., Leonovich S. N. Fracture toughness of carbon nanotubes modified cement based materials. *Vestnik of Brest State Technical University*, 2021, no. 3(126), pp. 48–53 (in Russian). <https://doi.org/10.36773/1818-1112-2021-126-3-48-53>
12. Sadovskaya E. A., Polonina E. N., Leonovich S. N., Zhdanok S. A., Potapov V. V. Fracture toughness of nanofiber-reinforced concrete on normal separation and in-plane shear. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2022, vol. 95, no. 4, pp. 945–952. <https://doi.org/10.1007/s10891-022-02551-6>
13. Zhdanok S. A., Leonovich S. N., Polonina E. N. Synergistic influence of SiO<sub>2</sub> nanoparticles and carbon nanotubes on the properties of concrete. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 1, pp. 109–112 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-1-109-112>

## Информация об авторах

*Жданок Сергей Александрович* – академик, д-р физ.-мат. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Передовые исследования и технологии (ул. Совхозная, д. 1-16, 223058, Лесковка, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: ceo@art-pte.com.

*Леонovich Сергей Николаевич* – д-р техн. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский национальный технический университет (пр. Независимости, 65, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sleonovich@mail.ru.

*Садовская Елена Александровна* – заведующий кафедрой. Белорусский национальный технический университет (пр. Независимости, 65, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: elena\_koleda@bk.ru.

*Полонина Елена Николаевна* – ст. преподаватель. Белорусский национальный технический университет (пр. Независимости, 65, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: grushevskay\_en@tut.by.

## Information about the authors

*Zhdanok Siarhei A.* – Academician, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Chief Researcher. Advanced Research and Technologies (Sovkhoznaya Str., 1-16, 223058, Leskovka village, Minsk district, Republic of Belarus). E-mail: ceo@art-pte.com.

*Leonovich Siarhei N.* – D. Sc. (Engineering), Professor, Head of the Department. Belarusian National Technical University (65, Nezavisimosti Ave., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sleonovich@mail.ru.

*Sadovskaya Elena A.* – Head of the Department. Belarusian National Technical University (65, Nezavisimosti Ave., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: elena\_koleda@bk.ru.

*Polonina Elena N.* – Senior Lecturer. Belarusian National Technical University (65, Nezavisimosti Ave., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: grushevskay\_en@tut.by.

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

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

УДК 636.32/.38:[033+035]+636.082.22  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-345-352>

Поступило в редакцию 16.02.2023  
Received 16.02.2023

**Ю. И. Герман, С. В. Семченко, академик И. П. Шейко**

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству, Жодино,  
Республика Беларусь*

**ПОКАЗАТЕЛИ ЗООТЕХНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ОВЕЦ  
ШУБНО-МЯСНОГО НАПРАВЛЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ**

**Аннотация.** В настоящее время в связи со сложившейся экономической ситуацией в республике овцеводство Беларуси интенсивно развивается, поскольку на мировом рынке возникла потребность в баранине. В некоторых регионах уже ведется работа по созданию перспективных массивов овец с высокой мясной продуктивностью. Обязательным элементом селекционных мероприятий является оценка баранов-производителей по качеству потомства, от точности которой зависит эффективность селекционного процесса. Приведены результаты исследований по разработке зоотехнических правил оценки селекционируемых признаков племенных овец романовской породы, которые проводились в РУП «Витебское племпредприятие». Объектом являлись чистопородные животные романовской породы, использовавшиеся в племенной работе с 2017 г. В результате исследований разработаны параметры ранжирования овец по комплексу селекционируемых признаков, алгоритмы определения частных и комплексного индексов племенной ценности баранов, маток и молодняка. Это позволит наиболее рационально проводить зоотехнические мероприятия и оценку племенных овец шубно-мясного направления продуктивности.

**Ключевые слова:** генотип, фенотип, корреляция, экстерьер, племенной молодняк, овцепоголовье, бараны-производители, овцематки, индекс племенной ценности (ИПЦ)

**Для цитирования.** Герман, Ю. И. Показатели зоотехнической оценки овец шубно-мясного направления продуктивности / Ю. И. Герман, С. В. Семченко, И. П. Шейко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 345–352. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-345-352>

**Yuriy I. Herman, Sergei V. Semchenko, Academician Ivan P. Sheiko**

*Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding, Zhodino,  
Republic of Belarus*

**INDICATORS OF ZOOTECHNICAL EVALUATION OF FUR COAT AND MEAT TYPE SHEEP**

**Abstract.** Nowadays, due to the current economic situation in the Republic, the sheep breeding of Belarus is developing intensively, since there is a need for mutton in the global market. In some regions, work is already underway to create a promising herd of sheep with high meat productivity. An obligatory element of breeding activities is the evaluation of stud rams for the quality of the progeny, the accuracy of which determines the effectiveness of the selection process. The article contains the results on the development of zootechnical rules for evaluation of selection traits of the Romanov breed sheep that was conducted at the RUE “Vitebsk breeding enterprise”. The object of research was purebred Romanov breed animals that had been used in pedigree breeding since 2017. As a result of research, parameters for sheep ranking by a set of selection traits, algorithms for determining individual and complex estimated breeding values of rams, ewes, and young animals were developed. This will allow the most rational zootechnical measures and evaluation of fur coat and meat type breeding sheep.

**Key words:** genotype, phenotype, correlation, exterior, breeding young stock, sheep flock, stud rams, ewes, estimated breeding value (EBV)

**For citation.** Herman Y. I., Semchenko S. V., Sheiko I. P. Indicators of zootechnical evaluation of fur coat and meat type sheep. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 345–352 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-345-352>

**Введение.** По сравнению с остальными видами сельскохозяйственных животных мелкому рогатому скоту нет равных по способности превращать малопригодные для других целей кормовые средства с высоким содержанием клетчатки в ценную продукцию животного происхождения (продукты питания, сырье для промышленности). В настоящее время перспективы развития овцеводства и его конкурентоспособность в первую очередь связаны с производством мяса, так как на мировом рынке имеется стабильный спрос на баранину и ягнятину. Среднегодовые темпы прироста объема мирового рынка баранины с 2007 по 2017 г. составили 4,3 %. Ожидается, что объем мирового рынка будет прирастать на 0,8–1,0 % в ближайшие три года и составит около 10,1 млн т к 2025 г. Литературными данными подтверждается, что в тех регионах, где потребление свинины подвержено религиозным ограничениям, а разведение крупного рогатого скота затруднено отсутствием достаточных пастбищ в условиях пустынного или горного климата, баранина останется основным видом красного мяса в рационе населения. Поэтому спрос на мясо продолжит расти, что на фоне растущих доходов будет обеспечивать рост мирового рынка [1–3].

У овец эффективность конверсии питательных веществ кормов в продукцию достаточно высокая по сравнению с другими сельскохозяйственными животными. Так, коэффициент трансформации протеина кормовых средств в белок прироста живой массы ягнят составляет 18 % (незначительно уступает данному показателю у козлят (19,4 %), но превосходит свиней (12 %) и крупный рогатый скот (6,5–9,2 %). Доказано, что по энергии роста ягнота в 1,5–2,2 раза превосходят молодняк крупного рогатого скота. Откормить группу из 10 голов до массы 450 кг можно за 9 месяцев, или в 2 раз быстрее, чем одного быка. Таким образом, высокая скороспелость овец в сочетании с высокой плодовитостью может обеспечить быстрый оборот вложенных в отрасль средств [4].

На современном этапе развития аграрного сектора в мире происходит трансформация структуры производства продукции. В некоторых регионах уже начата работа по созданию перспективных массивов овец с высокой мясной продуктивностью. В связи со сложившейся экономической ситуацией в республике, необходимостью импортозамещения в овцеводстве и, прежде всего, обеспеченностью продукцией овцеводства перерабатывающих предприятий страны по поручению Главы государства активизировалось развитие данной отрасли. Для этого была разработана и принята к выполнению «Республиканская программа развития овцеводства на 2013–2015 годы»<sup>1</sup>, разработан «Комплекс мер по развитию овцеводства в Республике Беларусь на 2019–2025 годы»<sup>2</sup>.

Мясная продуктивность играет решающую роль в экономике романовского овцеводства, так как составляет 75–80 % и более в общем объеме товарной продукции отрасли. В связи с этим в повышении эффективности первостепенным является увеличение производства баранины в расчете на 1 овцематку. От одной матки романовской породы можно получить за год до 200 кг баранины. У овец других пород ввиду сравнительно низкой плодовитости и ограниченного полового сезона производство баранины на одну матку не превышает в среднем 50–80 кг в живой массе. Доказано, что по мере увеличения выхода ягнят на матку затраты на ее содержание снижаются [5; 6].

Краеугольным камнем в достижении всех вышеперечисленных показателей является племенная работа с поголовьем. Обязательным элементом селекционных мероприятий является оценка баранов-производителей по качеству потомства. От точности оценки зависит эффективность селекционного процесса на основе отбора производителей. Систематическая оценка баранов-

<sup>1</sup> Республиканская программа развития овцеводства на 2013–2015 годы: Постановление Совета Министров Респ. Беларусь № 202 от 20.03.2013 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://mshp.gov.by/ru/programms-ru/view/respublikanskaja-programma-razvitija-ovtsevodstva-na-2013ndash2015-gody-4211/>. – Дата доступа: 01.08.2023.

<sup>2</sup> Комплекс мер по развитию овцеводства в Республике Беларусь на 2019–2025 годы: Постановление Совета Министров Респ. Беларусь № 524 от 07.08.2019 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://mshp.gov.by/uploads/Files/documents/plem/%D0%9A%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%81\\_%D0%BC%D0%B5%D1%80\\_%D0%BF%D0%BE\\_%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%8E\\_%D0%BE%D0%B2%D1%86%D0%B5%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B0\\_%D1%81\\_%D0%B8%D0%B7%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D0%BC%D0%B8.pdf](http://mshp.gov.by/uploads/Files/documents/plem/%D0%9A%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%81_%D0%BC%D0%B5%D1%80_%D0%BF%D0%BE_%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%8E_%D0%BE%D0%B2%D1%86%D0%B5%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B0_%D1%81_%D0%B8%D0%B7%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D0%BC%D0%B8.pdf). – Дата доступа: 01.08.2023.



производителей позволяет использовать для репродукции животных, которые гарантировано дают потомство лучшего качества, в зависимости от выбранного направления селекции [7–10].

Использовавшимся до последнего времени нормативным документом, регламентировавшим порядок оценки овцеголовья в шубно-мясном направлении продуктивности, являлась «Методика оценки и отбора овец по комплексу признаков для племенного использования. Овцы романовской породы», разработанная РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»<sup>1</sup> совместно со специалистами УО «ВГАВМ» в 2016 г. Однако в связи с принятием новых законодательных актов, направленных на совершенствование системы племенной работы в животноводстве и согласованных с ЕАЭЖ, разработка новых зоотехнических правил оценки овец белорусской селекции шубно-мясного направления продуктивности является весьма актуальной и своевременной. Это и стало целью нашей работы.

**Материалы и методы исследований.** Научно-исследовательские работы выполнялись в РУП «Витебское племпредприятие» (Витебская область). Объектом исследований являлись чистопородные животные (бараны-производители, овцематки и ярки, племенной молодняк) романовской породы, использовавшиеся в племенной работе с 2017 г. В процессе работ проведены зоотехнические мероприятия и действия по оценке племенных овец, содержащие перечень контролируемых параметров и признаков для шубно-мясного овцеводства. Разработана шкала оценки производящего состава овец шубно-мясной породы белорусской селекции с соответствием ее представленной градации и индексу племенной ценности [11].

Зоотехнические правила оценки овец шубно-мясной породы белорусской селекции разрабатывались с учетом нормативной базы «Племенное животноводство» государств – членов Евразийского экономического союза<sup>2</sup>.

**Результаты и их обсуждения.** Большое внимание в селекции уделяется изучению телосложения разводимых животных, так как по нему можно прогнозировать уровень продуктивности, конституцию и крепость здоровья животных [12; 13].

С целью обоснования оптимальных приемов дальнейшей селекционно-племенной работы и для того, чтобы племенные овцы романовской породы соответствовали современным требованиям, оставались конкурентоспособными и востребованными в специфических условиях их разведения в овцеводческих предприятиях различных форм собственности и ведомственной подчиненности, проведены исследования по обозначенной проблеме.

Результаты исследований свидетельствовали о том, что для увеличения производства овцеводческой продукции и обеспечения потребностей общества высококачественными натуральными изделиями назревшей необходимостью стала разработка совершенно новых зоотехнических показателей и методов оценки овец шубно-мясной породы белорусской селекции.

В процессе разработки шкалы ранжирования овец романовской породы для племенного использования проведены исследования линейно-ростовых промеров, живой массы и комплексной оценки, на основании которых сотрудниками ННЦ НАН Беларуси по животноводству разработана шкала оценки производящего состава овец шубно-мясной породы с соответствием ее представленной градации и индексу племенной ценности: бараны, предназначенные для саморемонта, – более 9,0 баллов, или ИПЦ 101 % и более (лучшие); бараны племенного назначения – 8,0 баллов, или ИПЦ 85–100 % (ценные); бараны для товарного производства – 7,0 баллов, или ИПЦ 65–84 % (полезные).

В зависимости от полученных баллов и индекса племенной ценности овцематки получают следующее назначение: овцематки, предназначенные для саморемонта, – более 8,0 баллов, или ИПЦ 101 % и более (лучшие); овцематки племенного назначения – 7,0–8,0 баллов, или ИПЦ 85–100 % (ценные); овцематки для товарного производства – 6,0–7,0 баллов, или ИПЦ 65–84 % (полезные); прочее использование – 5,0–6,0 баллов, или ИПЦ до 50–64 %.

<sup>1</sup> Методика оценки и отбора овец по комплексу признаков для племенного использования. Овцы романовской породы / Ю. И. Герман [и др.]; ННЦ НАН Беларуси по животноводству, Витебская гос. акад. ветеринарной медицины. Витебск, 2018. – 23 с.

<sup>2</sup> Протокол заседания рабочей группы Евразийской экономической комиссии по направлению «Племенное животноводство». М., 2015. – 29 с.



Разработанные шкалы ранжирования баранов-производителей и овцематок романовской породы включают оценку животных по происхождению, типичности, промерам, экстерьеру, шубным качествам, а маток дополнительно – по плодовитости, которую учитывают минимум по двум ягнениям. В связи с возможностью учета разного количества оцениваемых признаков имеет место гибкость и объективность оценки овец в баллах, с последующим их ранжированием в соответствии со шкалой на лучших, ценных и полезных, которые, в свою очередь, соответствуют определенному комплексному индексу племенной ценности животного в процентах.

К рангу *лучшие* относятся животные, которые по конституционально-продуктивным качествам и свойствам соответствуют либо превосходят минимальные требования к животным данного ранга. В этот ранг включают тех животных, которые превосходят установленные показатели для данной градации по скороспелости на 10 % и более, молочной продуктивности маток селекционной группы (ядра) на 10 % и более при условии, что по степени выраженности других хозяйственно-полезных признаков они соответствуют минимальным требованиям для лучших животных. В целом животные должны быть достаточно крупными, правильного телосложения, без пороков и недостатков экстерьера.

К рангу *ценные* относятся животные, которые по конституционально-продуктивным качествам, особенностям развития телосложения соответствуют минимальным требованиям уровня продуктивности для овец шубно-мясной породы белорусской селекции и не соответствуют минимальным требованиям для ранга лучшие. Животные с недостаточными шубными качествами, с укороченной шерстью на спине и с неудовлетворительной оброслостью брюха, а также с недостатками экстерьера в данный ранг не допускаются.

К рангу *полезные* относятся животные, которые по конституционально-продуктивным качествам, особенностям развития, телосложения, шубным качествам соответствуют минимальным требованиям данной градации и не соответствуют минимальным требованиям для ранга ценные. Животные с ослабленной конституцией, очень мелкие, с недостаточными шубными качествами и многочисленными пороками экстерьера в данный ранг не допускаются.

Животные, не отвечающие минимальным требованиям для ранга полезные по одному или нескольким признакам, подлежат выбраковке.

Животные, не достигшие возраста 8 месяцев, по шубной продуктивности не оцениваются.

Установлено, что в зависимости от суммы баллов, полученных баранами-производителями и овцематками, оцененными по указанным селекционируемым признакам в соответствии с временной шкалой, приведенной в табл. 1 и 2, их относят к рангам: лучшие, ценные, полезные.

Т а б л и ц а 1. Шкала ранжирования баранов-производителей романовской породы по племенной ценности

Table 1. Ranking scale for ram-producers of the Romanov breed according to the breeding value

Ранжирование баранов Ranking of rams	Суммарные показатели оцениваемых признаков в зависимости от их количества Total indicators of evaluated features depending on their number			
	происхождение, типичность, экстерьерно-конституциональное развитие, баллов origin, typicality, exterior-constitution development, points	происхождение, типичность, промеры, экстерьерно-конституциональное развитие, скороспелость, баллов origin, typicality, measurements, exterior-constitution development, precocity, points	происхождение, типичность, промеры, экстерьерно-конституциональное развитие, скороспелость, шерстно-шубные качества, баллов origin, typicality, measurements, exterior-constitution development, precocity, wool-coat quality, points	комплексный индекс племенной ценности животного, % complex index of the animal breeding value, %
Лучшие	27 и более	45 и более	54 и более	101 и более
Ценные	26,9–24,0	44,9–40,0	53,9–48,0	85–100
Полезные	23,9–21,0	39,9–35,0	47,9–42,0	65–84

П р и м е ч а н и е: животные, не достигшие возраста 8 месяцев, по шубным качествам не оцениваются.

N o t e: animals under the age of 8 months are not evaluated according to fur coat quality.

Племенную ценность баранов-производителей и овцематок устанавливают как можно в более ранние сроки, желательно до выбытия их из племсостава, на основании электронных баз данных областных племпредприятий и племенных хозяйств различной формы собственности.

В используемых алгоритмах необходимой является информация о сумме баллов оценки по фенотипу (происхождение, типичность, промеры, экстерьерно-конституциональное развитие). При наличии результатов оценки по скороспелости, плодовитости и шубным качествам они также учитываются в общей оценке. Установлено, что данная разработка (шкала оценки) позволяет зоотехникам-селекционерам овцеводческих хозяйств применять ее на практике при оценке овец. Она является промежуточным звеном при переходе на индексную оценку племенной ценности животных.

Т а б л и ц а 2. Шкала ранжирования овцематок романовской породы по племенной ценности

Т а б л и ц а 2. Ranking scale of Romanov breed ewes according to the breeding value

Ранжирование овцематок Ranking of ewes	Суммарные показатели оцениваемых признаков в зависимости от их количества Total indicators of evaluated features depending on their number			
	происхождение, типичность, экстерьерно-конституциональное развитие, баллов origin, typicality, exterior-constitution development, points	происхождение, типичность, промеры, экстерьерно-конституциональное развитие, скороспелость, шерстно-шубные качества, баллов origin, typicality, measurements, exterior-constitution development, precocity, wool-fur coat quality, points	происхождение, типичность, промеры, экстерьерно-конституциональное развитие, плодовитость, скороспелость, шубные качества, баллов origin, typicality, measurements, exterior-constitution development, fertility, precocity, fur coat quality, points	комплексный индекс племенной ценности животного, % complex index of the animal breeding value, %
Лучшие	24 и более	40 и более	56 и более	101 и более
Ценные	23,9–21,0	39,9–35,0	55,9–49,0	85–100
Полезные	20,9–18,0	34,9–30,0	48,9–42,0	65–84

П р и м е ч а н и е: животные, не достигшие возраста 8 месяцев, по шубным качествам не оцениваются. Плодовитость учитывается минимум по 2 ягнениям матки.

N o t e: animals under the age of 8 months are not evaluated according to fur coat quality. Fertility is not taken into account, at least, on 2 lambings of the ewe.

На основе шкалы ранжирования баранов-производителей и овцематок разработаны частные индексы племенной ценности и комплексный индекс оценки овец шубно-мясного направления продуктивности, что будет способствовать более объективному и ускоренному дифференцированию качества племенного состава, повышению оперативности племенной работы, прогнозируемости ее результатов.

1. Индекс по генотипу ( $I_G$ ) учитывает происхождение животного и рассчитывается по формуле

$$I_G = (I_o + I_m)0,5,$$

где  $I_G$  – индекс по генотипу (происхождению);  $I_o$  – индекс отца;  $I_m$  – индекс матери.

2. Индекс по типу ( $I_T$ ) учитывает типичность животного и особенности его телосложения, рассчитывается по формуле

$$I_T = h_T^2 \frac{T_{ж} - \bar{T}_{жл}}{\bar{T}_{жл}} 100 + 100,$$

где  $h_T^2$  – коэффициент наследуемости телосложения – 0,12;  $T_{ж}$  – показатель типичности оцениваемого животного;  $\bar{T}_{жл}$  – средний показатель типичности оцениваемых животных в популяции, в баллах

3. Индекс по промерам ( $I_P$ ) учитывает линейные промеры животного во время роста, рассчитывается по формуле

$$I_P = h_P^2 \frac{P_{ж} - \bar{P}_{жл}}{\bar{P}_{жл}} 100 + 100,$$

где  $h_P^2$  – коэффициент наследуемости промеров – 0,40;  $P_{ж}$  – показатель промеров оцениваемого животного;  $\bar{P}_{жл}$  – средний показатель промеров оцениваемых животных в популяции, в баллах

4. Индекс по экстерьеру ( $I_э$ ) рассчитывается при достижении живой массы 30 кг по формуле

$$I_э = h_э^2 \frac{\bar{Э}_ж - \bar{Э}_{жл}}{\bar{Э}_{жл}} 100 + 100,$$

где  $h_э^2$  – коэффициент наследуемости экстерьера – 0,35;  $\bar{Э}_ж$  – показатель экстерьера оцениваемого животного;  $\bar{Э}_{жл}$  – средний показатель экстерьера оцениваемых животных в популяции, в баллах

5. Индекс по плодовитости ( $I_{пл}$ ) учитывает количество полученного потомства от овцематки и рассчитывается по формуле

$$I_{пл} = h_{пл}^2 \frac{\bar{Пл}_ж - \bar{Пл}_{жл}}{\bar{Пл}_{жл}} 100 + 100,$$

где  $h_{пл}^2$  – коэффициент наследуемости плодовитости – 0,15;  $\bar{Пл}_ж$  – показатель плодовитости оцениваемого животного;  $\bar{Пл}_{жл}$  – средний показатель плодовитости оцениваемых животных в популяции, в баллах

6. Индекс по шубным качествам ( $I_{шб}$ ) рассчитывается при достижении 12-месячного возраста

$$I_{шб} = h_{шб}^2 \frac{\bar{Шб}_ж - \bar{Шб}_{жл}}{\bar{Шб}_{жл}} 100 + 100,$$

где  $h_{шб}^2$  – коэффициент наследуемости шубных качеств – 0,35;  $\bar{Шб}_ж$  – показатель шубных качеств оцениваемого животного;  $\bar{Шб}_{жл}$  – средний показатель шубных качеств оцениваемых животных в популяции, в баллах

Комплексный индекс племенной ценности баранов-производителей и овцематок шубно-мясного направления по собственной продуктивности рассчитывается с использованием следующей формулы:

$$I_к = 0,20I_г + 0,10I_т + 0,15I_п + 0,20I_э + 0,15I_{пл} + 0,20I_{шб},$$

где  $I_к$  – комплексный индекс, %; 0,20; 0,10; 0,15; 0,20; 0,15; 0,20 – относительные весовые коэффициенты частных индексов, племенной ценности баранов, овцематок и племенного молодняка.

В практике племенного дела индексная селекция является одним из наиболее точных инструментов оценки и отбора [11–13].

Определение индексов племенной (генетической) ценности овец предложено для практической реализации в осуществляемой учеными НПЦ НАН Беларуси по животноводству направленной работе по активизации селекционного процесса, повышению его результативности.

Результаты проведенных исследований указывают на необходимость и целесообразность совершенствования зоотехнических правил и форм племенного учета для получения наиболее объективной и достоверной информации о животном. В дальнейшем это будет способствовать повышению качественных и количественных показателей продуктивности при экспертной оценке, улучшению и закреплению экстерьерно-конституциональных признаков у овец.

**Заключение.** Разработанные нами новые зоотехнические правила оценки овец белорусской селекции шубно-мясного направления продуктивности устанавливают требования к наиболее рациональному выполнению зоотехнических мероприятий и действий по оценке племенных овец и содержат перечень контролируемых параметров и признаков для данного направления овцеводства.

#### Список использованных источников

1. Сергеева, А. Мировой рынок баранины: драйверы роста [Электронный ресурс] / А. Сергеева // Мясной эксперт: Независимый портал для специалистов мясной индустрии. – 2005–2023. – Режим доступа: <https://meat-expert.ru/articles/156-mirovoy-rynok-baraniny-drayvery-rosta>. – Дата доступа: 10.02.2023.
2. Рынок мясной продукции России и мира за 2013–2021 гг. с прогнозом до 2030 г. – М., 2021. – 257 с.

3. World – Lamb and Sheep Meat – Market Analysis, Forecast, Size, Trends and Insights [Electronic resource] // IndexBox – 2023. – Mode of access: <https://www.indexbox.io/store/world-lamb-and-sheep-meat-market-report-analysis-and-forecast-to-2020/>. – Date of access: 15.01.2023.
4. Ковалевская, Т. Белорусское руно не должно быть «золотым» / Т. Ковалевская // Белорусское сельское хозяйство. – 2013. – № 9. – С. 84–87.
5. Effect of Breeding Heavier Romney Ewe Lambs at Seven Months of Age on Lamb Production and Efficiency over Their First Three Breeding Seasons / E. Haslin [et al.] // *Animals*. – 2021. – Vol. 11, N 12. – Art. 3486. <https://doi.org/10.3390/ani11123486>
6. Двалишвили, В. Г. Романовская порода овец, методы повышения мясной продуктивности / В. Г. Двалишвили // Сельскохозяйственный журнал. – 2017. – Т. 1, № 10. – С. 88–96.
7. Селекционно-генетические основы повышения продуктивности овец / А. И. Ерохин [и др.]. – СПб., 2021. – 292 с.
8. Барышева, М. С. Использование индексной селекции при оценке баранов-производителей по качеству потомства / М. С. Барышева, М. В. Абрамова // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2021. – № 4. – С. 13–15. <https://doi.org/10.26897/2074-0840-2021-4-13-15>
9. Increased genetic gains in sheep, beef and dairy breeding programs from using female reproductive technologies combined with optimal contribution selection and genomic breeding values / T. Granleese [et al.] // *Genetics, Selection, Evolution*. – 2015. – Vol. 47, N 1. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0151-3>
10. Reproductive Management of Rams and Ram Lambs during the Pre-Breeding Season in US Sheep Farms / M. G. Maquivar [et al.] // *Animals*. – 2021. – Vol. 11, N 9. – Art. 2503. <https://doi.org/10.3390/ani11092503>
11. Зоотехнические правила оценки овец полутонкорунных пород / Ю. И. Герман [и др.]. – Жодино, 2019. – 30 с.
12. Костылев, М. Н. Экстерьерные показатели овец романовской породы разных генеалогических групп / М. Н. Костылев, М. И. Абрамова, М. С. Барышева // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2022. – № 1. – С. 9–13. <https://doi.org/10.26897/2074-0840-2022-1-9-13>
13. Лобков, В. Ю. Биологические особенности овец романовской породы / В. Ю. Лобков, А. Н. Белоногова, Д. Д. Арсеньев. – Ярославль, 2012. – 162 с.

## References

1. Sergeeva A. World lamb market: growth drivers. *Meat Expert: An independent portal for meat industry specialists (2005–2023)*. Available at: <https://meat-expert.ru/articles/156-mirovoy-rynok-baraniny-drayvery-rosta> (accessed 10 February 2023) (in Russian).
2. *Market of meat products in Russia and the world for 2013–2021 with a forecast until 2030*. Moscow, 2021. 257 p. (in Russian).
3. World – Lamb and Sheep Meat – Market Analysis, Forecast, Size, Trends and Insights. *IndexBox (2023)*. Available at: <https://www.indexbox.io/store/world-lamb-and-sheep-meat-market-report-analysis-and-forecast-to-2020/>; <https://www.indexbox.io/store/world-lamb-and-sheep-meat-market-report-analysis-and-forecast-to-2020/> (accessed 15 January 2023).
4. Kovalevskaya T. Belarusian fleece should not be “golden”. *Belorusskoe sel'skoe khozyaistvo* [Belarusian Agriculture], 2013, no. 9, pp. 84–87 (in Russian).
5. Haslin E., Corner-Thomas R. A., Kenyon P. R., Pettigrew E. J., Hickson R. E., Morris S. T., Blair H. T. Effect of Breeding Heavier Romney Ewe Lambs at Seven Months of Age on Lamb Production and Efficiency over Their First Three Breeding Seasons. *Animals*, 2021, vol. 11, no. 12, art. 3486. <https://doi.org/10.3390/ani11123486>
6. Dvalishvili V. G. Romanov breed of sheep, methods for increasing meat productivity. *Sel'skokhozyaystvennyi zhurnal* [Agricultural Journal], 2017, vol. 1, no. 10, pp. 88–96 (in Russian).
7. Erokhin A. I., Karasev E. A., Yuldashbaev Yu. A., Erokhin S. A., Murzina T. V., Salaev B. K. *Breeding and genetic bases for increasing the productivity of sheep*. Saint Petersburg, 2021. 292 p. (in Russian).
8. Barysheva M. S., Abramova M. V. The use of index selection in the evaluation of breeding value of rams. *Ovtsy,kozy, sherstyanoje delo* [Sheep, goats, woolen business], 2021, no. 4, pp. 13–15 (in Russian). <https://doi.org/10.26897/2074-0840-2021-4-13-15>
9. Granleese T., Clark S. A., Swan A. A., van der Werf J. H. J. Increased genetic gains in sheep, beef and dairy breeding programs from using female reproductive technologies combined with optimal contribution selection and genomic breeding values. *Genetics, Selection, Evolution*, 2015, vol. 47, no. 1, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0151-3>
10. Maquivar M. G., Smith S. M., Busboom J. R. Reproductive Management of Rams and Ram Lambs during the Pre-Breeding Season in US Sheep Farms. *Animals*, 2021, vol. 11, no. 9, art. 2503. <https://doi.org/10.3390/ani11092503>
11. Herman Yu. I., Gorbukov M. A., Chavlytko V. I., Rudak A. N., Herman A. I. *Zootechnical rules for evaluating sheep of semi-fine-fleeced breeds*. Zhodino, 2019. 30 p. (in Russian).
12. Kostylev M. N., Abramova M. V., Barysheva M. S. Exterior indicators of romanov sheep of different genealogical groups. *Ovtsy,kozy, sherstyanoje delo* [Sheep, goats, woolen business], 2022, no. 1, pp. 9–13 (in Russian). <https://doi.org/10.26897/2074-0840-2022-1-9-13>
13. Lobkov V. Y., Belonogova A. N., Arseniev D. D. *Biological features of sheep of the Romanov breed*. Yaroslavl, 2012. 162 p. (in Russian).

**Информация об авторах**

*Герман Юрий Иванович* – канд. с.-х. наук, доцент, заведующий лабораторией. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belhorses@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1549-8599.

*Семченко Сергей Владимирович* – канд. с.-х. наук, вед. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belhorses@mail.ru.

*Шейко Иван Павлович* – академик, д-р с.-х. наук, профессор, первый заместитель генерального директора. НПЦ НАН Беларуси по животноводству (ул. Фрунзе, 11, 222163, Жодино, Республика Беларусь). E-mail: belniig@tut.by. ORCID: 0000-0002-4684-9830.

**Information about the authors**

*Herman Yuriy I.* – Ph. D. (Agrarian), Associate Professor, Head of the Laboratory. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding (11, Frunze Str., 222163, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belhorses@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1549-8599.

*Semchenko Sergei V.* – Ph. D. (Agrarian), Leading Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding (11, Frunze Str., 222163, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belhorses@mail.ru.

*Sheiko Ivan P.* – Academician, D. Sc. (Agrarian), Professor, First Deputy Director General. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus on Animal Breeding (11, Frunze Str., 222163, Zhodino, Republic of Belarus). E-mail: belniig@tut.by. ORCID: 0000-0002-4684-9830.