

Вестник Московского университета

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Основан в ноябре 1946 г.

Серия 16

БИОЛОГИЯ

Том 77 • № 1 • 2022 • ЯНВАРЬ — МАРТ

Издательство Московского университета

Выходит один раз в три месяца

СОДЕРЖАНИЕ

От редакторов

Моргунова Г.В., Хохлов А.Н. 75 лет «Вестнику Московского университета»
и 45 лет его биологической серии 3

Обзоры

Олескин А.В., Постнов А.Л. Нейромедиаторы как коммуникативные агенты
в водных экосистемах 9

Оригинальные исследования

Байжуманов А.А., Май Л., Юсипович А.И., Максимов Г.В.
Антиоксидантная активность некоторых водных экстрактов,
применяемых в традиционной китайской медицине 16

Васильчук А.Г., Иванова Е.А., Матюшкин А.И., Алексеева С.В.,
Качалов К.С., Воронина Т.А. Влияние ингибиторов циклооксигеназы
эторикоксиба и диклофенака натрия, а также их комбинаций с мексидолом
на артериальное давление и гематологические показатели у крыс 22

Волгушева А.А., Петрова Е.В., Кукарских Г.П., Дубини А., Антал Т.К.
Роль реакций брожения в длительной продукции водорода на свету клетками
микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* в условиях дефицита серы 29

Радченко И.Г., Смирнов В.В., Усов Н.В., Сухотин А.А. Сезонная динамика
фитопланктона в губе Чупа (Белое море, Кандалакшский залив). 37

CONTENTS

Editorial

- Morgunova G.V., Khokhlov A.N. 75 years of the “Vestnik Moskovskogo universiteta”
and 45 years of its biological series. 3

Reviews

- Oleskin A.V., Postnov A.L. Neurotransmitters as communicative agents
in aquatic ecosystems. 9

Research articles

- Bayzhumanov A.A., Mai L., Yusipovich A.I., Maksimov G.V. Antioxidant
activity of certain aquatic extracts used in traditional Chinese medicine 16

- Vasilchuk A.G., Ivanova E.A., Matyushkin A.I., Alekseeva S.V.,
Kachalov K.S., Voronina T.A. Effect of cyclooxygenase inhibitors etoricoxib
and diclofenac sodium and their combinations with mexidol on arterial pressure
and hematological indices in rats 22

- Volgusheva A.A., Petrova E.V., Kukarskikh G.P., Dubini A., Antal T.K.
Influence of fermentation reactions on continuous hydrogen photoproduction
by microalga *Chlamydomonas reinhardtii* under sulfur deficiency 29

- Radchenko I.G., Smirnov V.V., Usov N.V., Sukhotin A.A. Seasonal dynamics
of phytoplankton in Chupa inlet (White Sea, Kandalaksha Bay) 37

ОТ РЕДАКТОРОВ

УДК 002:[57+378.096]

**75 лет «Вестнику Московского университета»
и 45 лет его биологической серии****Г.В. Моргунова* , А.Н. Хохлов ***Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12***e-mail: morgunova@mail.bio.msu.ru*

В конце прошлого и в начале нынешнего года наш журнал «Вестник Московского университета. Серия 16. Биология» отметил две памятные даты — юбилей всего издания и юбилей нашей серии. За свою долгую историю «Вестник» биологического факультета МГУ претерпел много изменений. Цели, для которых он создавался, модифицировались в последние 15 лет, и теперь журнал уже не является изданием для освещения деятельности лишь ученых, работающих в МГУ, а представляет собой международное издание (англоязычная версия распространяется издательством Springer Nature) и открыт для публикаций авторов из любых научных учреждений как России, так и других стран. Несмотря на сложности, с которыми сталкиваются любые университетские издания, такие журналы все равно могут развиваться и занимать свои ниши в научной периодике. Как и китайские научные издания такого рода, наши отечественные журналы в настоящее время непрерывно работают для получения мирового признания. В будущем все научные издания, вероятно, будут и дальше изменяться и преобразовываться, задача университетских журналов — успевать развиваться вместе с новыми технологиями, принимая во внимание опыт зарубежных изданий и не забывая о собственной богатой истории.

Ключевые слова: *Московский университет, естественные науки, биология, научные публикации, научные журналы, «Вестники», наукометрические показатели*

Осенью 2021 г. журналу «Вестник Московского университета» исполнилось 75 лет [1, 2]. Тогда, в конце далекого 1946 г., вышло всего три выпуска, в дальнейшем «Вестник» выходил раз в месяц и публиковал статьи по всем направлениям исследований, которые проводились в Московском университете. Кроме того, в начале этого года исполнилось 45 лет нашей биологической серии «Вестника». В связи с юбилеем «Вестника Московского университета» библиотека биологического факультета МГУ даже организовала тематическую выставку.

Статьи по биологии выходили в журнале с самого начала его основания. Первой такой статьёй является краткое сообщение профессора кафедры гидробиологии С.Н. Скадовского «О сапропелях водорослевого «цианофициейного» происхождения», напечатанное в первом номере 1946 г. Надо сказать, что и в настоящее время статьи по гидробиологии являются одними из наиболее часто публикуемых в нашей серии «Вестника», настоящий выпуск также не является исключением.

В состав первой редколлегии журнала входили такие ученые, как академик С.И. Вавилов (физика), профессор и заведующий кафедрой географии почв МГУ Д.Г. Виленский (почвоведение), академик В.В. Виноградов (лингвистика), акаде-

мик И.М. Виноградов (математика; был ответственным редактором журнала), профессор И.С. Галкин (история; с 1943 по 1948 гг. был ректором МГУ), член-корреспондент АН СССР и академик АН Армянской ССР заведующий кафедрой физиологии животных Х.С. Коштыянец (биология, физиология), член-корреспондент АН СССР А.А. Максимов (философия, история науки), академик И.И. Минц (история), профессор С.Д. Муравейский (гидрология, гидробиология), академик АН СССР А.Н. Несмеянов (химия), академик АН СССР К.В. Островитянов (экономика), профессор М.В. Сергиевский (филолог; к моменту выхода первого номера журнала, к сожалению, умер), академик АН СССР Д.В. Скобельцын (физика), академик АН СССР М.Н. Тихомиров (история), ответственным секретарем был доцент Г.К. Цветков (экономика). Таким образом, в состав редколлегии входили академики, члены-корреспонденты и профессора, представлявшие практически все основные направления исследований в МГУ.

Журнал появился в послевоенное время, когда восстановление страны требовало большого количества практических решений для промышленности и сельского хозяйства. В связи с этим были выделены ключевые научные темы по физике,

химии, биологии и другим разрабатываемым в МГУ направлениям. К концу 70-х гг., уже после разделения биолого-почвенного факультета на биологический и почвенный, исследовательская работа в МГУ снова стала проводиться с упором на фундаментальные исследования [3].

В планы развития университета входило создание крупных комплексных тем, в которых должны были быть задействованы не только сотрудники разных кафедр внутри одного факультета, но и коллективы других факультетов и научных организаций [1]. В настоящее время по-прежнему сохраняется необходимость в разработке больших комплексных междисциплинарных тем, в том числе – в сотрудничестве с российскими и зарубежными организациями. Направления исследований стали более узкими из-за накопления больших массивов научной информации, однако без сотрудничества нескольких научных коллективов в современной биологии и, вероятно, в других науках вряд ли возможно выполнение серьезных научных разработок.

Разделение «Вестника Московского университета» на серии началось в 1949 г. Сначала эти серии были крупными, но по мере увеличения числа публикаций назревала необходимость разделять очередную серию на несколько новых. Сейчас свой «Вестник» есть более чем у половины факультетов МГУ, всего 27 серий. Наша биологическая серия окончательно сформировалась в 1977 г., произошло это после разделения предыдущей, 6-й, серии «Биология. Почвоведение» на два новых самостоятельных журнала. Редколлегия возглавил Михаил Викторович Гусев, в то время декан биологического факультета и заведующий кафедрой физиологии микроорганизмов. Заместителями главного редактора стали И.П. Ермаков и Б.М. Логвиненко. Также в состав редколлегии входили члены-корреспонденты АН СССР М.В. Горленко и Л.В. Крушинский, профессора Л.М. Левкина, В.Н. Максимов, Н.П. Наумов и В.В. Юркевич. Два члена редколлегии того времени входят в ее состав и сегодня – член-корреспондент РАН Андрей Борисович Рубин и академик РАН Владимир Петрович Скулачев.

С 2006 г. главным редактором журнала является академик РАН Михаил Петрович Кирпичников. В прошедшие с этого момента годы наш «Вестник» претерпел серьезные изменения, позволившие ему существенно улучшить наукометрические показатели и видимость в международном пространстве. Этому, в частности, способствовало размещение англоязычной версии журнала на платформе Springer (сейчас – Springer Nature) и начало в 2011 г. индексации журнала наукометрической базой данных Scopus, а также то, что «Вестник Московского университета. Серия 16. Биология» в 2014 г. выиграл Конкурс по государственной поддержке программ развития

и продвижению российских научных журналов в международное научно-информационное пространство, организованный Министерством науки РФ и проведенный «Национальным Электронно-Информационным Консорциумом» (НЭИКОН). Обойдя более 500 журналов-конкурентов, наше издание стало одним из двух победителей в разделе «Биология», получив финансовую поддержку на 3 года.

Научные журналы университетов

История научных журналов началась более 350 лет назад [4, 5, 15]. В России многие издания появлялись и развивались не в традиционном для Запада стиле. Журналы при университетах и научных институтах создавались, чтобы, в первую очередь, освещать достижения учредившей их организации. Однако если институт, как правило, специализируется на узкой теме – в биологии это биохимия, физиология, биология развития, биоорганическая химия и т.п., то в университете научные области могут быть самыми разными, особенно в таких крупных, охватывающих большое количество направлений, вузах, как МГУ, СПбГУ и др. Это способствовало тому, что в «Вестниках» публиковались статьи из никак не связанных областей. Разделение на серии помогло исправить ситуацию лишь частично. Надо сказать, что «Вестники» некоторых вузов широкого профиля до сих пор имеют обобщенные серии – например, серия «Естественные науки», охватывающая физику, химию, биологию и другие естественнонаучные направления. Даже нашему «Вестнику», специализирующемуся на одной области естествознания – биологии, не так просто найти свою нишу, т.к. современная биология включает в себя очень разные направления. Сложно сочетать исследования, посвященные систематике растений, с работами по структурной биологии или тестированию лекарственных препаратов на животных. Похожая особенность наблюдается и в Китае – для этой страны также характерны академические и университетские журналы [6–8]. При этом университетским периодическим изданиям, воспринимаемым авторами и читателями как «сборная солянка», трудно конкурировать с узконаправленными специализированными журналами [6, 8].

Изначально «Вестник Московского университета», как и другие аналогичные журналы, создавался для информирования отечественных и зарубежных ученых «о выполненных в стенах Московского университета исследовательских работах» [1]. Долгое время так и было, вплоть до наступления настоящего периода, когда стало особенно важно, в каких международных системах индексируется журнал [9]. Такая индексация обеспечивает хорошую видимость издания для широкой международной читательской аудитории. Чтобы журнал соответствовал требованиям таких

систем, он и сам должен быть международным, поэтому прежнее предназначение «Вестников» устарело. В настоящее время мы, как и другие «Вестники МГУ», публикуем статьи от ученых из любых научных организаций, в том числе и зарубежных. Акцент сместился с того, чьи работы мы печатаем, к тому, о чем эти статьи. В настоящее время публикуемые в нашем «Вестнике» работы, как правило, затрагивают самые разные разделы современной биологии, но обязательно в фундаментальном аспекте.

Уровень журналов напрямую зависит от уровня науки в стране. Журналы Китая стремительно развиваются вместе с наукой страны, на преобразование и улучшение собственных изданий выделяются значительные средства [10]. Однако нужно иметь в виду, что развитие журналов немного отстает от развития научных исследований. Поощрение публикаций авторов в высокорейтинговых журналах помогает улучшить видимость российской науки в мировом пространстве, но, как и в случае с китайскими журналами [6], способствует оттоку статей наших авторов в зарубежные журналы. В такой ситуации российские журналы могли бы публиковать больше иностранных статей, но очевидно, что высокорейтинговые зарубежные коллеги также в первую очередь заинтересованы в высокорейтинговых зарубежных научных изданиях. В данном случае можно поощрять публикацию наших ученых в своих собственных журналах. Примеры всевозможных поощрений уже есть в Китае. Вполне успешное финансовое поощрение публикаций в собственных журналах для поднятия их уровня было осуществлено на Филиппинах [11]. Надо сказать, что и у нас была предпринята по крайней мере одна попытка простимулировать публикационную активность авторов в российских журналах. Российский фонд фундаментальных исследований учредил грант «Экспансия», по условиям которого авторы, получившие грантовую поддержку, должны были написать проблемные обзоры в отечественных журналах. Несколько обзоров, подготовленных в рамках этого проекта, были опубликованы и в нашем «Вестнике» [12, 13]. Безусловно, таких проектов должно быть больше. Надо заметить, что в некоторых областях науки (физика, математика) наши отечественные журналы уже выглядят привлекательными для зарубежных коллег, в других — пока еще наблюдается сильное отставание. Российским журналам сложно конкурировать с зарубежными, пока они не достигнут импакт-фактора Web of Science около единицы (в каких-то областях больше, в каких-то меньше). Но чтобы добраться до этих значений, им нужна поддержка. Некоторые российские биологические журналы уже перешли этот критический рубеж, что позволяет им считаться теперь по-настоящему международными.

Университетские журналы при наличии многих ограничений имеют и некоторые неочевидные преимущества. Авторов, работающих на факультете, до наступления пандемии мы могли позвать в редакцию для подробного обсуждения правок, это значительно ускоряло процесс редактирования. Китайские коллеги также делятся похожим опытом в отношении своих журналов [7]. Кроме авторов с факультета мы встречались в редакции и с авторами с других факультетов и даже из институтов РАН, расположенных в Москве.

«Вестник Московского университета. Серия 16. Биология» сегодня

Каждый университетский журнал — это символ университета [7]. Мы стараемся постоянно развивать наш «Вестник» и вкладываем много сил в работу над качеством публикуемых статей [14]. Редколлегия журнала предпринимает меры для улучшения его видимости в международном пространстве. В последние годы был расширен состав редколлегии, в нее дополнительно были приглашены иностранные ученые из самых разных научных организаций. К нам присоединились коллеги из США, Германии, Франции, Дании, Италии, Бельгии, Сербии, Израиля, Южной Кореи, Чехии, Кипра. Это специалисты в области генетики, геномики, клеточной биологии, культивирования клеток и тканей, биотехнологии, структурной биологии, биохимии, биофизики, биоэнергетики, физиологии животных и физиологии растений, нейробиологии, биологии развития, онкологии, микробиологии, токсикологии и эволюционной биологии. Они, в частности, помогают редакции с поиском рецензентов для посту-пающих статей.

К нам стало поступать много статей от коллег, работающих не в МГУ. Почти половина опубликованных работ подготовлена учеными из внешних организаций, остальные во многих случаях написаны сотрудниками МГУ совместно с коллегами из других институтов и университетов. Большую роль, на наш взгляд, сыграло появление у нас сайта (<https://vestnik-bio-msu.elpub.ru>) с электронной редакцией. Почти сразу после запуска сайта к нам стали чаще обращаться коллеги из самых разных городов России и ближнего зарубежья. В последнее время, особенно в последний год, стало поступать больше статей от зарубежных коллег, что мы также связываем с появлением сайта с электронной редакцией на портале <https://publish.sciencejournals.ru> у английской версии нашего «Вестника» — Moscow University Biological Sciences Bulletin. К работе над журналом привлекаются российские и зарубежные ученые — например, за последний год в рецензировании статей принимали участие более 90 специалистов из 26 разных городов — как российских, так и иностранных.

За долгую историю журнала сохранился перечень лидирующих по количеству статей разделов биологии. Помимо упомянутой выше гидробиологии, наиболее часто в нашем «Вестнике» публиковались и публикуются работы по альгологии, микробиологии и физиологии животных, в последние 10 лет к ним добавились статьи по структурной биологии и геронтологии.

Показатели нашего Вестника продолжают расти. Основной индекс (CiteScore) в системе Scopus для английской версии журнала на 2020 г. составляет 1,3, мы поднялись еще на несколько позиций и заняли шестое место по этому показателю среди российских биологических журналов в области (Subject Area) «Biochemistry, Genetics and Molecular Biology». В целом российские журналы пока что занимают не самые высокие позиции в этой одной из самых конкурентных областей базы данных Scopus, поскольку соперничать в ней приходится с такими журналами, как Cell, Physiological Reviews, несколько разных серий Nature и другими очень сильными изданиями. Однако постоянный стабильный рост позволяет полагать, что лучшие российские журналы – как, например, Biochemistry (Moscow) – смогут в скором времени оказаться в более высоких квартилях. Что касается двух других областей, в которых индексируется Moscow University Biological Sciences Bulletin – «Agricultural and Biological Sciences» и «Environmental Science» – то здесь наши позиции уже позволяют нам конкурировать с иностранными изданиями, мы занимаем середину списка среди всех индексируемых в Scopus сельскохозяйственных и биологических журналов.

С начала создания биологической серии рубрикация журнала формировалась по названию разделов биологии, к которым имела отношение та или иная работа, но в 2019 г. мы впервые сменили принцип рубрикации, сделав его более привычным для современных читателей – редакционные статьи, обзоры, оригинальные статьи, краткие сообщения и статьи-мнения. Это гораздо удобнее, так как некоторые работы в настоящее время очень сложно отнести к какому-либо одному разделу биологии.

Для некоторых российских журналов, и в первую очередь для «Вестников», характерно отсутствие томов, в 2017 г. мы исправили это положение и ввели нумерацию томов, как принято во всех журналах. Она в русской и английской версии нашего журнала совпадает, и, так как одному году соответствует один том, по его номеру можно легко вычислить «возраст» нашего «Вестника».

В конце журнала еще до разделения «Вестника» на все более специализированные серии публиковалась «Научная хроника», в которой коротко описывались все важные события, происходившие в МГУ. Благодаря этому разделу сохранилась история факультетов и кафедр университета,

о многих событиях сегодня мы можем узнать только из таких заметок. В связи с этим было бы полезно провести оцифровку всех «Вестников» и выложить их на сайте МГУ или сайте Издательства МГУ. Мы отсканировали старые выпуски нашей серии и планируем выложить их на нашем сайте, однако более ранние серии принадлежат уже не только нашему факультету. Было бы неплохо сделать общую базу выпусков без привязки к конкретному подразделению университета. Что же касается раздела «Научная хроника», то теперь эту функцию на себя взяла газета «Московский университет», а в «Вестниках» публикуются в основном научные статьи.

Далеко не все журналы имеют такую давнюю историю, как «Вестники МГУ». К сожалению, в течение всего времени существования этих изданий они были и остаются ограниченными некоторыми рамками. Различные серии, с одной стороны, это самостоятельные журналы, а с другой – части одного общего издания, объединенные одинаковой первой частью названия. До недавнего времени у всех «Вестников» даже было два ISSN – свой собственный и общий для всех серий. Это подразумевает, что нам сложно переименоваться и любые изменения должны затрагивать, вероятно, сразу все серии, иначе ничего общего между журналами не останется. Нужно ли держаться за общность? В настоящее время тенденции в науке свидетельствуют не в пользу изданий, похожих на «Вестники», поэтому нашим журналам, возможно, стоит модифицироваться в издания нового формата и, вслед за целями и задачами, изменить форму и название.

Заключение

Будущее всех научных журналов на данный момент кажется неопределенным, прежние форматы уходят в прошлое, уступая место современным технологиям. Большой ущерб качеству научных работ нанесет (и уже наносит) все усугубляющаяся коммерциализация процесса публикации [15, 16]. Неизбежным последствием перехода к модели открытого доступа, подразумевающего оплату публикации статьи автором, будет постоянный рост числа недобросовестных журналов, использующих возможность брать плату с авторов, не обеспечивая должного качества рецензирования и редактирования рукописей. Казалось бы, более логичным было бы сдерживание роста числа журналов при более тщательной работе над их качеством. Такой же подход был бы полезен и в работе редакций журналов – не увеличивать количество публикуемых статей, а больше работать над их качеством. Этого подхода мы стараемся придерживаться в нашем «Вестнике». Однако получение денег за каждую опубликованную статью, безусловно, заставляет платные журналы принимать все

больше работ, из-за чего выпуски некоторых таких изданий «раздуваются» до невероятных размеров. Старые подписные издания в этом плане обладают преимуществом, так как не получают выгоды от количества опубликованных статей, зато они заинтересованы в их качестве, от которого, в первую очередь, зависит количество подписчиков.

Возможно, в будущем научных журналов не будет, а будут лишь отдельные статьи, размещенные на специализированных сайтах. Уже сейчас каждая статья «живет своей жизнью», независимо

от выпуска, но роль журнала все еще велика, так как именно по его показателям определяется уровень статьи. Как будут осуществляться подготовка и ранжирование статей в отсутствие журналов, пока не понятно. Ясно только, что изданиям с давней историей нужно стараться идти в ногу со временем и уметь модифицироваться с учетом меняющихся условий.

Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов. Финансирование работы отсутствовало.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Галкин И.С.* Задачи Московского университета в области научной работы в новой Сталинской пятилетке // Вест. Моск. ун-та. 1946. №1. С. 3–6.

2. *Morgunova G.V., Khokhlov A.N., Kirpichnikov M.P.* To the 70th anniversary of the journal Vestnik Moskovskogo Universiteta. News from biologists // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2016. Vol. 71. N 1. P. 1–3.

3. *Гусев М.В.* Биологический факультет МГУ к XXV съезду КПСС // Вест. Моск. ун-та. Сер. 6. Биол., почвовед. 1976. №1. С. 3–9.

4. *Mack C.A.* 350 years of scientific journals // J. Micro/Nanolithogr. MEMS MOEMS. 2015. Vol. 14. N 1: 010101.

5. *Fyfe A., McDougall-Waters J., Moxham N.* 350 years of scientific periodicals // Notes Rec. 2015. Vol. 69. N 3. P. 227–239.

6. *Shuhua W., Hengjun W.* Challenges and strategies for Chinese university journals // Learn. Publ. 2004. Vol. 17. N 4. P. 326–330.

7. *Li L.* Advantages of university journals in China // Learn. Publ. 2005. Vol. 18. N 3. P. 188–192.

8. *Stanley A., Shuai Y.A.* China opening up: Chinese university journals and research—Today and tomorrow // Learn. Publ. 2007. Vol. 20. N 1. P. 43–50.

9. *Khokhlov A.N.* How scientometrics became the most important science for researchers of all specialties // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2020. Vol. 75. N 4. P. 159–163.

10. *Cyranoski D.* China spends millions to boost home-grown journals // Nature. 2019. Vol. 576. N 7787. P. 346–347.

11. *Tacson-Mendoza E.M.* Scientific and academic journals in the Philippines: status and challenges // Sci. Ed. 2015. Vol. 2. N 2. P. 73–78.

12. *Graf A.V., Khirazova E.E., Maslova M.V., Sokolova N.A.* Obestatin and its fragments: a new approach to the regulation of body weight under normal and pathological conditions // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2020. Vol. 75. N 2. P. 50–64.

13. *Kuzmin V.S., Kamensky A.A.* The molecular and cellular mechanisms of heart pacemaker development in vertebrates // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2021. Vol. 76. N 4. P. 147–164.

14. *Kirpichnikov M.P., Morgunova G.V., Khokhlov A.N.* Our journal—2020: what and how we publish // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2020. Vol. 75. N 1. P. 1–6.

15. *Silver S.* Death of scientific journals after 350 years // FEMS Microbiol. Lett. 2018. Vol. 365. N 14: fny130.

16. *Хохлов А.Н., Моргунова Г.В.* Научные публикации — хорошие, плохие, за пригоршню долларов // Научный редактор и издатель. 2021. Т. 6. № 1. С. 59–67.

Поступила в редакцию 28.12.2021 г.

После доработки 17.01.2022 г.

Принята в печать 02.02.2022 г.

EDITORIAL

75 years of the “Vestnik Moskovskogo universiteta” and 45 years of its biological series

G.V. Morgunova* , A.N. Khokhlov 

School of Biology, Lomonosov Moscow State University, 1–12 Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia

**e-mail: morgunova@mail.bio.msu.ru*

At the end of last year and at the beginning of this year, our journal “Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya” celebrated two memorable dates — the anniversary of the entire edition and the anniversary of our series. During its long history, the “Vestnik” of the School of Biology of Moscow State University has undergone many changes. The goals for which it was created used to be modified in the last 15 years, and now the journal is no longer

an edition to cover the activities of just scientists working at Moscow State University, but is an international edition (the English version is distributed by the Springer Nature publishing house) and is open to publications by authors from any scientific institutions both in Russia and other countries. Despite the difficulties that any university editions face, such journals can still develop and occupy their niches among scientific periodicals. Like Chinese scientific editions of the kind, our domestic journals are now continuously working to gain worldwide recognition. In the future, all scientific periodicals are likely to continue to change and transform, the task of university journals is to be in time to develop along with new technologies, taking into account the experience of foreign editions and not forgetting their own rich history.

Keywords: *Moscow University, natural sciences, biology, scientific publications, scientific journals, "Vestnik", scientometric indicators*

Сведения об авторах

Моргунова Галина Васильевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. сектора эволюционной цитогеронтологии биологического факультета МГУ, ответственный секретарь редколлегии журнала «Вестник Московского университета. Серия 16. Биология» / «Moscow University Biological Sciences Bulletin». Тел.: 8-495-938-27-01; e-mail: morgunova@mail.bio.msu.ru

Хохлов Александр Николаевич – докт. биол. наук, зав. сектором эволюционной цитогеронтологии биологического факультета МГУ, зам. главного редактора журнала «Вестник Московского университета. Серия 16. Биология» / «Moscow University Biological Sciences Bulletin». Тел.: 8-495-938-27-01; e-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru

ОБЗОР

УДК 574.5

Нейромедиаторы как коммуникативные агенты в водных экосистемах

А.В. Олескин* , А.Л. Постнов

Кафедра общей экологии и гидробиологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119234, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

*e-mail: oleskiny@yandex.ru

Одной из концептуальных проблем современной экологии (в том числе, и в применении к экосистемам водоемов) является проблема стабильного, гармоничного функционирования многих природных экосистем в отсутствие центрального управляющего звена. В настоящей работе рассматриваются литературные и собственные авторские данные, свидетельствующие о важной роли химических регуляторных и коммуникативных факторов, являющихся нейротрансммиттерами в нервных системах животных, в функционировании водных экосистем. Основное внимание уделено одной из важнейших подгрупп нейротрансммиттеров – биогенным аминам (дофамин, норадреналин, серотонин, гистамин и др.), их метаболитам (в частности, мелатонину), а также ацетилхолину. Представленные в работе факты свидетельствуют о том, что данные вещества выполняют широкий спектр сигнальных функций среди различных компонентов водных экосистем – микробиоты, фитопланктона, беспозвоночных, высших растений, рыб. Особенно важно то, что подобные коммуникативные агенты участвуют в регуляции функционирования экосистем в целом. Подчеркивается, что подобные системные регуляторы не только синтезируются и выделяются различными представителями водных экосистем, но и вносятся в них как антропогенные вещества-поллютанты.

Ключевые слова: *нейромедиаторы, нейротрансммиттеры, биогенные амины, водные экосистемы, коммуникация, кайромоны, экосистемные регуляторы*

Настоящая работа призвана внести вклад в решение «вечного» экологического вопроса: каким образом получается так, что существует множество долговременно устойчивых экосистем, которые существенно не меняются и функционируют на протяжении многих миллионов лет?

Известно, что во многих природных экосистемах сложным образом кооперируют и в то же время конкурируют между собой много сосуществующих взаимодействующих компонентов – популяций или ассоциаций живых организмов, которые вырабатывают химические сигналы, воспринимаемые другими представителями той же экосистемы и оказывающие на них многообразное регуляторное влияние в роли феромонов, алломонов, кайромонов, синомонов и др.

В водных экосистемах «взаимодействия посредством химических медиаторов существенно воздействуют на структуру популяций, организацию биоценозов, функционирование экосистем» [1]. Под влиянием химической коммуникации находятся стратегии добывания пищи, выбор питания, процессы в ассоциациях комменсалов, выбор брачного партнера и местообитания, конкурентные взаимодействия, обмен энергией и питательными веществами внутри экосистемы и между экосистемами [1].

В настоящей работе мы рассмотрим одну из функциональных групп химических агентов, регу-

лирующих функционирование экосистем. Речь идет о *нейромедиаторах (нейротрансммиттерах)* – веществах, которые переносят информацию между нервными клетками (нейронами) или от нейрона к исполняющей команду мышечной клетке или клетке железы. Нейромедиаторы подразделяют на несколько групп, из которых мы уделим особое внимание биогенным аминам, в том числе катехоламинам (дофамину, норадреналину, адреналину), серотонину, гистамину и др.

Многие нейротрансммиттеры обладают полифункциональностью, сочетая роли гормонов и местных тканевых факторов (гистогормонов). Некоторые нейротрансммиттеры выполняют коммуникативные и регуляторные функции у представителей различных типов животных, растений, грибов, простейших [2–4], что позволяет обозначать их более общим термином *биомедиаторы* [2].

В настоящей работе выдвигается предположение о важной роли нейромедиаторов как составной части пула экосистемных сигналов, которые вырабатываются и воспринимаются сразу многими компонентами экосистем и поэтому служат для коммуникации не только в рамках парных взаимодействий – например, в системе паразит-хозяин или хищник-жертва – но и на более «глобальном» уровне регуляции функционирования всей экосистемы.

Вопрос об экосистемной роли нейротрансммиттеров, их предшественников, метаболитов,

агонистов (функциональных аналогов), антагонистов (ингибиторов рецепторов нейротрансмиттеров) и других нейроактивных соединений имеет прямое отношение к природоохранной проблематике, поскольку подобные соединения все чаще попадают в сточные воды и далее в окружающую среду как загрязнители (поллютанты). В частности, хлорпромазин и многие другие применяемые в психиатрии препараты (антипсихотики) накапливаются в пищевых цепях природных экосистем, даже в низких концентрациях меняя поведение живых организмов в составе таких экосистем [5]. Так, важный нейромедиатор и гормон норадреналин вызывает летальный токсический эффект у представителей зоопланктона дафний *Ceriodaphnia dubia* и *Daphnia magna*; половина тестированных дафний погибает (доза LD₅₀) при концентрациях норадреналина в среде 46 и 38 мкМ соответственно; даже в существенно более низких (нелетальных) концентрациях норадреналин нарушает процесс размножения и стадии индивидуального развития (в частности, линьку) у исследованных видов дафний [6].

Загрязнение окружающей среды нейромедиаторами выступает как важнейшая составная часть более общей проблемы – бесконтрольное распространение нейро- и психоактивных веществ-поллютантов в воде, почве, продуктах питания. Так, лекарственные, гигиенические, косметические средства постоянно обнаруживаются в водоемах. Предполагается, что «широкий спектр водных организмов, включая бактерии, водоросли, беспозвоночных и рыб, имеют рецепторы» к подобным нейроактивным поллютантам, что и обуславливает их чувствительность к таким соединениям [7]. В частности, такие широко применяемые психофармакологические препараты как прозак (антидепрессант) и амфетамин (стимулятор когнитивных способностей) вызывают серьезные изменения в сообществах бактерий и водорослей в составе водных экосистем, эти же вещества влияют на скорость роста насекомых (Learn J.R. Some rivers are so drug-polluted, their eels get high on cocaine. National Geographic, 2018. <https://www.nationalgeographic.co.uk>).

Нейромедиаторы у микроорганизмов

В ряде недавних работ нейробиохимические агенты, образуемые как многоклеточными организмами, так и микроорганизмами (например, серотонин, глутамовая и γ -аминомасляная кислоты) рассматриваются как «общий универсальный язык», обеспечивающий коммуникацию между представителями различных царств живого [8].

В частности, в литературе накоплен значительный массив данных о стимулирующем действии катехоламинов на рост различных микроорганизмов [8–10]. Впрочем, эффекты катехоламинов варьировали в зависимости от концентрации и таксономи-

ческой принадлежности тестируемых микроорганизмов. Норадреналин, адреналин и дофамин стимулировали рост *Vibrio parahaemolyticus*, *V. mimicus*, но не *V. vulnificus* и *V. cholera*; норадреналин ингибировал рост *Mycoplasma hyopneumoniae*, подавляя экспрессию необходимых для пролиферации генов. Дофамин существенно стимулировал пролиферацию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*; напротив, норадреналин был малоэффективен (см. обзорные работы по этой теме [10–12]).

Диалог в экосистеме, осуществляемый с помощью катехоламинов, имеет двунаправленный характер, поскольку микроорганизмы не только реагируют на них, но и сами активно продуцируют эту группу биогенных аминов. Например, норадреналин в концентрациях 0,2–2 мкМ присутствовал в биомассе *Bacillus mycoides*, *B. subtilis*, *Proteus vulgaris* и *Serratia marcescens*; дофамин в количестве 0,5–2 мкМ – в биомассе большинства протестированных прокариот [13]. По данным литературы, многие виды бактерий образуют ацетилхолин – например, штаммы *Lactobacillus plantarum* [3].

С точки зрения «водной экологии» интересно, что дофамин в микромолярных концентрациях обнаружен также у *Morganella morganii* (2,46 мг/л, ~16 мкМ), *Klebsiella pneumonia* (1,06 мг/л; 6,9 мкМ) и *Hafnia alvei* (0,73 мг/л; 4,7 мкМ), изолированных из рыбных продуктов [14].

Что касается других нейромедиаторов, то серотонин незначительно стимулировал рост *Aeromonas hydrophila* [15] и статистически достоверно увеличивал скорость роста *Enterococcus faecalis* [16], *Escherichia coli* и *Rhodospirillum rubrum* [17], дрожжей *Candida guilliermondii* [16] и *S. cerevisiae* [18]. Серотониновый «диалог» микробиоты и прочих компонентов экосистем носит двусторонний характер – микробиота не только реагирует на серотонин, но и вырабатывает сама его в физиологически значимых концентрациях. Продукция серотонина достаточно распространена в микробном мире, включая представителей симбиотической и паразитической микробиоты [19, 20]. Серотонин обнаружен в клетках *Bacillus subtilis* и *Staphylococcus aureus* [13] в концентрациях порядка 1 мкМ.

Наконец, гистамин вызывал примерно двукратную стимуляцию накопления биомассы и усиливал агрегацию клеток с формированием колоний у *E. coli* K-12 (максимальный эффект при ~0,1 мкМ) [21, 22]. Гистамин стимулирует в микромолярных концентрациях также пролиферацию клеток дрожжей *S. cerevisiae*, в этой системе его эффект примерно соответствовал по амплитуде эффекту серотонина (стимуляция примерно на 70% при 1 мкМ для обоих нейромедиаторов) и существенно слабее эффекта дофамина [21, 22].

Способность к синтезу гистамина с выделением в среду культивирования установлена для широкого спектра бактерий (см. соответствующие обзоры [10, 12]). Они накапливают гистамин

и другие токсичные в высоких концентрациях амины (тирамин, фенилэтиламин, кадаверин, путресцин, агматин, спермин, спермидин) при переработке и хранении морепродуктов [23].

Нейромедиаторы у представителей фитопланктона

Нейромедиаторы серотонин, гистамин, дофамин [24], норадреналин [25], а также ацетилхолин и таурин [26] стимулируют (в различной степени) рост зеленых микроводорослей рода *Chlorella*, у которых ацетилхолин также способствует накоплению липидов, особенно ненасыщенных [26], и повышает концентрацию хлорофиллов. Показано стимулирующее действие серотонина, дофамина, норадреналина, гистамина [25], ацетилхолина (неопубликованные данные авторов) на рост микроводоросли *Scenedesmus quadricauda*. Многие виды водорослей (представители *Chlorophyta*, *Charophyta*, *Ochrophyta*, *Rhodophyta*) синтезируют значительные количества дофамина, серотонина, гистамина, тирамина, ацетилхолина и других нейромедиаторов [27, 28]. Гистамин накапливается, например, в клетках красной водоросли *Claviceps purpurea* до концентраций 60–500 мг/г биомассы [29].

Микроводоросли *Microsterius denticulate* и *Laurencia obtuse* содержат около 0,2 мкг ацетилхолина на 1 г сухого веса [26]. У зеленой водоросли *Ulvaria obscura* дофамин, который накапливается в ее биомассе — в основном в тилакоидных мембранах хлоропластов в количестве, соответствующем 4,4% веса биомассы [27, 28] — функционирует как кайромон, т.е. протектор жертвы [30] (в данном случае водоросли), предотвращая поедание этой водоросли морскими ежами, брюхоногими, а также членистоногими [31].

Производное серотонина мелатонин регулирует у динофлагеллят *Gonyaulax polyedra* реакцию на сокращение светового дня, а также формирование покоящихся форм бесполого размножения — цист [23].

Нейромедиаторы у водных беспозвоночных

Нейротрансмиттеры участвуют в регуляции физиологических процессов у различных представителей зоопланктона. Так, ацетилхолин выступает как ингибитор процесса конъюгации у инфузорий *Paramecium*. У этих одноклеточных организмов было установлено наличие функционально связанных никотиновых и мускариновых рецепторов, а также расщепляющего ацетилхолин фермента ацетилхолинэстеразы. Холинацетилтрансфераза, катализирующая синтез ацетилхолина, локализована на поверхностной мембране компетентных клеток *Paramecium primaurelia* [3]. Дофамин накапливается в клетках инфузории *Tetrahymena pyriformis* [3].

Есть факты, допускающие участие нейромедиаторов в пищевых взаимодействиях водных беспозвоночных как хищников и водорослей как их жертв, т.е. касающиеся их возможной функции в качестве кайромонов. Питающиеся хлореллой

дафнии — в частности, *D. magna* — синтезируют дофамин в концентрациях порядка 0,1 мкМ (неопубликованные данные авторов). Как уже указано, рост хлореллы стимулируется дофамином [25]. Таким образом, не исключено, что хищник *D. magna* стимулирует рост водоросли, которая служит ему источником пищи.

У *D. magna* недостаток пищи (клеток водорослей) в среде снижает скорость их роста и удлиняет время, необходимое для взросления особи. Однако добавление в воду дофамина или антидепрессанта бупропиона, подавляющего обратный захват дофамина нейронами (тем самым повышая действующую концентрацию дофамина в нервной системе дафнии), приводит к тому, что скорость роста и время взросления в условиях голода приближаются к характерным для «сытых» условий значениям [32]. В то же время дофамин и бупропион не оказывают значимого действия на скорость роста и время взросления, если дафнии имеют насыщающее количество пищи [32].

Нейроактивные поллютанты вызывают серьезные изменения в организмах водных беспозвоночных. Так, известный наркотик морфин (агонист пептидных нейромедиаторов эндорфинов) снижает уровень серотонина и повышает уровень дофамина в организме моллюска *Elliptio complanata*, что на поведенческом уровне проявляется расслабленным состоянием моллюска [7]. Нарушающий функционирование катехоламинов в нервной системе метамфетамин, попадая в водную среду, влияет на долговременную память улитки *Lymnaea stagnalis* [7].

Серотонин в среде в высоких концентрациях оказывает токсическое действие на дафний, причем летальный эффект наблюдается при скармливании *D. magna* водорослей *S. quadricauda*, инкубированных в течение 7 сут с 33 мкМ серотонина (неопубликованные данные авторов). Эта модельная система иллюстрирует, как могут происходить биоаккумуляция и негативное воздействие на водные экосистемы антропогенных нейроактивных веществ-поллютантов.

Нейромедиаторы у высших растений

Многие водные экосистемы функционируют с участием высших растений, которые как непосредственно входят в их состав (ряска, кувшинки и др.), так и обрастают берега, вступая в обмен химическими сигналами и регуляторами с водными организмами. Многие растения синтезируют нейромедиаторы и в то же время реагируют на них [2, 3]. Нейромедиаторы участвуют в таких процессах у растений, как формирование органов, цветение, транспорт ионов, фотосинтез, циркадные ритмы, созревание плодов, фотоморфогенез (зависимые от света процессы развития) [2, 3]. Дофамин, норадреналин и серотонин стимулируют прорастание пыльцы у *Equisetum arvense* и *Hippeastrum hybridum* [29].

Ацетилхолин синтезируется по крайней мере 65 видами цветковых растений, относящимися к 33 различным семействам; много ацетилхолина содержится в жгучих волосках крапивы *Urtica dioica* [3]. У *Arabidopsis thaliana* (резьбушка, или резуховидка, Таля) высокие концентрации ацетилхолина характерны для семян и корней [29]. Ацетилхолин стимулирует рост многих цветковых растений, например, томатов, пшеницы, коровьего гороха, редьки посевной, листового бамбукового, способствует их цветению, ускоряет движение устьиц, усиливает действие фитохромной системы, снижает образование такого газообразного гормона, как этилен, подавляет сворачивание листьев [29]. Есть данные об участии ацетилхолина как сигнальной молекулы во внутриорганизменной коммуникации между корнями и побегами у *Vicia faba* (фасоль) [29] и о стимуляции накопления ацетилхолина в стеблях, листьях, корнях растения в ответ на тепловой стресс (нагревание) [23].

Катехоламины были обнаружены у 28 видов из 18 изученных семейств растений [3]. Особо следует отметить тот факт, что повышенное количество дофамина (1–4 мг/г свежей массы) содержится в цветах и плодах, в частности, соцветиях *Araceae* и мякоти плодов бананов [3, 32]. Биогенные амины, в частности, катехоламины, выступают как факторы ответа на стресс. Например, при повреждении листьев картофеля в них существенно возрастают концентрации дофамина, норадреналина и адреналина; уровень дофамина возрастает в тканях поврежденного кактуса *Portulacca callus* [32].

У ряда растений обнаружены специфические для норадреналина и адреналина рецепторы (аналоги адренорецепторов животных), участвующие в регуляции движения цитоплазмы, ионной проницаемости мембран, формировании мембранного потенциала, в процессе развития цветков растений [29]. Дофамин, синтезируемый растениями, играет защитную роль, препятствуя поеданию растений млекопитающими или насекомыми [29].

Что касается водных растений, то, например, у ряски норадреналин и адреналин, а также их аналог изопротеренол стимулируют развитие цветков [29].

Важными регуляторами развития растений на всех этапах от прорастания семян до цветения выступают также серотонин и его производное мелатонин [33]. В частности, серотонин ускоряет рост побегов у *Hippeastrum hybridum* (у которого также способствует прорастанию семян) и *Mimosa pudica* [29]. Серотонин играет регуляторную роль в процессах формирования кончиков корней растений. Серотонин и мелатонин взаимодействуют в тканях растений с такими важными регуляторными соединениями, как окись азота, салициловая и жасмоновая кислоты [29].

Мелатонин, который содержится не менее чем у 140 видов растений, участвует в регуляции развития цветов и семян, стимулирует рост кор-

ней в длину и увеличивает их число, а также замедляет старение листьев, например, у яблони и резушки Таля. У последней, а также у растений риса и сливы мелатонин увеличивает прирост биомассы. Он способствует работе иммунной системы растений, стимулируя продукцию салициловой кислоты и окиси азота как факторов антибактериальной защиты. К другим регуляторным функциям мелатонина относятся стимуляция роста этиолированных (растущих без света) гипокотилей люпина и в то же время подавление роста корней у пшеницы, ячменя, овса [23, 29].

Листья растущих вдоль берегов водоемов в тропическом Китае растений *Plumeria rubra*, *Syzygium jambos*, *Buxus megistophylla* и *Cinnamomum bodinieri* содержат микромолярные количества серотонина и субмикромолярные или микромолярные (у *C. bodinieri*) количества катехоламинов. 3-Метилтриптамин, метаболит серотонина, также был обнаружен в исследуемых образцах листьев растений, за исключением образцов *B. megistophylla* [34].

Водное растение *Lemna minor* (ряска) синтезирует нейромедиаторный амин тирамин, а также «трупные амины» кадаверин и путресцин [35] (с возможной нейрхимической функцией [11]). С учетом влияния веществ-загрязнителей на водные экосистемы интересно заметить, что добавление к культуре ряски распространенного фармакологического загрязнителя – антибиотика тетрациклина – ведет к повышению уровня биогенных аминов в клетках этого растения. Это дополнительно подкрепляет идею о роли нейромедиаторов в стрессорных реакциях не только животных, но и растений [35].

Различные нейротрансмиттеры участвуют как двусторонние сигналы во взаимодействии между растениями и микроорганизмами, которые обрастают их или проникают во внутреннюю среду растений [36].

Нейротрансмиттеры у рыб

Среди сравнительно обширных данных о функциях нейромедиаторов в организме водных позвоночных и особенно рыб отметим результаты исследований, имеющие явное экологическое значение. Дофамин, который вырабатывается, например, некоторыми водорослями и беспозвоночными (см. выше), в то же время воздействует на поведение рыб. У костистых рыб, в частности, у *Danio rerio*, дофамин подавляет процесс размножения, выступая как антагонист стимулятора размножения – нейрого르몬а гонадотропина [37]. Тем самым, продуцируемый водорослями дофамин в той мере, в какой он проникает в организм рыб в водной экосистеме и достигает функциональных зон их мозга, может косвенно ограничивать поедание фито- и зоопланктона рыбами.

Выше было указано, что кроме дофамина, катехоламины включают норадреналин, который выделяется микробиотой и другими компонента-

ми экосистем. В доступной литературе не нашлось данных по действию добавленного в воду норадреналина на рыб. Однако показано, что норадреналин, введенный в эксперименте в мозг золотых рыбок *Carassius auratus* (в количестве 5–50 нг), влияет на терморегуляцию и побуждает рыб предпочитать более холодную воду, чем без воздействия норадреналина [38].

Содержащиеся в организме рыб нейротрансмиттеры отчасти имеют микробную природу, поскольку, например, гистамин синтезируется из аминокислоты гистидина симбиотическими бактериями, включая *E. coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Lactobacillus* spp. (см. соответствующую обзорную работу [12]). У некоторых рыб, особенно с темным цветом мяса (сардинелла, ставрида, скумбрия), гистамин может накапливаться в концентрациях, токсичных для человека, употребляющего их в пищу [12, 39, 40].

С экосистемной точки зрения интересно, что гистамин и другие нейротрансмиттеры организма рыб могут тем или иным путем оказываться непосредственно в воде (например, при ранении рыбы) и действовать на прочие компоненты водной экосистемы. С этой точки зрения примечательно, что гистамин (как уже указано в начале данной работы) стимулирует рост бактерий [10, 12] и водорослей на примерах *Chlorella vulgaris* [24] и *S. quadricauda* [25]. В данном аспекте нейротрансмиттеры и, в частности, биогенные амины, могут выступать как составная часть выделяемых рыбами кайромонов – в той мере, в какой они не только содержатся внутри организма рыбы, но и выбрасываются в окружающую среду.

Как и другие компоненты водных экосистем, рыбы находятся под сильным влиянием антропогенных нейроактивных веществ-загрязнителей. Так, поведение угрей изменяется под воздействием кокаина в реке Темза у здания Парламента в Лондоне или в реке Арно близ Пизы. Нарушение поведения проявляется в гиперактивности угрей, причем преодоление нормального долгого пути до места нереста оказывается проблематичным. Кокаин повышает содержание дофамина в мозгу угря, тем самым препятствуя достижению молодыми особями половозрелого состояния; параллельно возрастает концентрация кортизола, что ведет к задержке накопления необходимого для миграции запаса жира (Learn J.R. Some rivers are so drug-polluted, their eels get high on cocaine. National Geographic, 2018 <https://www.nationalgeographic.co.uk>).

Нейротрансмиттеры как экомоны (аллелохимикаты)

Представленные литературные и отчасти собственные авторские данные говорят о том, что нейротрансмиттеры участвуют в многостороннем взаимодействии между представителями водной микробиоты, фитопланктоном, зоопланктоном, высшими растениями, рыбами (и, разумеется,

другими позвоночными). Каждый из участвующих партнеров способен и вырабатывать нейротрансмиттеры, и в то же время специфически реагировать на них. В данной работе основное внимание было уделено одной из важнейших групп нейротрансмиттеров – биогенным аминам (дофамин, норадреналин, серотонин, гистамин), которые, вероятно, составляли часть изобретенной живой природой не менее 1 млрд. лет назад арсенала средств химической коммуникации между различными формами живого.

В силу своей универсальности регуляторных и коммуникативных функций в живой природе эти нейротрансмиттеры, как можно предполагать, не только влияют на функционирование отдельных звеньев природных экосистем, но и оказывают регуляторное воздействие на подобные экосистемы как целостные системы, что и оправдывает введение в отношении таких химических факторов термина *экомоны*, в дополнение к термину *биомедиаторы* [2]. Термин «экомон» используется в некоторых работах экологов, например, М. Флоркина [41] и Ж. Пастельса [42, 43], причем подчеркивается, что экомоны включают в себя внутривидовые и межвидовые сигналы. Как следует из приведенных в настоящей работе фактов, нейромедиаторы функционируют и на внутри-, и на межвидовом уровне, совмещая роли феромонов, кайромонов, алломонов. Более того, подобные экомоны присутствуют в водных экосистемах не только в силу их синтеза компонентами таких экосистем. Если процитированный Пастельс [43] говорит об «абиотическом окружении», то в настоящее время нейроактивные вещества и их аналоги попадают в окружающую среду как антропогенные вещества-поллютанты, и такие примеры приведены в тексте данной обзорной публикации.

В то же время, представления об экосистемных регуляторах воплощались в классических работах отечественных исследователей, которые предпочитали термин «аллелохимикаты» для обозначения активных экзометаболитов в биоценозах, в том числе и водных [44].

Еще не решенной исследовательской задачей следует признать измерение концентраций различных нейротрансмиттеров (как природного, так и антропогенного происхождения) в водоемах и выяснение их связи с различными аспектами функционирования водных экосистем.

Исследование проведено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды». Работа выполнена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hay M.E. Marine chemical ecology: chemical signals and cues structure marine populations, communities, and ecosystems // *Annu. Rev. Mar. Sci.* 2009. Vol. 1. P. 193–212.
2. Рощина В.В. Биомедиаторы в растениях. Ацетилхолин и биогенные амины. Пушино: Пушинский научный центр АН СССР, 1991. 192 с.
3. Roshchina V.V. Evolutionary considerations of neurotransmitters in microbial, plant, and animal cells // *Microbial endocrinology: interkingdom signaling in infectious disease and health* / Eds. M. Lyte and P.P.E. Freestone. N.Y.: Springer, 2010. P. 17–52.
4. Buznikov G.A. Preneural transmitters as regulators of embryogenesis. Current state of problem // *Russ. J. Dev. Biol.* 2007. Vol. 38. N 4. P. 213–220.
5. Escudero J., Muñoz J.L., Morera-Herreres T., Hernandez R., Medrano J., Domingo-Ectaburu S., Barcelo D., Olive G., Lertxundi U. Antipsychotics as environmental pollutants: an underrated threat? // *Sci. Total Environ.* 2021. Vol. 769: 144634.
6. Overturf C.L., Wornington A.M., Blythe K.N., Gohad N.V., Mourt A.S., Robers A.P. Toxicity of noradrenaline, a novel anti-biofouling component, to two non-target zooplankton species, *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* // *Comp. Biochem. Physiol. Part – C: Toxicol. Pharmacol.* 2015. Vol. 171. P. 49–54.
7. Rosi-Marchall E.J., Snow D., Bartelt-Hunt S.L., Paspalof A., Tank J.L. A review of ecological effects and environmental fate of illicit drugs in aquatic ecosystems // *J. Hazard. Mater.* 2015. Vol. 282. P. 18–25.
8. Mazzoli R., Pessione E. The neuro-endocrinological role of microbial glutamate and GABA signaling // *Front. Microbiol.* 2016. Vol. 7: 1934.
9. Lyte M. Microbial endocrinology: an ongoing personal journey // *Microbial endocrinology: interkingdom signaling in infectious disease and health* / Ed. M. Lyte. N.Y.: Springer, 2016. P. 1–24.
10. Oleskin A.V., Shenderov B.A., Rogovsky V.S. Role of neurochemicals in the interaction between the microbiota and the immune and the nervous system of the host organism // *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 2017. Vol. 9. N 3. P. 215–234.
11. Oleskin A.V., Shenderov B.A. Probiotics and psychobiotics: the role of microbial neurochemicals // *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 2019. Vol. 11. N 4. P. 1071–1085.
12. Oleskin A.V., Shenderov B.A. Microbial communication and microbiota-host interactions: biomedical, biotechnological, and biopolitical implications. Hauppauge: Nova Science Publ., 2020. 256 pp.
13. Цавкелова Е.А., Ботвинко И.Б., Кудрин В.С., Олескин А.В. Детекция нейромедиаторных аминов у микроорганизмов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Докл. Росс. Акад. наук.* 2000. Т. 372. № 6. С. 840–842.
14. Özogul F. Production of biogenic amines by *Morganella morgani*, *Klebsiella pneumonia* and *Hafnia alvii* using a rapid HPLC method // *Eur. Food Res. Technol.* 2004. Vol. 219. N 5. P. 465–469.
15. Kinney K.S., Austin C.E., Morton D.S., Sonnenfeld G. Catecholamine enhancement of *Aeromonas hydrophila* growth // *Microbial Pathogenesis.* 1999. Vol. 25. N 2. P. 85–91.
16. Страховская М.Г., Иванова Е.В., Фрайкин Г.Я. Стимулирующее влияние серотонина на рост дрожжей *Candida guilliermondii* и бактерий *Streptococcus faecalis* // *Микробиология.* 1993. Т. 62. № 1. С. 46–49.
17. Oleskin A.V., Kirovskaya T.A., Botvinko I.V., Lyssak L.V. Effects of serotonin (5-hydroxytryptamine) on the growth and differentiation of microorganisms // *Microbiology (Mosc.)*. 1998. Vol. 67. N 3. P. 251–257.
18. Malikina K.D., Shishov V.I., Chuvelev D.I., Kudrin V.S., Oleskin A.V. Regulatory role of monoamine neurotransmitters in *Saccharomyces cerevisiae* cells // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2010. Vol. 46. N 6. P. 620–625.
19. Rook G.A.W., Raison C.L., Lowry C.A. Can we vaccinate against depression? // *Drug Discov.* 2013. Vol. 17. N 9/10. P. 451–458.
20. Liang S., Wu X., Jin F. Gut-brain physiology: rethinking psychology from the microbiota-gut-brain axis // *Front. Integr. Neurosci.* 2018. Vol. 12: 33.
21. Anuchin A.M., Chuvelev D.I., Kirovskaya T.A., Oleskin A.V. Effects of monoamine neuromediators on the growth-related variables of *Escherichia coli* K-12 // *Microbiology (Mosc.)*. 2008. Vol. 77. N 6. P. 674–680.
22. Oleskin A.V., Malikina K.D., Shishov V.A. Symbiotic biofilms and brain neurochemistry. Hauppauge: Nova Science Publ., 2010. 53 pp.
23. Cao J., Cole I.B., Murch S.J. Neurotransmitters, neuroregulators and neurotoxins in the life of plants // *Can. J. Plant. Sci.* 2006. Vol. 86. N 4. P. 1183–1188.
24. Oleskin A.V., Postnov A.L., Boyang C. Impact of biogenic amines on the growth of a *Chlorella vulgaris* culture // *J. Pharm. Nutr. Sci.* 2021. Vol. 11. P. 49–53.
25. Oleskin A.V., Postnov A.L., Boyang C. Impact of biogenic amines on the growth of green microalgae // *J. Pharm. Nutr. Sci.* 2021. Vol. 11. P. 144–150.
26. Parsaiemehr A., Sun Z., Dou X., Chen Y.-F. Simultaneous improvement in production of microalgal biodiesel and high-value alpha-linolenic acid by a single regulator acetylcholine // *Biotechnol. Biofuels.* 2015. Vol. 8: 11.
27. Van Alstyne K.L., Harvey E.L., Cataldo M. Effects of dopamine, a compound released by the green-tide macroalga *Ulvaria obscura* (Chlorophyta), on marine algae and invertebrate larvae and juveniles // *Phycologia.* 2014 Vol. 53. N 2. P. 195–202.
28. Van Alstyne K.L., Ridgway R.L., Nelson A. Neurotransmitters in marine and freshwater algae // *Neurotransmitters in plants: Perspectives and applications* / Eds. A. Ramakrishna and V.V. Roshchina. Boca Raton: CRC Press, 2018. P. 27–36.
29. Ramakrishna A., Murherjee S. New insights on neurotransmitter signaling mechanisms in plants // *Plant Signal.* 2020. Vol. 15. N 6: 1737450.
30. Brown W.L.Jr., Eisner T., Whittaker R.H. Allomones and kairomones: transpecific chemical messengers // *Bio-science.* 1970. Vol. 20. N 1. P. 21–22.
31. Issa S., Gamelon M., Cisielski T.M., Vike-Jones K., Asimakopoulos A.G., Jaspers V.L.B., Einum S. Dopamine mediates life-history responses to food abundance in *Daphnia* // *Proc. Royal Soc. B.* 2020. Vol. 287. N 1930: 20201069.
32. Kulma A., Szopa J. Catecholamines are active compounds in plants // *Plant Sci.* 2007. Vol. 172. N 3. P. 433–440.
33. Erland L.A.E., Saxena P.K. Melatonin and serotonin in plant morphogenesis and development // *Neurotransmitters in plants: Perspectives and applications* / Eds. A. Ramakrishna and V.V. Roshchina. Boca Raton: CRC Press, 2018. P. 57–70.

34. Boyang C., Oleskin A.V., Vlasova T. Detecting biogenic amines in food and drug plants with HPLC: medical and nutritional implications // *J. Pharm. Nutr. Sci.* 2020. Vol. 10. N 3. P. 88–91.
35. Basiak M., Sikorski L., Piotrowicz-Cieslak A.-I., Adomas B. Content of biogenic amines in *Lemna minor* (common duckweed) growing in medium contaminated with tetracycline // *Aquat. Toxicol.* 2016. Vol. 180. P. 95–102.
36. Oleskin A.V., Shenderov B.A. Production of neurochemicals by microorganisms: implications for microbiota–plants interactivity // *Neurotransmitters in plants: Perspectives and applications* / Eds. A. Ramakrishna and V.V. Roshchina. Boca Raton: CRC Press, 2018. P. 271–280.
37. Fontaine R., Affaticati R., Yamamoto K., Jolly C., Bureau C., Baloche S., Gounet F., Vermir P., Dufour S., Pasqualini C. Dopamine inhibits reproduction in female zebrafish (*Danio rerio*) via three pituitary D2 receptor subtypes // *Neuroendocrinology*. 2013. Vol. 154. N 2. P. 807–818.
38. Wollmuth L.P. Norepinephrine and temperature regulation in goldfish. Dissertations and Theses. Portland State University, 1987. 23 pp.
39. Lin C.-S., Tsai H.-C., Lin C.-M., Huang C.-Y., Kung H.-F., Tsai Y.-H. Histamine content and histamine-forming bacteria in mahi–mahi (*Coryphaea hippurus*) fillets and dried products // *Food Control*. 2014. Vol. 42. P. 165–171.
40. Devalia J.L., Grady D., Harmanyeri Y., Tabaqchali S., Davies R.J. Histamine synthesis by respiratory tract micro-organisms: possible role in pathogenicity // *J. Clin. Pathol.* 1989. Vol. 42. N 5. P. 516–522.
41. Florkin M., Schoffenfels E. *Molecular approaches to ecology*. N.Y.: Academic Press, 1969. 214 pp.
42. Pasteels J.M. Ecomones: messages chimiques des écosystèmes // *Ann. Soc. R. Zool. Belg.* 1972. P. 103–117.
43. Pasteels J.M. Is kairomone a valid and useful term? // *J. Chem. Ecol.* 1982. Vol. 8. N 7. P. 1079–1081.
44. Тамбиев А.Х. Реакционная способность экзотаболитов растений. М: Изд-во МГУ, 1984. 73 с.

Поступила в редакцию 02.11.2021

После доработки 28.12.2021

Принята в печать 03.02.2022

REVIEW

Neurotransmitters as communicative agents in aquatic ecosystems

A.V. Oleskin* , A.L. Postnov

General Ecology and Hydrobiology Department, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, 1–12 Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia

*e-mail: oleskiny@yandex.ru

One of the conceptual issues of modern ecology, including research on the ecosystems of water bodies, is concerned with the question how natural ecosystems can sustainably and harmoniously function without a central controlling agent. The present work contains literature data and the authors' own findings that provide evidence for an important regulatory role of chemical factors that perform the function of neurotransmitters in the nervous systems of animals. Special attention is given to biogenic amines and related compounds that represent one of the main subgroups of neurotransmitters. The facts considered in this work indicate that such substances are characterized by a wide spectrum of signal functions in diverse components of aquatic ecosystems, including the microbiota, phytoplankton, invertebrates, higher plants, and fish. Of paramount importance is the involvement of such neurotransmitters in the regulation of the functioning of whole ecosystems. Such ecosystem-level regulators are not only synthesized and released into the environment by various components of aquatic ecosystems but also introduced into them as human-made pollutants.

Keywords: *neurotransmitters, biogenic amines, aquatic ecosystems, communication, kairomones, ecosystem-level regulators*

Funding: This study was performed under the state assignment of the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow State University “The future of the planet and global environmental changes”.

Сведения об авторах

Олескин Александр Владимирович — докт. биол. наук, проф. кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-903-507-22-58; e-mail: oleskiny@yandex.ru

Постнов Андрей Львович — вед. инженер кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-72; e-mail: apostnov@rambler.ru

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 577.35+615.32

Антиоксидантная активность некоторых водных экстрактов, применяемых в традиционной китайской медицинеА.А. Байжуманов¹, * , Л. Май², А.И. Юсипович¹ , Г.В. Максимов¹¹Кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;²биологический факультет, Университет МГУ–ППИ в Шэньчжэнь, Китай, 518172, провинция Гуандун, г. Шэньчжэнь, район Лунган, ул. Жуи, д. 299

*e-mail: adilbayzhumanov@biophys.msu.ru

В 2020 г. Министерство здравоохранения Китая внесло *Dendrobium officinale*, *Ganoderma lucidum*, *Gastrodia elata*, *Cornus officinalis*, *Eucommiae ulmoides*, *Cistanche deserticola*, *Astragalus membranaceus*, *Panax quinquefolium* и *Codonopsis pilosula* в список разрешенного к применению лекарственного растительного сырья. Установлено, что водные экстракты *E. ulmoides*, *C. deserticola* и *C. officinalis* обладают наиболее высокими значениями общей антиоксидантной активности, а экстракты *G. elata* и *D. officinale* были наименее эффективны. Проведенный регрессионный анализ показал корреляцию между суммарным содержанием фенольных соединений в экстрактах и общей антиоксидантной активностью ($r=0,67$, $p=0,039$). Во всех использованных тест-системах наиболее эффективными антиоксидантными свойствами обладал экстракт *E. ulmoides*.

Ключевые слова: традиционные средства китайской медицины, водные экстракты, антиоксидантная активность, фенольные соединения, окислительный стресс, активные формы кислорода, свободные радикалы

Современные фармакологические исследования показывают, что окислительный стресс может приводить к различным патологическим состояниям и заболеваниям, таким как старение, рак, гипертония, болезнь Паркинсона, воспалительные заболевания, сердечно-сосудистые заболевания и др. [1]. Фрукты, овощи и травы, а также их производные содержат большое количество фенольных соединений, которые способны улавливать свободные радикалы, а также хелатировать ионы железа и меди, уменьшая, тем самым, окислительный стресс. Так, эпидемиологические исследования показали, что риск инфаркта миокарда имеет обратную зависимость от потребления чая и вина, содержащих много полифенолов [2], а риск смерти от ишемической болезни сердца у женщин в постменопаузе и болезнь Паркинсона имеют отрицательную корреляцию с употреблением витамина Е [3, 4]. Также существуют данные, что продукты, богатые ликопином, могут помочь в лечении патологий печени [5].

Многие лекарственные растения традиционной китайской медицины проявляют антиоксидантную активность [7]. Так, например, в работе В. Чжэна и Ш.Ю. Ван [6] была показана антиоксидантную активность 12 лекарственных и 27 пищевых растений.

В 2012 г. министерство здравоохранения Китая опубликовало список из 86 широко используе-

мых препаратов традиционной китайской медицины (ТКМ) природного происхождения. В 2014 г. в этот список были добавлены еще 15 препаратов ТКМ на основе растительного и животного сырья, а также грибов. В январе 2020 г. в список добавлено 9 препаратов ТКМ из растительного сырья на основе *Dendrobium officinale* Kimura et Migo, *Ganoderma lucidum* Karst, *Gastrodia elata* Blume, *Cornus officinalis* Torr. ex Dur., *Eucommiae ulmoides* Oliv., *Cistanche deserticola* Ma, *Astragalus membranaceus* Moench, *Panax quinquefolium* L., *Codonopsis pilosula* Franch.

Целью нашей работы стала оценка антиоксидантной активности 9 водных экстрактов растительного сырья, применяемого в ТКМ: *D. officinale*, *G. lucidum*, *G. elata*, *C. officinalis*, *E. ulmoides*, *C. deserticola*, *A. membranaceus*, *P. quinquefolium*, *C. pilosula*.

Материалы и методы

Приготовление водных экстрактов средств ТКМ. Все сухие образцы сырья ТКМ, кроме *E. ulmoides*, были приобретены в сертифицированных аптеках Beijing Tong-Ren-Tang (Шэньчжэнь, Китай). *E. ulmoides* была куплена в аптеке Ali Health (Китай). Экстракты готовили по методике, описанной ранее [7]. Для приготовления водных экстрактов мы использовали сухие препараты стебля *D. officinale* и *A. membranaceus*, склероция

G. lucidum, корневища *G. elata*, ягод *C. officinalis*, листьев *E. ulmoides*, корней *C. deserticola*, *P. quinquefolius* и *C. pilosula*. Сухие образцы сырья предварительно измельчали, а затем растирали в ступках в мелкий порошок. Для получения водного экстракта 0,25 г порошка сырья ТКМ смешивали с 5 мл деионизированной воды, затем экстрагировали на водяной бане при встряхивании при 80 °С в течение 30 мин. Настой охлаждали до комнатной температуры и затем центрифугировали в течение 10 мин, супернатант пропускали через фильтр Millipore (Merck KGaA, Германия) с размером пор 0,45 мкм. Фильтрат хранили в холодильнике при 4 °С и все показатели измеряли в течение одних суток после экстракции.

Определение суммарного содержания водорастворимых фенолов. Общее содержание фенольных соединений определяли по методике с использованием реактива Фолина-Чокальтеу [8]. 0,05 мл водного экстракта образца смешивали с 0,5 мл 0,2 N реактива Фолина-Чокальтеу (Sigma-Aldrich, США). Смесь встряхивали в течение 1 мин. После инкубации в течение 5 мин при комнатной температуре к смеси добавляли 0,4 мл 1 M Na₂CO₃ и снова встряхивали. После инкубации смеси в течение 15 мин измеряли оптическую плотность на спектрофотометре модель Hitachi 556 (Hitachi, Япония) при длине волны 765 нм. В качестве калибровочного раствора использовали растворы хлорогеновой кислоты с концентрациями от 0 до 250 мкг/мл. Общее содержание фенольных соединений в водных экстрактах выражали в мкг хлорогеновой кислоты/мл экстракта.

Определение общей антиоксидантной активности. Общую антиоксидантную активность водных экстрактов оценивали по образованию окрашенного комплекса восстановленного железа с 2,4,6-трипиредилтриазином [9].

Ранее [10] было показано, что часовая инкубация плазмы крови с различными концентрациями растворов двухвалентного железа и перекиси водорода при температуре 37 °С вызывает накопление конечных продуктов перекисного окисления липидов, которое можно оценить по уровню реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). ТБК-активные продукты определяли по методу, опубликованному ранее [11].

Для запуска процесса пероксидации в плазме крови в течение 1 ч при 37 °С инкубировали реакционную смесь 1, которая состояла из 100 мкл плазмы крови, 50 мкл деионизированной воды, 15 мкл 0,88 M раствора пероксида водорода и 15 мкл 1 mM раствора FeSO₄ (опыт), и реакционную смесь 2, которая состояла из 100 мкл плазмы и 80 мкл деионизированной воды (контроль 1). Сразу после инкубации приступали к определению ТБК-активных продуктов. Кроме этого, количество ТБК-активных продуктов определяли сразу после добавления в реакционную смесь, со-

стоящую из 100 мкл плазмы крови и 50 мкл деионизированной воды, 15 мкл 0,88 M раствора пероксида водорода и 15 мкл 1 mM раствора FeSO₄ (контроль 2). Для определения антиоксидантной активности в реакционную смесь вместо 50 мкл воды вносили 50 мкл испытуемого водного экстракта сырья ТКМ.

Измерение оптического поглощения проводили на спектрофотометре Hitachi 556 (Hitachi, Япония) при длине волны 532 нм. Каждое измерение проводили в трех повторностях. Концентрацию ТБК-активных продуктов рассчитывали на основе коэффициента молярной экстинкции малонового диальдегида и выражали в нмолях/мл плазмы.

Оценка антиоксидантной активности водных экстрактов сырья ТКМ методом хемилюминесценции. Хемилюминесценцию, индуцированную реакцией Фентона, измеряли с помощью люминометра Люм-1 (Люмтек, Россия) с 4–5 повторами. Сигнал люминесценции измеряли каждые 10 с и выражали в относительных единицах. Ход измерения: в кювету с 0,1 мл раствора 1 mM FeSO₄ добавляли 0,05 мл 3%-ного пероксида водорода и начинали регистрацию сигнала люминесценции. Через 40 с после старта реакции в кювету добавляли 10 мкл дистиллированной воды (реакция Фентона) или 10 мкл водного экстракта и после добавления продолжали измерять кинетику хемилюминесценции в течение 70 с.

Статистический анализ. Статистический анализ проводили с использованием демоверсии программы GraphPad Prism v. 8.1 (GraphPad Software Inc., США). Полученные результаты в тексте представлены как медиана [нижняя квартиль; верхняя квартиль]. Достоверность различий между группами, оценивали при помощи теста Краскала–Уоллиса с последующим апостериорным тестом Данна ($p < 0,05$); для оценки достоверности различий между группами при измерении кинетики изменения интенсивности хемилюминесценции, индуцированной реакцией Фентона, после добавления водных экстрактов ТКМ, оценивали при помощи теста Фридмана с последующим апостериорным тестом Данна ($p < 0,05$). Оценку корреляций проводили с помощью коэффициента корреляции Спирмена ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В работе использовались водные экстракты сухих препаратов исследуемых растений, это было обусловлено тем, что в ТКМ эти средства традиционно используют в виде лечебных настоев и отваров, что позволило оценивать антиоксидантную активность растительного сырья в условиях, сходных с условиями их использования в виде лекарственных препаратов.

В экстрактах растений и грибов антиоксидантами в основном являются различные фе-

нольные соединения. Суммарное содержание фенольных соединений в водных экстрактах растений ТКМ сильно различалось, в пределах от 131,56 до 1258,52 мкг хлорогеновой кислоты/мл образца (рис. 1А). У *E. ulmoides* было самое высокое содержание фенолов (1259,0 [1248,0; 1269,0] мкг/мл), за ним следовал *C. officinalis* (948,2 [933,3; 963,0] мкг/мл). Среди отобранных образцов *G. lucidum* и *D. officinale* имели самое низкое содержание фенольных соединений (132,2 [128,5; 134,3] мкг/мл и 266,7 [260,7; 280,0] мкг/мл соответственно).

На рис. 1Б показано, что общая антиоксидантная активность образцов увеличивается в следующем порядке: *G. elata* < *D. officinale* < *A. membranaceus* < *G. lucidum* < *C. pilosula* < *P. quinquefolius* < *C. officinalis* < *C. deserticola* < *E. ulmoides*.

Водные экстракты *E. ulmoides* показывают самое высокое значение общей антиоксидантной активности (6353,0 [5953,0; 6471,0] мкмоль Fe^{2+} /л). Образцы *C. deserticola* и *C. officinalis* также показали значительную антиоксидантную активность (4113,0 [3859,0; 4132,0] и 2946,0 [2936,0; 3548,0] мкмоль Fe^{2+} /л). Значения общей антиоксидантной активности у образцов *G. elata*

и *D. officinale* были самыми низкими (88,2 [78,8; 117,6] и 195,3 [176,5; 221,2] мкмоль Fe^{2+} /л соответственно). Образцы *P. quinquefolius*, *C. pilosula*, *G. lucidum*, *A. membranaceus* слабо отличались друг от друга по своей антиоксидантной активности.

Проведенный регрессионный анализ обнаружил корреляцию между суммарным содержанием фенольных соединений в образце и общей антиоксидантной активностью, значение коэффициента Спирмена (r) составляет 0,67 ($p=0,039$). Этот результат согласуется с результатами предыдущих исследований, согласно которым фенольные соединения во многом определяют антиоксидантные свойства лекарственных растений ТКМ [7]. Фенольные соединения состоят из одного или нескольких ароматических колец, содержащих одну или несколько гидроксильных групп. Гидроксильные группы могут гасить свободные радикалы путем образования резонансно-стабилизированных феноксильных радикалов [12].

Для оценки влияния исследуемых экстрактов на процессы перекисного окисления липидов изучили их способность предотвращать окислительную деградацию липидов в плазме крови при реакции Фентона. На рис. 2А показано, что часовая инкубация плазмы крови при 37 °С с перок-

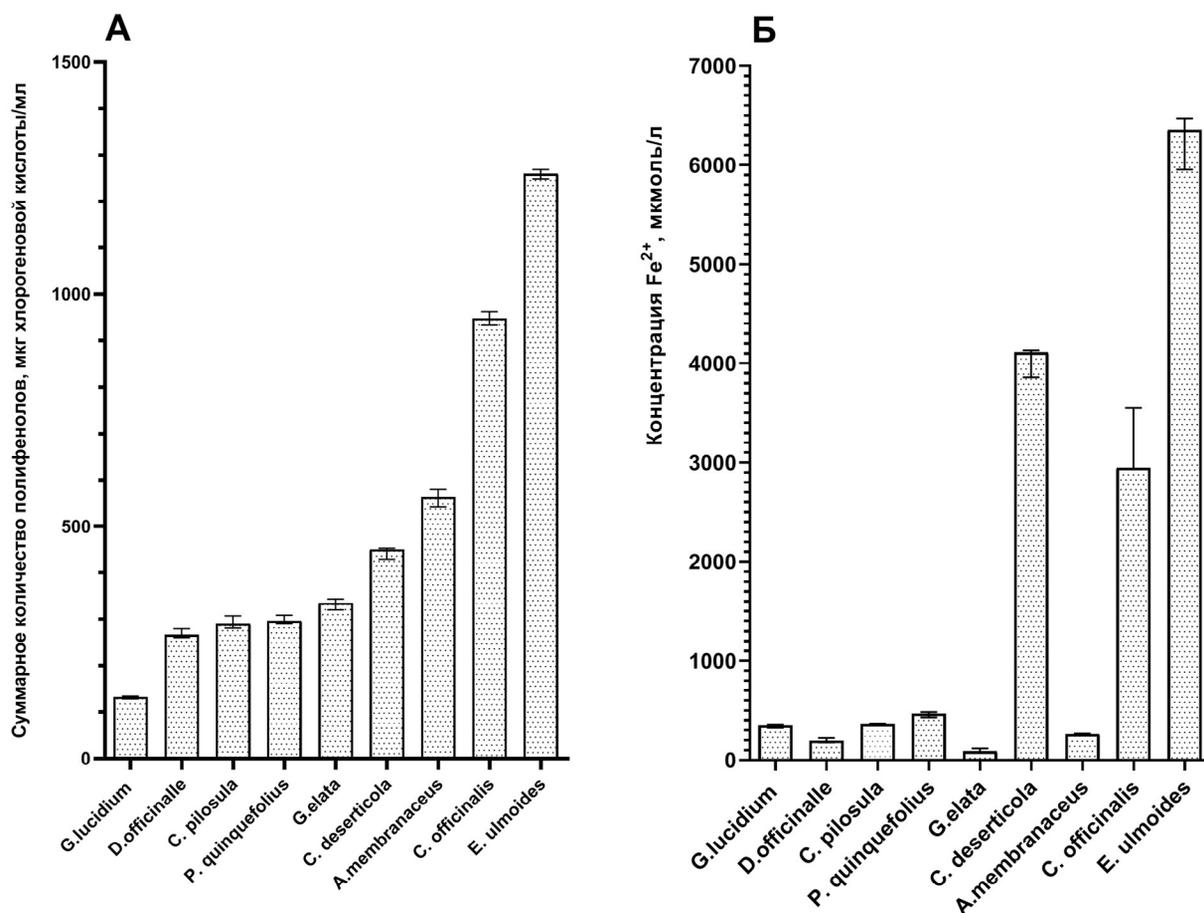


Рис. 1. Оценка суммарного количества полифенолов и общей антиоксидантной активности в водных экстрактах средств традиционной китайской медицины. А – суммарное количество полифенолов в водных экстрактах средств ТКМ; Б – общая антиоксидантная активность в водных экстрактах средств ТКМ.

сидом водорода и раствором FeSO_4 (в конечной концентрации 7,3 мМ и 8,3 мкМ соответственно) в 2,5 раза увеличивает количество ТБК-активных продуктов по сравнению с образцами, которые инкубировались без перекиси и раствора FeSO_4 (контроль 1), и образцами, в которых ТБК-активные продукты измеряли сразу после добавления в плазму перекиси водорода и раствора FeSO_4 (контроль 2) без инкубации.

На рис. 2Б показано, что добавление в инкубационную среду экстрактов *E. ulmoides*, *C. deserticola* и *P. quinquefolius* ингибирует накопле-

ние ТБК-активных продуктов. Добавление других исследуемых водных экстрактов растений не приводило к значимому эффекту.

На данный момент не существует методов, которые давали бы полную информацию о состоянии и взаимодействиях сложных систем, в которых образуются и вступают в реакции антиоксиданты. В связи с этим в данной работе дополнительно оценили общую антиоксидантную активность по хемилюминесценции, индуцированной реакцией Фентона. На рис. 3А показано, что после добавления в кювету с 1 мМ FeSO_4

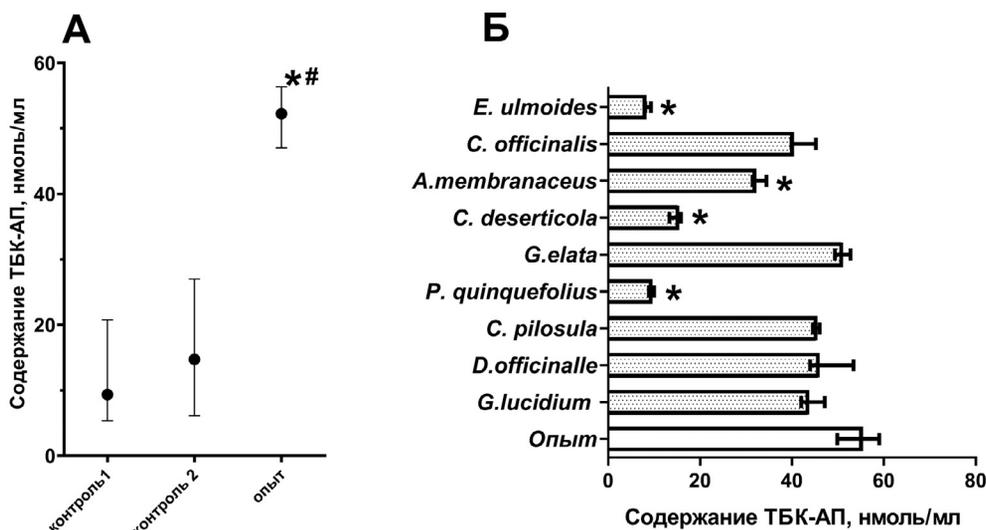


Рис. 2. Оценка антиоксидантной активности водных экстрактов средств традиционной китайской медицины по их способности ингибировать накопление ТБК-активных продуктов в плазме крови, индуцированное реакцией Фентона. **А** – накопление ТБК-активных продуктов через час после запуска реакции Фентона (опыт), в контроле 1 реакцию не запускали, в контроле 2 ТБК-активные продукты измеряли сразу после запуска реакции; **Б** – накопление ТБК-активных продуктов в плазме крови, индуцированное реакцией Фентона, без (опыт) и после добавления экстрактов средств ТКМ; Астериски (*#) – достоверные различия между группами (для А: * – контроль 1 и опыт, # – контроль 2 и опыт; для Б – опыт и с добавлением экстрактов соответственно), различия оценивали используя тест Краскела–Уоллеса с последующим апостериорным тестом Данна ($p < 0,05$).

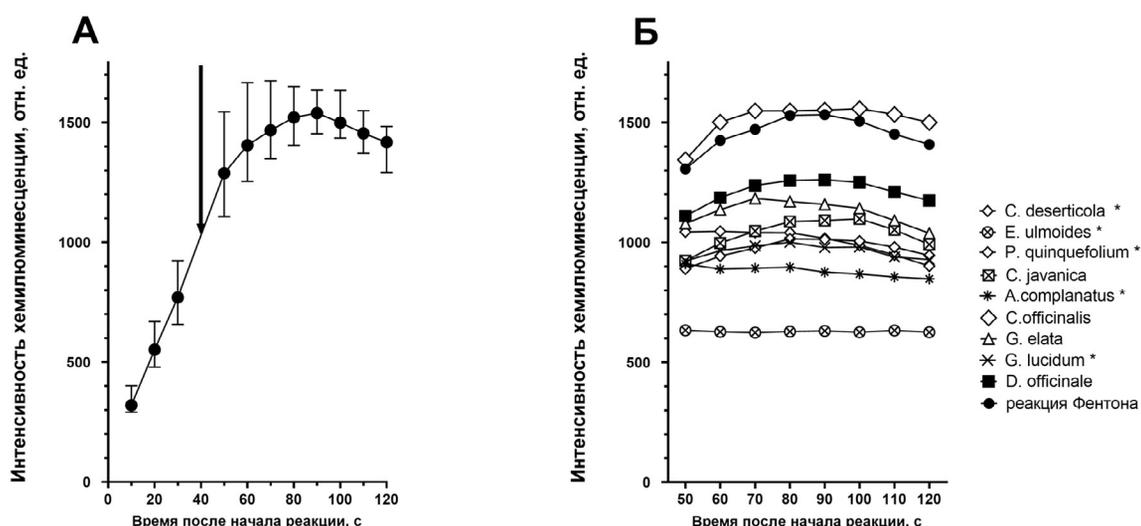


Рис. 3. Оценка антиоксидантной способности водных экстрактов средств традиционной китайской медицины по хемилюминесценции, индуцированной реакцией Фентона. Данные представлены как медиана + интерквартильный размах (А) и медиана (Б). **А** – кинетика изменения интенсивности хемилюминесценции, индуцированной реакцией Фентона, стрелкой обозначено время внесения воды или экстрактов средств ТКМ; **Б** – кинетика изменения интенсивности хемилюминесценции, индуцированной реакцией Фентона, после добавления водных экстрактов средств ТКМ. Астериски (*) – достоверные различия между группами, различия оценивали, используя тест Фридмана с последующим апостериорным тестом Данна ($p < 0,05$).

(рН 2) раствора 3%-ного пероксида водорода возможно регистрировать сигнал хемилюминесценции. Спектральный диапазон чувствительности фотоэлектронного умножителя составляет 400–700 нм, а в этой области из возможных продуктов, образующихся при инициации реакции Фентона, может высвечиваться только димер синглетного кислорода ($\lambda = 480, 535$ и 580 нм) [13].

Установлено, что водные экстракты 8 образцов, за исключением *C. officinalis*, в различной степени вызывают эффект ингибирования реакции Фентона. Интенсивность хемилюминесценции после добавления экстрактов *G. lucidum*, *E. ulmoides*, *A. membranaceus*, *P. quinquefolius* и *C. pilosula* значительно отличалась от интенсивности хемилюминесценции при реакции Фентона (рис. 3Б). Эти эффекты могут быть связаны с тем, что антиоксиданты, содержащиеся в экстрактах, могут выступать и как тушители свободных радикалов, и как хелаторы ионов двухвалентного железа.

Таким образом, определено суммарное количество фенольных соединений и изучены антиоксидантные свойства 9 экстрактов ТКМ, изучены

их общая антиоксидантная активность, а также способность ингибировать процесс перекисного окисления липидов и хемилюминесценции, индуцированных реакцией Фентона. При сравнении их антиоксидантной активности наиболее перспективным источником антиоксидантов проявил себя водный экстракт *E. ulmoides*. Об антиоксидантных свойствах коры *E. ulmoides* известно из литературных данных, нами же показано, что и экстракты листьев этого растения могут быть богатым источником антиоксидантов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Инновационного комитета науки и технологии города Шэнчжень, КНР (грант № 20200828172651001), а также при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология» и в рамках государственного задания МГУ (проект № 121032500076-1).

Работа проведена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V., Squadrito F., Altavilla D., Bitto A. Oxidative stress: Harms and benefits for human health // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017. Vol. 2017: 8416763.
- Fraga C.G., Croft K.D., Kennedy D.O., Tomás-Barberán F.A. The effects of polyphenols and other bioactives on human health // *Food Funct.* 2019. Vol. 10. N 2. P. 514–528.
- Kushi L.H., Folsom A.R., Prineas R.J., Mink P.J., Wu Y., Bostick R.M. Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women // *N. Engl. J. Med.* 1996. Vol. 334. N 18 P. 1156–1162.
- Park H.A., Ellis A.C. Dietary antioxidants and Parkinson's disease // *Antioxidants (Basel, Switzerland).* 2020. Vol. 9. N 7: 570.
- Scalbert A., Manach C., Morand C., Révész C., Jiménez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2005. Vol. 45 N 4. P. 287–306.
- Zheng W., Wang S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs // *J. Agric. Food Chem.* 2001. Vol. 49. N 11. P. 5165–5170.
- He F., Chen J., Dong K., Leng Y., Xu J., Hu P., Yao Y., Xiong J., Pei X. Multi-technical analysis on the antioxidative capacity and total phenol contents of 94 traditional Chinese dietary medicinal herbs // *Food Sci. Nutr.* 2018. Vol. 6. N 6. P. 1358–1369.
- Garjani A., Tila D., Hamedeyazdan S., Vaez H., Rameshrad M., Pashaii M., Fathiazad F. An investigation on cardioprotective potential of *Marrubium vulgare* aqueous fraction against ischaemia-reperfusion injury in isolated rat heart // *Folia Morphol. (Warsz).* 2017. Vol. 76. N 3. P. 361–371.
- Pankratova M.S., Baizhumanov A.A., Yusipovich A.I., Faassen M., Shiryayeva T.Y., Peterkova V.A., Kovalenko S.S., Kazakova T.A., Maksimov G.V. Imbalance in the blood antioxidant system in growth hormone-deficient children before and after 1 year of recombinant growth hormone therapy // *PeerJ.* 2015: e1055
- Agil A., Fuller C.J., Jialal I. Susceptibility of plasma to ferrous iron/hydrogen peroxide-mediated oxidation: demonstration of a possible Fenton reaction // *Clin. Chem.* 1995. Vol. 41. N 2. P. 220–225
- Матюлько И.С., Байжуманов А.А., Хиразова Е.Э., Маслова М.В. Влияние различных режимов пищевой депривации на систему антиоксидантной защиты крови и поведенческую активность крыс // *Журн. мед.-биол. исслед.* 2018. Т. 6. № 3. С. 254–261.
- Ramkisson J.S., Mahomoodally M.F., Ahmed N., Subratty A.H. Relationship between total phenolic content, antioxidant potential, and antiglycation abilities of common culinary herbs and spices // *J. Med. Food.* 2012. Vol. 15. N 12. P. 1116–1123.
- Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // *Усп. биол. химии.* 2009. Т. 49. № 7. С. 341–388.

Поступила в редакцию 03.09.2021

После доработки 30.11.2021

Принята в печать 20.12.2021

RESEARCH ARTICLE

Antioxidant activity of certain aquatic extracts used in traditional Chinese medicine

A.A. Bayzhumanov^{1,*} , L. Mai², A.I. Yusipovich¹ , G.V. Maksimov¹

¹Department of Biophysics, School of Biology, Lomonosov Moscow State University,
1–12 Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia;

²School of Biology, Shenzhen MSU–BIT University,
Ruyi Rd. 299, Longgang district, 518172, Shenzhen, Guangdong province, China

*e-mail: adilbayzhumanov@biophys.msu.ru

In 2020, the Ministry of Health of China added *Dendrobium officinale*, *Ganoderma lucidum*, *Gastrodia elata*, *Cornus officinalis*, *Eucommiae ulmoides*, *Cistanche deserticola*, *Astragalus membranaceus*, *Panax quinquefolium*, *Codonopsis pilosula* to the list of approved medicinal plant raw materials. It was found that aqueous extracts of *E. ulmoides*, *C. deserticola* and *C. officinalis* have the overall values of the total antioxidant activity; and *G. elata* and *D. officinale* extracts were the least efficient among all tested plants. The performed regression analysis showed a correlation between the total content of phenolic compounds in the extracts and the total antioxidant activity ($r=0.67$, $p=0.039$). In all used test systems, *E. ulmoides* extract had the most effective antioxidant properties.

Keywords: *traditional Chinese medicine, water extracts, antioxidant activity, phenolic compounds, oxidative stress, reactive oxygen species, free radicals*

Funding: The research was funded by Shenzhen Science and Technology Innovation Committee (People's Republic of China), project number 20200828172651001; also, this study was performed under the state assignment of Moscow State University, project number 121032500076-1, by Russian the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow State University “Molecular Technologies of the Living Systems and Synthetic Biology”.

Сведения об авторах

Байжуманов Адиль Ануарович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-35-03; e-mail: adilbayzhumanov@biophys.msu.ru

Май Лиша – аспирант биологического факультета Университета МГУ–ППИ в Шэньчжэне. Тел.: (0755) 8989 2372; e-mail: mailisha18@163.com

Юсипович Александр Иванович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-19-66; e-mail: yusipovich@biophys.msu.ru

Максимов Георгий Владимирович – докт. биол. наук, проф. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-19-66; e-mail: gmaksimov@mail.ru

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 615.015.2

Влияние ингибиторов циклооксигеназы эторикоксиба и диклофенака натрия, а также их комбинаций с мексидолом на артериальное давление и гематологические показатели у крыс**А.Г. Васильчук , Е.А. Иванова* , А.И. Матюшкин ,
С.В. Алексеева , К.С. Качалов , Т.А. Воронина ***Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова,
Россия, 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8***e-mail: iwanowaea@yandex.ru*

Изучено влияние курсового (2 и 3 нед., ежедневно, перорально) введения неселективного ингибитора циклооксигеназы диклофенака натрия (1 и 5 мг/кг) и селективного ингибитора циклооксигеназы-2 эторикоксиба (1 и 10 мг/кг), мексидола (сукцината 2-этил-6-метил-3-оксипиридина, 25 мг/кг) и комбинаций этих нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) в дозе 1 мг/кг с мексидолом на артериальное давление, гематологические показатели и массу тела крыс. Установлено, что повышение давления у крыс наблюдается через 3 нед. введения НПВС: эторикоксиб в обеих дозах повышает и систолическое, и диастолическое давление, а диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг влияет только на диастолическое давление. Мексидол предупреждает повышение давления при введении в комбинации с эторикоксибом. Изменение гематологических показателей зафиксировано через 2 нед. введения НПВС в максимальных дозах, что выражается в увеличении содержания отдельных групп лейкоцитов. Кроме того, при введении диклофенака натрия зарегистрированы повышенное содержание тромбоцитов и железодефицитная анемия, которая является признаком НПВС-ассоциированной энтеропатии. Показано, что оба НПВС негативно влияют на динамику прироста массы тела крыс, причем более выраженное действие оказывает диклофенак натрия. Сочетание диклофенака натрия и эторикоксиба с мексидолом не усиливает негативного действия НПВС на гематологические показатели и прирост массы тела крыс.

Ключевые слова: *диклофенак натрия, эторикоксиб, мексидол, артериальное давление, гематологические показатели, крысы*

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются наиболее частой причиной смерти во всем мире (около 31% смертей) [1], и в большинстве случаев пациенты с ССЗ вынуждены получать фармакотерапию пожизненно. Однако эти пациенты нередко страдают и сопутствующими заболеваниями, принимая лекарственные средства для купирования их симптомов, что может негативно влиять на фармакотерапию ССЗ [2]. В частности, симптомами сопутствующих заболеваний могут быть боль и воспаление, для устранения которых назначают препараты одной из самых распространенных фармакотерапевтических групп – нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Результаты клинических исследований свидетельствуют о том, что курсовой прием НПВС увеличивает риск смерти пациентов с перенесенным инфарктом миокарда [3].

Основной механизм действия НПВС – ингибирование фермента метаболизма арахидоновой кислоты циклооксигеназы (ЦОГ), за счет чего снижается интенсивность происходящего при воспалении образования простагландинов (ПГ).

Однако ПГ, наряду с участием в развитии воспаления и боли, регулируют разнообразные физиологические функции. Так, ПГ E_2 и I_2 обеспечивают цитопротекцию, и результатом ингибирования ЦОГ в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), а именно ее изоформы – ЦОГ-1, и, соответственно, подавления образования ПГ E_2 является такой класс-специфический побочный эффект НПВС как язвенно-эрозивное действие. Оно может проявляться осложнениями как со стороны верхних отделов ЖКТ, такими как язва желудка и двенадцатиперстной кишки, так и со стороны тонкого кишечника – НПВС-ассоциированной энтеропатией. Эти осложнения ЖКТ могут сопровождаться кровопотерей, вызывающей железодефицитную анемию [4]. Кроме анемии НПВС вызывают такие гематологические осложнения, как нейтропению и агранулоцитоз [5].

Образующийся в основном под действием ЦОГ-2 ПГ I_2 является преобладающим ПГ в эндотелии сосудов; он ингибирует агрегацию тромбоцитов, вызывает расширение сосудов и предотвра-

щает пролиферацию гладкомышечных клеток в них. *In vitro* показано, что эффекты ПГ I₂ противоположны эффектам тромбоксана A₂, за продукцию которого отвечает преимущественно ЦОГ-1 [6]. Несмотря на то, что риск тромбоэмболических осложнений при приеме НПВС в основном связывают с ингибированием ЦОГ-2 [7], как селективные ингибиторы ЦОГ-2, так и неселективные ингибиторы ЦОГ снижают уровень ПГ в почках, что приводит к нарушению почечной гемодинамики [8]. Влиянием на функцию почек объясняют вызываемое терапией этими препаратами повышение артериального давления (АД). В мультицентровом двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом клиническом исследовании было показано, что селективный ингибитор ЦОГ-2 эторикоксиб при курсовом приеме (90 мг в сутки, 15 сут) у пациентов в возрасте от 60 до 85 лет повышает и систолическое, и диастолическое давление, а неселективный ингибитор ЦОГ напроксен (500 мг два раза в сутки, 15 сут) – только диастолическое давление. Повышение АД на фоне курса НПВС авторы этого исследования связывают со снижением экскреции натрия с мочой, наиболее выраженном при приеме эторикоксиба. Кроме того, и эторикоксиб, и напроксен уменьшают экскрецию метаболита ПГ I₂ (ПГ, повышающего секрецию калия в почках) с мочой. Это подтверждает данные о том, что образование ПГ I₂ в организме осуществляется не только за счет ЦОГ-2, но и за счет ЦОГ-1 [9].

Риск возникновения побочных эффектов при приеме НПВС, особенно у пациентов, страдающих хроническими заболеваниями, в частности ССЗ, определяет интерес к разработке новых схем фармакотерапии этими препаратами с целью повышения ее безопасности. Одним из возможных вариантов может быть комбинирование НПВС с антиоксидантами. Экспериментально установлено, что антиоксидантные средства усиливают антиэкссудативное действие НПВС [10, 11], что предполагает возможность снижения доз НПВС при их применении в комбинации с антиоксидантами, а следовательно, и риска возникновения их нежелательных побочных эффектов. Одним из антиоксидантных средств, используемых в комбинации с НПВС, может рассматриваться разработанный в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (Москва, Россия) мексидол (сукцинат этилметилгидроксипиридина), обладающий антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами, улучшающий микроциркуляцию и реологические свойства крови – в частности, стабилизирующий мембранные структуры эритроцитов и тромбоцитов при гемолизе [12]. В экспериментах на животных показано, что мексидол при однократном введении в дозе 25 мг/кг, в которой препарат не проявляет основных фармакологических эффектов, усиливает противовоспалительный эффект

диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг до уровня, регистрируемого при введении этих НПВС в дозе 10 мг/кг [10], что не сопровождается отклонениями поведения животных, подобными зарегистрированным при введении диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 10 мг/кг [13].

В продолжение изучения эффектов комбинаций НПВС с мексидолом целью настоящего исследования является оценка влияния селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба и неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия, а также их комбинаций с мексидолом на АД и гематологические показатели крыс при курсовом пероральном введении препаратов. Кроме того, в проводимом исследовании оценивали влияние препаратов на массу тела животных как параметр, характеризующий их общее состояние, на которое НПВС могут оказывать негативное влияние (преимущественно за счет ulcerогенного действия при введении неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия и за счет влияния на системную гемодинамику при введении селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба).

Материалы и методы

Животные. В работе использовали белых аутбредных крыс-самцов массой 240–280 г на начало эксперимента, полученных из питомника лабораторных животных филиала «Столбовая» Научного центра биомедицинских технологий ФМБА (Московская область, Россия). Организацию и проведение работ осуществляли в соответствии с ГОСТ 33216–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (протокол № 01 от 28.01.2021 г). Каждая группа животных включала на начало исследования 10 крыс.

Исследуемые препараты. Диклофенак натрия (Novartis Pharma Stein AG, Швейцария) применяли в дозах 1 мг/кг и 5 мг/кг; эторикоксиб (Merck Sharp & Dohme B.V., Нидерланды) – в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг; мексидол (ООО «НПК «ФАРМАСОФТ», Россия) – в дозе 25 мг/кг; использовали комбинации диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг и мексидола в дозе 25 мг/кг, эторикоксиба в дозе 1 мг/кг и мексидола в дозе 25 мг/кг; растворителем служил физиологический раствор (ОАО НПК «ЭСКОМ», Россия). Основанием для выбора доз НПВС и мексидола при применении

в комбинации явились результаты проведенных ранее экспериментов, свидетельствующие о том, что мексидол в дозе 25 мг/кг усиливает противовоспалительный эффект диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг до уровня, регистрируемого при их введении в дозе 10 мг/кг [10]. Для сравнения эффектов этих комбинаций с действием НПВС *per se* в эксперимент были добавлены группы животных, которым вводили НПВС в используемой в комбинациях дозе — 1 мг/кг, а также в увеличенной дозе для демонстрации дозозависимости изучаемых эффектов: 10 мг/кг — для эторикоксиба и 5 мг/кг — для диклофенака натрия. Изучаемые НПВС, мексидол, комбинации НПВС с мексидолом и физиологический раствор (контрольной группе) вводили перорально (ежедневно) на протяжении 21 сут.

Регистрация АД. АД у неанестезированных крыс измеряли неинвазивно с помощью окклюзионной хвостовой манжеты, используя систему Kent Scientific CODA Non-Invasive Blood Pressure System (Kent Scientific Corporation, США), работа которой основана на методе объемной регистрации давления. Адаптация животных перед тестированием длилась 15 мин, в течение которых иммобилизованные в индивидуальных акриловых фиксаторах крысы находились на нагревательной площадке (с температурой 36 °С), накрытые темной тканью. Во время тестирования для каждого животного 3 раза регистрировали показатели систолического и диастолического давления, вычисляя затем среднее значение. Систолическое и диастолическое давление измеряли до введения препаратов (фоновые значения), на 14 и 21 сут их введения.

Регистрация гематологических показателей. Образцы крови животных получали, ампутировав кончик хвоста, удаляя из пробы первые капли для предотвращения загрязнения и возможной ошибки при измерении. На гематологическом анали-

заторе Mindray BC-2800Vet (Mindray, Китай) регистрировали следующие гематологические показатели: абсолютное содержание лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов, эритроцитов и тромбоцитов; гемоглобин. Гематологические показатели регистрировали до введения препаратов (фоновые значения) и на 14 сут после их введения.

Регистрация массы тела крыс. На протяжении эксперимента регистрировали массу тела крыс, вычисляя ее прирост на 6, 10, 15, 19 и 22 сут как разницу зафиксированной в эти дни массы тела со значением в 1 сут введения препаратов перед их введением (фоновые значения).

Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли с помощью свободной программной среды вычислений R версии 4.0.4. Нормальность распределения данных проверяли критерием Шапиро-Уилка с последующей оценкой межгруппового равенства дисперсий критерием Бартлетта. Так как распределение в выборках отличалось от нормального, использовали критерий Краскела-Уоллиса с последующим парным сравнением выборок с помощью апостериорного критерия Данна. Результаты представляли в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3). Различия между группами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Показатели АД у крыс, зарегистрированные до начала курсового введения препаратов, находились в пределах 126–134 мм рт. ст. для систолического давления и 86–104 мм рт. ст. для диастолического давления. Через 2 нед. показатели АД в контрольной группе (курсовое введение физиологического раствора) сохранились в пределах тех же величин и составили 132,7 мм рт. ст. для систолического АД и 94,67 мм рт. ст. — для диастолического АД (табл. 1).

Таблица 1

Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинаций с мексидолом (курсовое введение) на артериальное давление (мм рт. ст.) крыс, результаты представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3)

Группа	14 сут введения препаратов		21 сут введения препаратов	
	Систолическое давление	Диастолическое давление	Систолическое давление	Диастолическое давление
Контроль	132,7 (125,3–141,8)	94,67 (82,50–110,25)	130,3 (126,3–135,5)	90,5 (81,42–96,83)
Мексидол 25мг/кг	135,2 (129,2–138,6)	97,58 (88,08–99,75)	133,0 (125,0–140,0)	94,33 (79,50–105,00)
Диклофенак 1 мг/кг	139,3 (126,0–144,0)	99,00 (97,00–106,58)	151,0 (133,0–164,3)	111,33 (99,50–117,42)
Диклофенак 5 мг/кг	134,0 (123,5–143,5)	88,17 (85,00–96,08)	141,9 (134,8–154,1)	113,3 (106,7–130,7)*
Диклофенак 1мг/кг+ Мексидол 25 мг/кг	138,8 (120,1–144,7)	94,67 (86,00–103,88)	126,7 (125,3–141,5)	101,00 (89,33–105,67)
Эторикоксиб 1 мг/кг	153,5 (131,9–169,9)	109,0 (95,58–124,88)	155,3 (143,2–165,5)*#	110,00 (107,8–114,7)*#
Эторикоксиб 10 мг/кг	146,7 (135,7–150,0)	102,33 (89,33–109,17)	154,0 (148,1–166,8)*#	116 (99,67–130,67)*#
Эторикоксиб 1мг/кг + Мексидол 25 мг/кг	131,3 (129,0–146,0)	99,67 (90,58–104,92)	133,3 (119,7–140,3)	93,83 (89,17–96,42)

Примечания: * — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Данна;

— $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей комбинацией НПВС и мексидола, критерий Данна;

Каждая группа животных на начало исследования включала 10 крыс.

Диклофенак натрия в дозах 1 и 5 мг/кг (перорально) после двухнедельного введения не изменял, по сравнению с контролем, уровни АД. Вместе с тем, при трехнедельном ведении в дозе 5 мг/кг диклофенак натрия значимо увеличивал диастолическое давление на 25,2% по сравнению с показателем контрольной группы (табл. 1).

Эторикоксиб в дозах 1 и 10 мг/кг (перорально) через 2 нед. введения вызывал у животных некоторое повышение АД по сравнению с контролем, но эти изменения были статистически незначимыми (табл. 1). Через 3 нед. введения эторикоксиба в дозах 1 и 10 мг/кг (перорально) у крыс отмечалось независимое от дозы статистически значимое повышение АД. Так, эторикоксиб в дозе 1 мг/кг по сравнению с контролем повышал диастолическое давление на 21,5% и систолическое – на 19,2%, а в дозе 10 мг/кг – на 28,2% и 18,2% соответственно (табл. 1).

Полученные экспериментальные данные о более выраженном влиянии на АД эторикоксиба по сравнению с диклофенаком натрия согласуются с результатами клинических исследований. Так, в программе клинических исследований MEDAL (многонациональная программа оценки долгосрочного назначения эторикоксиба и диклофенака при артрите) установлено, что частота возникновения вазоренальных побочных эффектов, в том числе и повышение АД, была выше при назначении пациентам эторикоксиба, чем при применении диклофенака натрия [14].

Мексидол в дозе 25 мг/кг (перорально, ежедневно, 2 и 3 нед.) значимого влияния на АД у крыс не оказывал (табл. 1). Однако его применение совместно с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг в течение 3 нед. предупреждало повышение АД у крыс, зарегистрированное при курсовом введении только одного селективного ингибитора ЦОГ-2 (табл. 1). Известно, что назначение мексидола совместно с бисопрололом способствует более эффективной коррекции АД, что приводит к уменьшению дозы бисопролола у пациентов [15].

ПГ могут оказывать влияние на форменные элементы крови. Так, *in vitro* было показано, что ПГ E2 в концентрации 0,1 $\mu\text{моль/л}$ (в течение 4 сут) подавляет жизнеспособность лейкоцитов, определяемую по числу живых клеток после инкубации в присутствии этого ПГ [16]. Кроме того, согласно клиническим данным проявлением НПВС-ассоциированной энтеропатии (вследствие снижения образования «цитопротекторных» ПГ), которая в большинстве случаев протекает бессимптомно [15], может быть железодефицитная анемия вследствие вызванной повреждением слизистой оболочки тонкого кишечника кровопотери [17–19]. В клиническом эндоскопическом исследовании у 71% пациентов с остеоартрозом, ревматоидным артритом или неспецифическим артритом, принимавших НПВС на протяжении 3 мес., выявлено повреждение слизистой оболочки тонкого кишечника [20].

Значения гематологических показателей, зарегистрированные до начала введения изучаемых

Таблица 2

Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинаций с мексидолом на гематологические показатели (14 сут введения препаратов), результаты представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3)

Группа	Лейкоциты $\times 10^9/\text{л}$	Лимфоциты $\times 10^9/\text{л}$	Моноциты $\times 10^9/\text{л}$	Гранулоциты $\times 10^9/\text{л}$	Эритроциты $\times 10^{12}/\text{л}$	Гемоглобин, г/л	Тромбоциты $\times 10^9/\text{л}$
Контроль	12,15 (11,10–13,40)	8,30 (7,55–9,28)	0,3 (0,23–0,4)	3,4 (2,95–3,8)	6,96 (6,6–7,29)	130,5 (124,5–136,5)	535,5 (499–753)
Мексидол 25мг/кг	13,0 (9,4–15,35)	7,60 (6,53–8,575)	0,35 (0,2–0,48)	4,9 (2,5–5,1)	6,62 (6,28–6,803)	124,5 (118,8–128,2)	606 (595–670)
Диклофенак 1 мг/кг	11,7 (10,72–13,5)	7,4 (6,43–8,78)	0,3 (0,3–0,4)	4,0 (3,63–4,5)	6,64 (6,54–6,88)	120 (118,0–127,8)	674,5 (580,2–746,8)
Диклофенак 5 мг/кг	21,10 (16,48–22,95)*	10,4 (8,15–11,11)	0,6 (0,45–0,7)*	8,82 (6,9–12,15)*#	5,07 (4,47–6,2)*#	96 (80,5–109,0)*#	905 (801–994)*#
Диклофенак 1мг/кг+ Мексидол 25 мг/кг	14,45 (12,45–15,78)	8,65 (7,18–10,9)	0,45 (0,3–0,53)	4,55 (4,3–5,28)	6,65 (6,47–7,4)	122,5 (117,5–132,8)	661 (644–713,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг	15,05 (11,57–16,85)	8,9 (6,63–10,45)	0,4 (0,3–0,5)	4,9 (4,08–6,0)	6,66 (6,2–6,87)	120,0 (118–125,8)	661 (602,2–686)
Эторикоксиб 10 мг/кг	16,1 (13,0–20,3)	8,2 (7,05–9,6)	0,5 (0,4–0,7)	6,3 (5,9–9,5)*	6,59 (6,46–7,1)	121 (119–123,5)	684 (657–744)
Эторикоксиб 1мг/кг + Мексидол 25 мг/кг	15,35 (11,35–17,35)	8,25 (6,98–9,55)	0,4 (0,3–0,5)	4,75 (3,625–7,425)	6,87 (6,68–7,05)	121,5 (120,2–129,5)	679,5 (661,2–755)

Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Данна;

– $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей комбинацией НПВП и мексидола, критерий Данна;

Каждая группа животных на начало исследования включала 10 крыс.

Таблица 3

Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинаций с мексидолом на прирост массы тела животных, результаты представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3)

Группа	Изменение массы тела крыс относительно их массы в 1 сутки перед введением препаратов, г:				
	6 сут	10 сут	15 сут	19 сут	22 сут
Контроль	41,0 (37,0–49,5)	69,0 (51,5–78,0)	72,0 (66,0–92,0)	78,5 (67,5–94,3)	90,5 (83,0–102,5)
Мексидол 25 мг/кг	37,5 (32,3–42,5)	59,0 (51,5–64,8)	89,5 (86,8–94,0)	91,5 (89,0–95,5)	100,5 (77,0–109,8)
Диклофенак 1 мг/кг	24,0 (20,0–38,0)*	44,0 (36,8–58,8)	73,5 (67,3–94,0)	77,0 (71,0–95,0)	82,0 (66,5–96,8)
Диклофенак 5 мг/кг	-5,0 (-23,0–5,0)*	-2,5 (-44,3–11,0)*	-0,5 (-42,3–30,0)*	-10,0 (58,5–38,5)*	8,0 (-57,0–46,0)*
Диклофенак 1 мг/кг + Мексидол 25 мг/кг	28,5 (25,0–36,8)*	43,00 (34,3–61,5)	73,5 (61,5–82,8)	82,50 (64,3–91,5)	95,0 (72,3–109,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг	24,5 (23,0–32,3)*	44,50 (34,0–56,3)*	70,5 (62,5–93,3)	79,0 (66,3–100,3)	96,5 (85,8–125,0)
Эторикоксиб 10 мг/кг	32,0 (18,5–35,0)*	45,0 (35,0–47,5)*	60,0 (42,0–67,5)*	66,0 (58,0–70,0)	71,0 (62,0–82,0)
Эторикоксиб 1 мг/кг + Мексидол 25 мг/кг	30,0 (23,0–34,0)	48,0 (40,0–52,0)	63,0 (57,0–67,0)	68,0 (64,5–75,3)	77,0 (66,0–83,0)

Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Данна;
Каждая группа животных на начало исследования включала 10 крыс.

препаратов, статистически не различались между собой и были в пределах референсных значений. Двухнедельный курс введения как неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг, так и селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба в дозе 10 мг/кг приводил к изменению показателей общего анализа крови. Диклофенак натрия вызывал значимое увеличение содержания лейкоцитов на 73,7% за счет моноцитов (их количество повышалось на 50%) и гранулоцитов (их количество повышалось на 159,4%). Эторикоксиб повышал уровень наименее чувствительных к цитотоксическим воздействиям лейкоцитов [16] – гранулоцитов – на 85,3%. Мексидол (25 мг/кг) в сочетании с диклофенаком натрия и эторикоксибом не усиливал негативного действия НПВС на гематологические показатели (табл. 2).

Двухнедельное введение диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг приводило к развитию железодефицитной анемии у крыс – значимо снижалось содержание эритроцитов (на 27,2%) и гемоглобина (на 26,4%) – и повышению содержания тромбоцитов (на 69%) (табл. 2), что является проявлением НПВС-ассоциированной энтеропатии. В пользу этого свидетельствует зарегистрированная в эксперименте гибель 4 из 10 крыс только в группе животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг. Вскрытие выведенных из эксперимента по его завершению и погибших крыс выявило видимые язвенные дефекты ЖКТ только у двух животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг. Однако у всех крыс, которым вводили неселективный ингибитор ЦОГ в дозе 5 мг/кг, наблюдались истончение стенок желудка и кишечника, их вздутие, заброс желчи в желудок; остатки пищи в ЖКТ практически отсутствовали, что является симптомами развившегося при введении НПВС воспаления ЖКТ.

У крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг, на протяжении трехнедельного опыта был зарегистрирован наименьший прирост массы тела. При этом в течение первых 19 сут введения препарата разница массы тел крыс относительно значений массы тела перед началом терапии была ниже нуля. При введении диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг прирост массы тела был значимо ниже, чем в контрольной группе, на протяжении первых 6 сут введения (табл. 3). Мексидол при курсовом применении в дозе 25 мг/кг значимого влияния на массу тела крыс не оказывал, а при введении комбинации диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг с мексидолом (25 мг/кг) сниженная динамика прироста массы тела наблюдалась в течение первых 6 сут (табл. 3).

Сниженная динамика набора массы тела была зафиксирована и при курсовом введении эторикоксиба: в дозе 10 мг/кг препарат значимо влиял на набор веса в течение 15 сут применения, а в дозе 1 мг/кг – в течение 10 сут. При применении комбинации эторикоксиба в дозе 1 мг/кг с мексидолом в дозе 25 мг/кг значимого влияния на набор массы тела не наблюдалось (табл. 3).

Таким образом, курсовое (3-недельное, ежедневное, пероральное) введение крысам как неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия (5 мг/кг), так и селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба (1 и 10 мг/кг) приводит к повышению АД, более выраженному при введении эторикоксиба. Наряду с этим, диклофенак натрия при двухнедельном введении способен вызвать энтеропатию у животных. Комбинация эторикоксиба (1 мг/кг) с мексидолом (25 мг/кг) предупреждает повышение АД и благоприятно влияет на набор массы тела крыс. Зарегистрированная способность мексидола предупреждать вызванное введением эторикоксиба повышение АД, скорее всего, объясняется способностью препарата улучшать

микроциркуляцию, реологические свойства крови, а также его метаболитным действием. Следует отметить, что мексидол в дозе 25 мг/кг не изменяет АД у крыс. Ранее было показано, что мексидол в этой дозе усиливает противовоспалительное действие диклофенака натрия и эторикоксиба на моделях экссудативного воспаления у крыс и мышей [10].

Полученные в проведенном исследовании данные свидетельствуют о безопасности использования мексидола (25 мг/кг) в сочетании с ди-

клофенаком натрия (1 мг/кг) и эторикоксибом (1 мг/кг), а также о способности мексидола снижать побочные эффекты эторикоксиба (повышение АД) при комбинации препаратов.

Работа выполнена в рамках Госзадания по теме № 0521-2019-0007. Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными и одобрены локальным этическим комитетом. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Benjamin E.J., Blaha M.J., Chiuve S.E., et al. Heart disease and stroke statistics—2017 update: A report from the American Heart Association // *Circulation*. 2017. Vol. 135. N 10. P. e146–e603.
2. Danelich I.M., Wright S.S., Lose J.M., Tefft B.J., Cicci J.D., Reed B.N. Safety of nonsteroidal antiinflammatory drugs in patients with cardiovascular disease // *Pharmacotherapy*. 2015. Vol. 35. N 5. P. 520–535.
3. Gislason G.H., Jacobsen S., Rasmussen J.N., Rasmussen S., Buch P., Friberg J., Schramm T.K., Abildstrom S.Z., Køber L., Madsen M., Torp-Pedersen C. Risk of death or reinfarction associated with the use of selective cyclooxygenase-2 inhibitors and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs after acute myocardial infarction // *Circulation*. 2006. Vol. 113. N 25. P. 2906–2913.
4. Fortun P.J., Hawkey C.J. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the small intestine // *Curr. Opin. Gastroen.* 2007. Vol. 23. N 2. P. 134–141.
5. Andrés E., Maloel F. Idiosyncratic drug-induced agranulocytosis or acute neutropenia // *Curr. Opin. Hematol.* 2008. Vol. 15. N 1. P. 15–21.
6. FitzGerald G.A. Coxibs and cardiovascular disease // *New Engl. J. Med.* 2004. Vol. 351. N 17. P. 1709–1711.
7. Mukherjee D., Nissen S.E., Topol E.J. Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors // *J. Am. Med. Assoc.* 2001. Vol. 286. N 8. P. 954–959.
8. Lucas G.N.C., Leitão A.C.C., Alencar R.L., Xavier R.M.F., Daher E.D.F., Silva Junior G.B. Pathophysiological aspects of nephropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs // *Braz. J. Nephrol.* 2019. Vol. 41. N 1. P. 124–130.
9. Schwartz J.I., Thach C., Lasseter K.C., Miller J., Hreniuk D., Hilliard D.A., Snyder K.M., Gertz B.J., Gottesdiener K.M. Effects of etoricoxib and comparator nonsteroidal anti-inflammatory drugs on urinary sodium excretion, blood pressure, and other renal function indicators in elderly subjects consuming a controlled sodium diet // *J. Clin. Pharmacol.* 2007. Vol. 47. N 12. P. 1521–1531.
10. Ivanova E.A., Matyushkin A.I., Vasilchuk A.G., Voronina T.A. Ability of mexidol to enhance antiexudative effect of diclofenac sodium and etoricoxib in rats and mice with carrageenan-induced edema // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2021. Vol. 76. N 2. P. 46–51.
11. Хазанов В.А. Фармацевтические композиции на основе нестероидных противовоспалительных средств. Патент на изобретение RU 2191582. Бюлл. № 30. 2002.
12. Воронина Т.А. Мексидол: основные нейропсихотропные эффекты и механизм действия // *Фарматека*. 2009. Т. 180. № 6. С. 28–31.
13. Ivanova E.A., Matyushkin A.I., Vasilchuk A.G., Voronina T.A. Effect of cyclooxygenase inhibitors etoricoxib and diclofenac sodium and their combinations with mexidol on behavior in rats // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2021. Vol. 76. N 3. P. 123–129.
14. Cannon C.P., Curtis S.P., FitzGerald G.A., Krum H., Kaur A., Bolognese J.A., Reicin A.S., Bombardier C., Weinblatt M.E., Heijde D., Erdmann E., Laine L. Cardiovascular outcomes with etoricoxib and diclofenac in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis in the Multinational Etoricoxib and Diclofenac Arthritis Long-term (MEDAL) programme: a randomised comparison // *Lancet*. 2006. Vol. 368. N 9549. P. 1771–1781.
15. Нечаева Г.И., Кореннова О.Ю., Булахова Е.Ю., Козырева В.А., Курочкина С.Д. Использование препарата мексидол для оптимизации лечения артериальной гипертензии у лиц молодого возраста // *Мед. вестн.* 2008. Т. 6. № 433. С. 433–434.
16. Kutyrev I.A., Franke F., Büscher J., Kurtz J., Scharsack J.P. *In vitro* effects of prostaglandin E2 on leucocytes from sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) infected and not infected with the cestode *Schistocephalus solidus* // *Fish Shellfish Immun.* 2014. Vol. 41. N 2. P. 473–481.
17. Park S.C., Chun H.J., Kang C.D., Sul D. Prevention and management of non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced small intestinal injury // *World J. Gastroenterol.* 2011. Vol. 17. N 42. P. 4647–4653.
18. Fortun P.J., Hawkey C.J. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the small intestine // *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2007. Vol. 23. N 2. P. 134–141.
19. Lim Y.J., Yang C.H. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy // *Clin. Endosc.* 2012. Vol. 45. N 2. P. 138–144.
20. Graham D.Y., Opekun A.R., Willingham F.F., Qureshi W.A. Visible small-intestinal mucosal injury in chronic NSAID users // *Clin. Gastroenterol. H.* 2005. Vol. 3. N 1. P. 55–59.

Поступила в редакцию 31.10.2021

После доработки 29.12.2021

Принята в печать 02.02.2022

RESEARCH ARTICLE

Effect of cyclooxygenase inhibitors etoricoxib and diclofenac sodium and their combinations with mexidol on arterial pressure and hematological indices in rats

A.G. Vasilchuk , E.A. Ivanova* , A.I. Matyushkin ,
S.V. Alekseeva , K.S. Kachalov , T.A. Voronina 

Zakusov Institute of Pharmacology, Russia, 125315, Moscow, Baltiyskaya str., 8

*e-mail: iwanowaea@yandex.ru

The effect of course administration (orally, once a day, during 2 and 3 weeks) of the non-selective cyclooxygenase (COX) inhibitor diclofenac sodium (1 and 5 mg/kg) and selective COX-2 inhibitor etoricoxib (1 and 10 mg/kg), 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (mexidol, 25 mg/kg) and combinations of this non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, 1 mg/kg) and mexidol on arterial pressure, hematological indices and body weight of rats was evaluated. Blood pressure increase in rats is observed after three weeks of NSAID administration. Etoricoxib at both doses increases the systolic and diastolic pressure, while diclofenac sodium at a dose of 5 mg/kg affects diastolic pressure only. Mexidol prevents blood pressure increase when administered in combination with etoricoxib. Administration of NSAIDs at maximum doses for two weeks was associated with an increase in certain groups of leukocytes. In addition, diclofenac sodium increased the number of platelets and induced iron deficiency anemia, which is a symptom of NSAID-induced enteropathy. Both NSAIDs negatively affect weight gain in rats, with diclofenac sodium having a more pronounced effect. The combination of diclofenac sodium and etoricoxib with mexidol does not enhance the negative effects of NSAIDs on hematological parameters and weight gain in rats.

Keywords: diclofenac sodium, etoricoxib, mexidol, arterial pressure, hematological indices, rats

Funding: This study was performed under the state assignment of Zakusov Institute of Pharmacology, project number 0521-2019-0007.

Сведения об авторах

Васильчук Анастасия Геннадьевна – мл. науч. сотр. лаборатории психофармакологии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова. Тел.: 8-495-601-24-14; e-mail: jimlev@mail.ru

Иванова Елена Анатольевна – канд. фарм. наук, ст. науч. сотр. лаборатории психофармакологии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова. Тел.: 8-495-601-24-14; e-mail: iwanowaea@yandex.ru

Матюшкин Александр Иванович – канд. биол. наук, мл. науч. сотр. лаборатории психофармакологии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова. Тел.: 8-495-601-24-14; e-mail: matyushkin.alex@gmail.com

Алексеева Светлана Витальевна – ст. науч. сотр. лаборатории лекарственной токсикологии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова. Тел.: 8-495-601-21-89; e-mail: alexeeva.sv@mail.ru

Качалов Кирилл Сергеевич – инженер 1-й категории лаборатории лекарственной токсикологии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова. Тел.: 8-495-601-21-89; e-mail: kkachalov@mail.ru

Воронина Татьяна Александровна – проф., докт. мед. наук, зав. лабораторией психофармакологии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова. Тел.: 8-495-601-24-14; e-mail: voroninata38@gmail.ru

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 577.355

Роль реакций брожения в длительной продукции водорода на свету клетками микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* в условиях дефицита серы**А.А. Волгушева^{1, *} , Е.В. Петрова¹ , Г.П. Кукарских¹ ,
А. Дубини² , Т.К. Антал³ **

¹Кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Córdoba, Edif. Severo Ochoa, Campus de Rabanales, 14071, Córdoba, Spain;

³Лаборатория комплексных экологических исследований, Псковский государственный университет, Россия, 180000, г. Псков, пл. Ленина, д. 2

*e-mail: volg-alena@yandex.ru

В работе исследовано влияние одного из основных ферментов брожения – пируватформиацетилазы – на индуцированное минеральным голоданием фотообразование водорода клетками зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii*. Для этого инкубировали культуры дикого типа (CC-125) и мутанта *pfl1* без пируватформиацетилазной активности на среде без серы на постоянном свете в течение 96 ч и оценивали выделение водорода, а также факторы, влияющие на этот процесс: фотосинтетическую активность, дыхание и содержание крахмала в клетках. Оба штамма характеризовались сходными значениями фотосинтетической активности и содержания крахмала при культивировании на полной среде. В условиях дефицита серы культуры мутанта *pfl1* начинали выделять водород позже по сравнению с диким типом, однако этот процесс продолжался существенно дольше у мутанта. Культуры *pfl1* характеризовались более высокой скоростью накопления и расщепления крахмала на начальных и поздних стадиях инкубации без серы соответственно, а также более высокой фотосинтетической активностью на поздних стадиях голодания. Полученные результаты свидетельствуют о тесной взаимосвязи между процессами фотосинтетического электронного транспорта, гидрогеназной реакцией, метаболизмом углеводов и процессом брожения, указывая на возможность использования методов генетической модификации реакций брожения для повышения выхода фотосинтетического образования водорода в биотехнологии.

Ключевые слова: фотопродукция водорода, серное голодание, брожение, пируватформиацетилаза, гидрогеназа, *Chlamydomonas*

Длительное фотообразование водорода (H_2) является специфической ответной реакцией некоторых зеленых микроводорослей на дефицит таких макроэлементов, как азот, сера, фосфор, магний и др. В основе данного феномена лежит скоординированное взаимодействие между аэробными и анаэробными процессами в клетке, в том числе первичными реакциями фотосинтеза, в ходе которых происходит выделение O_2 и восстановление ферредоксина (Фд) в хлоропласте, анаэробной реакцией окисления Фд и генерации H_2 хлоропластной гидрогеназой, углеводным метаболизмом, включая синтез и распад крахмала, дыханием и реакциями брожения [1, 2]. Ранее нами было показано, что фотообразование H_2 в клетках *Chlamydomonas reinhardtii* является частью комплексного адаптационного механизма, обеспечивающего клеточный гомеостаз путем регуляции клеточного редокс-по-

тенциала, рН и энергетического обеспечения в условиях минерального голодания [3].

Механизмы длительного фотообразования H_2 при минеральном голодании достаточно подробно изучены с точки зрения перспективы использования микроводорослей в биотехнологии для получения наиболее экологически чистого источника энергии. В частности, была изучена роль первичных процессов фотосинтеза и процессов запасаения и распада крахмала в фотообразовании H_2 [4, 5]. В то же время взаимодействие между реакциями брожения и фотообразованием H_2 в голодающих клетках изучено в меньшей степени.

Реакции брожения обеспечивают гомеостаз клеток в анаэробнозе, поддерживая гликолиз за счет утилизации его продукта – пирувата – в условиях низкой активности цикла Кребса и дыхания. Обычно брожение сопровождается генерацией

АТФ и утилизацией избытка восстановителя (НАДН) в клетке. Мультиферментная система брожения активируется в клетках *Ch. reinhardtii* в анаэробных условиях с образованием таких основных конечных метаболитов, как формиат, этанол, ацетат, а также минорных продуктов: лактата, H_2 , CO_2 и др. [6]. Начальный этап превращения пирувата в ацетил-КоА в клетках хламидомонады контролируется двумя основными реакциями, катализируемыми пируватформиатлиазой (PFL1) и пируват:ферредоксин-оксидоредуктазой, протекающими, в том числе, в хлоропласте. В частности, активность фермента PFL1 в клетке хламидомонады наблюдается в митохондриях и хлоропласте [7, 8]. Реакция, катализируемая PFL1 в присутствии КоА, приводит к образованию формиата и ацетил-КоА. Пируват:ферредоксин-оксидоредуктаза катализирует реакцию окисления пирувата в присутствии КоА до ацетил-КоА и CO_2 с образованием восстановленного Фд, который может донировать электрон на гидрогеназу с последующей генерацией молекулярного H_2 . Высокоэнергетическая молекула ацетил-КоА используется в качестве субстрата в целом ряде метаболических процессов, в том числе последующих реакциях брожения, при синтезе липидов, в цикле Кребса и др.

Ранее с целью исследования процесса брожения у микроводорослей были сконструированы мутанты *Ch. reinhardtii* со сниженной или отсутствующей активностью PFL1 [9–11] и показано, что мутация приводит к уменьшению выхода формиата и этанола как основных продуктов брожения и увеличению продукции ряда минорных метаболитов, включая лактат и CO_2 , как в темноте так и на свету при серном голодании. В клетках мутантов наблюдался повышенный выход H_2 в темноте, что свидетельствует о конкурентном преимуществе реакции, катализируемой пируват:ферредоксин-оксидоредуктазой, по сравнению с реакцией, катализируемой PFL1 в данных экспериментальных условиях. При этом экспрессия гидрогеназы HYD1 была сниженной в клетках мутантов.

В данной работе впервые исследовали влияние реакций брожения на длительную фотопродукцию H_2 и на процессы, от которых она зависит, в клетках *Ch. reinhardtii*. Для этого проводили измерения и сравнительный анализ содержания H_2 в фотореакторе, крахмала в клетках, фотосинтетической активности и скорости дыхания в культурах мутанта *pfl1-1*, лишённого активности фермента PFL1, и соответствующего дикого типа СС-125 на разных стадиях серного голодания на постоянном свете.

Материалы и методы

Культивирование микроводорослей. Штамм зеленой микроводоросли *Ch. reinhardtii pfl1-1* (далее в тексте *pfl1*) без активности фермента PFL1 и соответствующий ему дикий тип СС-125 (WT) были любезно предоставлены А. Гроссманом [10].

Культуры *Ch. reinhardtii* растили в фотогетеротрофных условиях на трис-ацетатфосфатной среде (ТАР), рН 7,0, на постоянном свете. Культивирование проводили в конических колбах Эрленмейера объемом 300 мл на шейкере (120 об./мин) при температуре 25 °С и освещенности 120 мкмоль фотонов $m^{-2} c^{-1}$ до достижения концентрации хлорофилла (Хл) в среде 10–15 мкг $мл^{-1}$, что соответствует поздней логарифмической фазе роста.

Для переноса на среду без серы клетки трижды осаждали и ресуспендировали в ТАР-среде без серы, в которой сульфат был заменен эквивалентным количеством хлорида. После этого культуры объемом 8 мл помещали в герметично закрытые фотореакторы объемом 12 мл при начальной концентрации Хл 15 мкг $мл^{-1}$ и инкубировали на шейкере (120 об./мин) при температуре 25 °С и освещенности 40 мкмоль фотонов $m^{-2} c^{-1}$, которая рекомендована как оптимальная для фотопродукции H_2 в условиях серного голодания [12].

Определение содержания хлорофилла и крахмала. Содержание Хл определяли спектрофотометрически [13] путем экстракции в 95%-ном этаноле. Процедуру анализа крахмала проводили в соответствии с описанным ранее методом [6] с использованием амилоглюкозидазы (Sigma, Германия).

Измерение скорости светового выделения и темнового поглощения кислорода. Скорости выделения и поглощения O_2 в суспензии микроводорослей измеряли с помощью Oxygraph Plus (Hansatech, Великобритания) при постоянном перемешивании и температуре 25 °С. Перед измерением образцы объемом 1 мл помещали в темноту на 5 мин. Скорость фотообразования O_2 (скорость фотосинтеза) измеряли на насыщающем свете интенсивностью 1500 мкмоль фотонов $m^{-2} c^{-1}$ в присутствии 5 мМ $NaHCO_3$ и выражали в мкмоль O_2 (мг Хл) $^{-1} ч^{-1}$. После выключения насыщающего света измеряли скорость темнового поглощения кислорода (дыхания). При расчете скорости фотопрообразования кислорода делали поправку на скорость дыхания.

Газовая хроматография. Концентрацию H_2 в газовой фазе фотореактора определяли с помощью газового хроматографа Clarus 500 (Perkin Elmer Inc., США) с использованием детектора теплопроводности и аргона в качестве несущего газа. Пробы газовой фазы (200 мкл) отбирали с помощью газонепроницаемого шприца Гамильтона (Hamilton, США).

Флуоресценция хлорофилла. Флуоресценцию Хл регистрировали с помощью флуориметра Pulse-Amplitude-Modulation 2000 (Walz, Германия). В ходе экспериментов регистрировали минимальный выход флуоресценции Хл (F_0), которую индуцировали импульсами возбуждающего света интенсивностью 0,1 мкмоль фотонов $m^{-2} c^{-1}$ и длительностью 3 мкс. Для регистрации максимального выхода флуоресценции Хл (F_M) образец

дополнительно освещали насыщающей вспышкой света интенсивностью 1100 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹ длительностью 0,8 с для перевода центров фотосистемы (ФС) 2 в состояние с восстановленным первичным хинонным акцептором электронов Q_A. В этом состоянии ФС2 не способна к фотохимическому преобразованию поглощенной энергии и энергия диссипирует в виде тепла или флуоресценции Хл. Максимальную эффективность фотохимического преобразования энергии в ФС2 рассчитывали по формуле: $F_V/F_M = (F_M - F_D)/F_M$ [14]. Перед измерением параметров флуоресценции Хл образцы с микроводорослями адаптировали к темноте в течение 15 мин. Измерения параметров флуоресценции проводили либо непосредственно в фотореакторе через стеклянную стенку, либо в отобранных из фотореактора образцах после их аэрации путем барботирования воздухом в течение 15 мин в темноте.

Статистический анализ. В эксперименте использовали шесть биологических повторностей (6 фотореакторов с культурами WT и 6 фотореакторов с культурами мутанта *pfl1*). Всего провели два независимых эксперимента. Количество технических повторностей зависело от измеряемой характеристики. Так, при измерениях флуоресценции Хл и газового состава использовали две технические повторности, для остальных характеристик – три. Статистическую значимость разли-

чий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (One way ANOVA) и параметрического критерия Тьюки (Tukey test). Различия между показателями при $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты и обсуждение

Измерение концентрации клеток и Хл в культурах WT и мутанта *pfl1 Ch. reinhardtii* в ходе 96 ч инкубации на среде без серы на постоянном свете не выявило различий в динамике роста этих штаммов (данные не приведены), свидетельствуя о том, что нарушение процесса брожения оказывает слабое влияние на деление клеток в голодающих по сере культурах.

При инкубации WT *Ch. reinhardtii* на среде без серы на свете H₂ обнаруживался в газовой фазе фотореакторов через 24 ч после начала эксперимента; его содержание на мл культуры составляло 5,1 мкмоль мл⁻¹, возрастая до 11,2 и 12,8 мкмоль мл⁻¹ через 48 и 72 ч инкубации соответственно (рис. 1А). Через 96 ч количество H₂ в газовой фазе фотореакторов снижалось, указывая на прекращение выделения газа в результате общего нарушения метаболических процессов. Необходимо отметить, что через 120 ч инкубации без серы происходила гибель части культур. Динамика выделения H₂ культурами мутанта *pfl1* характеризовалась более поздней инициализацией и большей продолжительностью это-

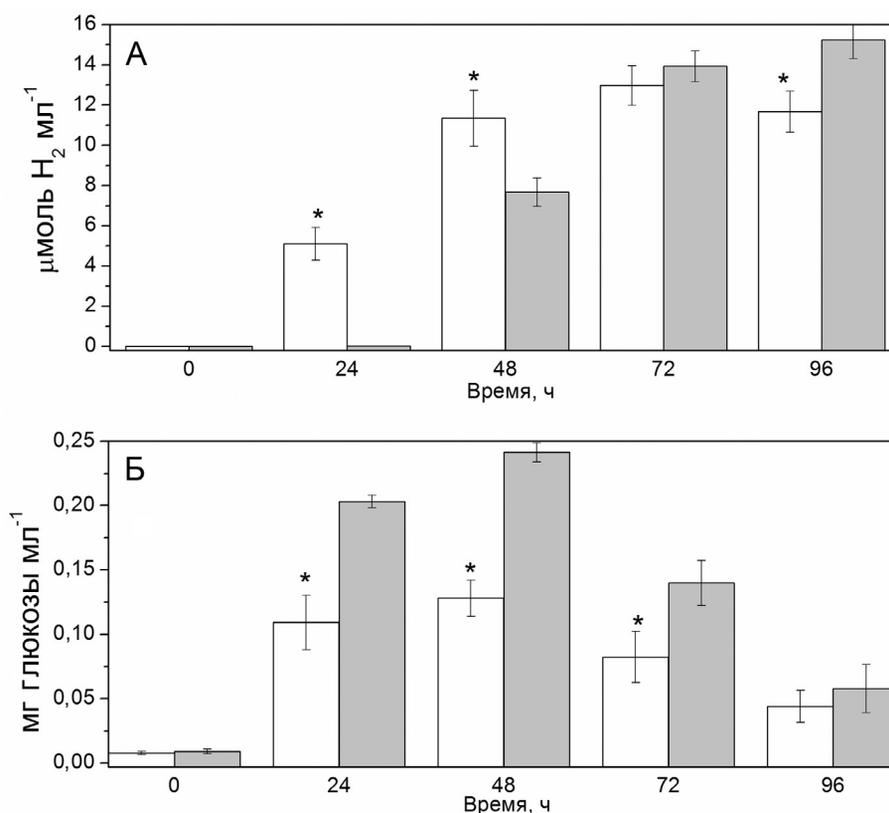


Рис. 1. Количество H₂ в газовой фазе фотореактора (А) и содержание крахмала (Б) в культурах WT (белые столбцы) и *pfl1* (серые столбцы) *Ch. reinhardtii* при инкубации на среде без серы на постоянном свете (40 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹). На рисунке показаны средние значения (n=6, биологические повторности) и стандартное отклонение. * – статистически значимые различия между средними значениями показателей у WT и *pfl1*, $p < 0,05$.

го процесса по сравнению с WT. Так, в культурах мутанта H_2 отсутствовал в газовой фазе фотореакторов через 24 ч инкубации без серы, а в 48 ч его количество составляло $7,8 \text{ мкмоль мл}^{-1}$, что ниже соответствующего показателя в культурах WT. Через 72 ч эксперимента количество H_2 , выделенного клетками WT и *pfl1*, было примерно одинаковым, а к 96 ч величина этого показателя в культурах мутанта превышала величину у WT примерно на 30%. Полученный результат указывает на то, что фотообразование H_2 в клетках *pfl1* характеризуется большей устойчивостью к стрессу по сравнению с WT. Наши данные отличаются от опубликованных ранее [11], в которой показано, что инактивация фермента PFL1 не оказывает значительного влияния на выход H_2 на свету в голодающих по сере культурах *Ch. reinhardtii*. В экспериментах, описанных в упомянутой статье, инкубация без серы проводилась на свету интенсивностью $140 \text{ мкмоль фотонов м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, который существенно превышает оптимальную величину для фотообразования H_2 клетками *Ch. reinhardtii* – $40 \text{ мкмоль фотонов м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ [12]. Как известно, избыточная освещенность в условиях серного голодания способствует фотоингибированию и приводит к снижению электронного транспорта из фотосинтетической электрон-транспортной цепи на гидрогеназу и, соответственно, снижению общего выхода H_2 .

Как известно, метаболизм крахмала и активность первичных реакций фотосинтеза являются ключевыми факторами, влияющими на способность зеленых микроводорослей выделять H_2 на свету в условиях дефицита элементов минерального питания [1, 2]. В связи с этим мы изучили изменения содержания крахмала и скорости фотосинтеза в культурах WT и *pfl1*.

Начальное содержание крахмала в 1 мл культуры было незначительным у обоих штаммов, составляя около $0,01 \text{ мг мл}^{-1}$ (рис. 1Б). Через 24 ч инкубации без серы его величина в культурах WT выросла на порядок до $0,11 \text{ мг мл}^{-1}$, а через 48 ч достигала максимального значения – $0,13 \text{ мг мл}^{-1}$. На последующей стадии голодания содержание крахмала в WT постепенно снижалось с $0,13 \text{ мг мл}^{-1}$ до $0,08 \text{ мг мл}^{-1}$ к 72 ч и до $0,05 \text{ мг мл}^{-1}$ к 96 ч. Полученная динамика данного показателя у *Ch. reinhardtii* соответствует литературным данным и отражает переключение метаболизма микроводорослей с активного фотосинтеза и деления клеток в стандартных условиях в состоянии с низкой активностью фотосинтеза и редуцированным делением клеток на начальных стадиях голодания (0–48 ч), когда наблюдается запасание углеводов и липидов – в основном, за счет поглощения ацетата из среды. На последующих стадиях серного голодания (48–96 ч) в клетках микроводорослей полностью инактивируются процессы фиксации двуокиси углерода и поглощения ацетата из среды, поэтому запасенные углеводы используются в качестве источника углерода и энергии.

Культуры мутанта *pfl1* продемонстрировали похожую с культурами WT динамику содержания крахмала в ходе эксперимента (рис. 1Б), однако количество запасенного в течение 48 ч крахмала превышало значения в культурах WT практически в два раза. В последующие 48 ч инкубации наблюдалось более быстрое снижение содержания крахмала в культурах мутанта по сравнению с WT, и величина этого показателя в 96 ч была примерно одинаковой у обоих штаммов. Полученный результат указывает на значительно более выраженную способность мутанта аккумулировать и расходовать крахмал на ранних и поздних стадиях голодания соответственно. Ранее было показано, что способность голодающих по сере клеток *Ch. reinhardtii* аккумулировать значительные запасы крахмала является важным фактором, оказывающим позитивное влияние на выход H_2 [15].

Фотосинтетическую активность и дыхание в клетках *Ch. reinhardtii* оценивали по скорости выделения O_2 в присутствии $NaHCO_3$, как источника CO_2 , на насыщающем свету и по скорости поглощения O_2 в темноте соответственно (таблица). Скорость выделения O_2 отражает активность фотосинтетического электронного транспорта на конечные акцепторы, иные чем O_2 . В контрольных культурах (0 ч) скорость фотосинтеза составляла около $300 \text{ мкмоль } O_2 (\text{мг Хл})^{-1} \text{ ч}^{-1}$ у WT и *pfl1*. Дефицит серы в среде индуцировал инактивацию фотосинтеза, скорость которого в культурах WT снижалась примерно на $100 \text{ мкмоль } O_2 (\text{мг Хл})^{-1} \text{ ч}^{-1}$ каждые 24 ч в течение 72 ч, падая до нулевого уровня к 96 ч. У мутанта наблюдалось скачкообразное снижение скорости фотосинтеза в интервале времени 24–48 ч: с 245 до $81 \text{ мкмоль } O_2 (\text{мг Хл})^{-1} \text{ ч}^{-1}$. Однако клетки мутанта, в отличие от WT, сохраняли фотосинтетическую активность на поздней стадии серного голодания (96 ч) на уровне $29 \text{ мкмоль } O_2 (\text{мг Хл})^{-1} \text{ ч}^{-1}$. Функционирование фотосинтетического электронного транспорта в клетках *pfl1* на поздней стадии серного голодания согласуется с сохранением у мутанта способности к фотообразованию H_2 и повышенным расходом крахмала.

Таблица

Скорости светового выделения O_2 (фотосинтез, $\text{мкмоль } O_2 (\text{мг Хл})^{-1} \text{ ч}^{-1}$) и темнового поглощения O_2 (дыхание, $\text{мкмоль } O_2 (\text{мг Хл})^{-1} \text{ ч}^{-1}$) в культурах WT и *pfl1* *Ch. reinhardtii* в ходе инкубации на среде без серы на постоянном свету

Время инкубации, ч	WT		PFL1	
	Фотосинтез	Дыхание	Фотосинтез	Дыхание
0	306 ± 15	$23 \pm 2,4$	308 ± 12	$28 \pm 2,2$
24	$230 \pm 13^*$	$26 \pm 4,2$	$245 \pm 16^*$	$32 \pm 3,5$
48	$126 \pm 14^*$	$26 \pm 2,8^*$	$81 \pm 13^*$	$34 \pm 3,2^*$
72	30 ± 8	$24 \pm 3,2$	27 ± 9	$30 \pm 2,7$
96	0	$22 \pm 4,3$	31 ± 4	$27 \pm 2,3$

Примечание: В таблице приведены средние значения ($n=6$, биологические повторности) и стандартное отклонение. * – статистически значимые различия между средними значениями показателей у WT и *pfl1*, $p < 0,05$.

Скорость дыхания в клетках *Ch. reinhardtii* при культивировании на полной среде (0 ч) составила 23 и 28 мкмоль O_2 (мг Хл) $^{-1}$ ч $^{-1}$ у WT и *pfl1*, соответственно (таблица). Дефицит серы в среде индуцировал сходные изменения скорости дыхания в клетках обоих штаммов, а именно, незначимый рост величины данного показателя на 10–15% в течение 48 ч с последующим снижением примерно до начального уровня в конце эксперимента (96 ч). Таким образом, дыхание изменялось сходным образом в клетках WT и *pfl1* в ходе инкубации на среде без серы, однако количественно скорость дыхания в клетках мутанта была выше примерно на 20% таковой у WT. Ранее было высказано предположение о том, что высокая скорость дыхания в клетках *Ch. reinhardtii* способствует фотообразованию H_2 в условиях серного голодания, поддерживая анаэробноз в культуре при остаточной активности ФС2 [16].

Ранее нами было показано, что дефицит серы индуцирует снижение активности ФС2 в клетках *Ch. reinhardtii* не только в результате необратимой деструкции ФС2, но и в результате обратимой регуляции редокс-состояния акцептора Q_A в ФС2 в зависимости от редокс-состояния пластохинонового пула [4]. Так, восстановление пластохинонового пула на анаэробной стадии серного голо-

дания приводит к восстановлению Q_A на свету и, соответственно, функциональной инактивации ФС2. Аэрирование образцов голодающих микроводорослей индуцирует окисление пластохинонового пула кислородом и, соответственно, реактивацию ФС2. Параметр флуоресценции F_V/F_M широко используется для неинвазивной оценки квантового выхода фотохимического преобразования энергии в ФС2. Измерение этого параметра в голодающей культуре микроводорослей до и после аэрации позволяет оценить вклад редокс-зависимого компонента в регуляцию ФС2. Результаты измерений F_V/F_M в фотореакторе и в аэрированных образцах WT и *pfl1* на разных стадиях инкубации без серы показаны на рис. 2. Изменения величины F_V/F_M в фотореакторах были схожи с соответствующими изменениями скорости выделения O_2 (фотосинтетической активности) (см. таблицу). Так, культуры *pfl1* характеризовались более быстрым снижением величины F_V/F_M по сравнению с WT в интервале 24–48 ч, а в конце эксперимента (96 ч) величина F_V/F_M у мутанта достоверно превышала соответствующее значение этого параметра у WT примерно на 30%. На полностью анаэробных стадиях голодания (72 и 96 ч) аэрация образцов индуцировала многократный рост активности ФС2. Величина F_V/F_M в аэриро-

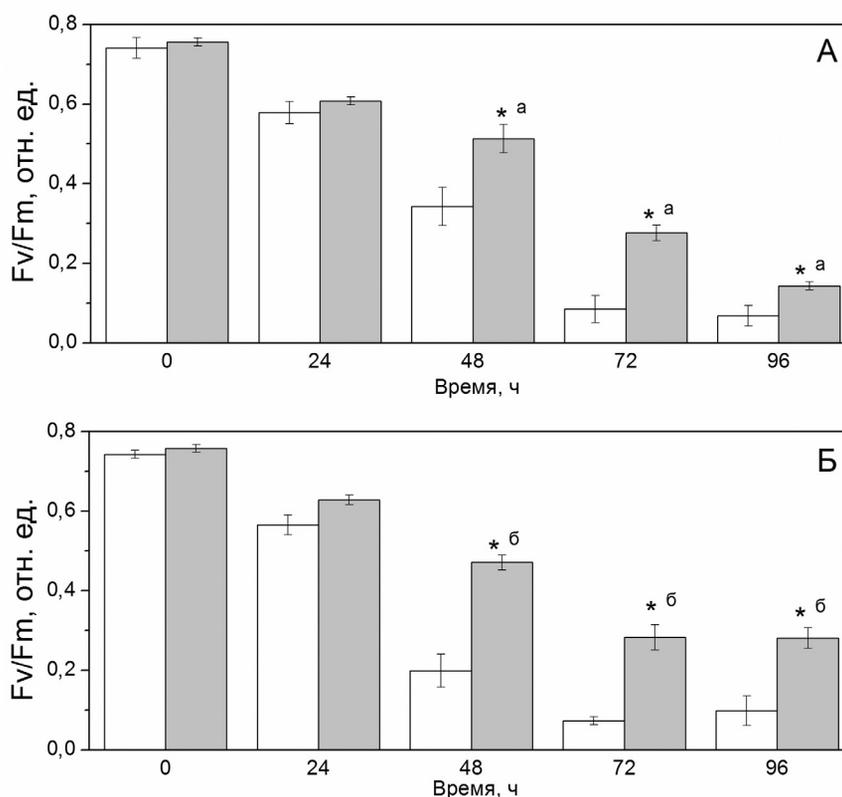


Рис. 2. Изменения параметра флуоресценции хлорофилла F_V/F_M в культурах WT (А) и мутанта *pfl1* (Б) *Ch. reinhardtii* при инкубации на среде без серы на постоянном свете. Белым цветом обозначены результаты измерений в закрытом фотобиореакторе, серым – результаты для аэрированных образцов. На рисунке показаны средние значения ($n=6$, биологические повторности) и стандартное отклонение.

a, б – статистически значимые различия между средними значениями F_V/F_M в образцах до и после продувки воздухом, $p < 0,05$.

* – статистически значимые различия между средними значениями F_V/F_M у WT (А) и *pfl1* (Б), $p < 0,05$.

ванных образцах через 96 ч инкубации без серы была заметно выше (примерно на 100%) в клетках *pfl1* по сравнению с клетками WT, указывая на более активное и стабильное состояние ФС2 у мутанта на поздней стадии серного голодания. Ранее отмечалось, что электронный транспорт через ФС2 и фотообразование H_2 клетками микроводорослей в условиях серного голодания являются тесно взаимосвязанными процессами [16]. Так, активность ФС2 обеспечивает более интенсивный транспорт электронов от воды на гидрогеназу через ряд фотосинтетических переносчиков, способствуя фотообразованию H_2 . При этом выделяемый в ФС2 кислород быстро поглощается в реакциях дыхания. Восстановительные эквиваленты для дыхания преимущественно генерируются в процессе деградации крахмала, накопленного на начальных стадиях серного голодания.

Полученные в работе результаты свидетельствуют о том, что клетки *pfl1*, в отличие от WT, характеризуется более выраженной способностью к фотопродукции H_2 на поздних стадиях серного голодания, когда наблюдается сильное угнетение метаболической активности в клетках. Также мутант характеризуется более интенсивным расходом запасенного крахмала и более высокой фотосинтетической активностью, а также активностью ФС2 на поздних стадиях серного голодания, что оказывает стимулирующее действие на фотообразование H_2 и отражает, в целом, большую устойчивость к стрессу. Подобное действие мутации *pfl1* на способность клеток *Ch. reinhardtii* адаптироваться к анаэробным условиям, индуцированным серным голоданием на свету, может быть следствием, например, снижения выхода токсичных продуктов брожения, таких

как формиат и этанол, в клетках мутанта, что может оказывать общее позитивное воздействие на жизнеспособность клеток. Мутант *pfl1* характеризовался не только способностью накапливать больше крахмала, чем WT, но и низкой способностью аккумулировать липиды. Общее содержание жирных кислот в культуре WT увеличивалось примерно в два раза в течение 24 ч голодания, в то время как в культуре *pfl1* этот показатель увеличивался только на 20%. В последующие часы эксперимента общее содержание жирных кислот обоих штаммов оставалось практически неизменным (данные не приведены). Данный эффект мутации *pfl1* может быть обусловлен снижением образования ацетил-КоА, который является субстратом для синтеза жирных кислот. Перераспределение запасов углерода между углеводами и липидами в клетках *pfl1* в пользу углеводов может способствовать фотообразованию H_2 .

Таким образом, в работе показано, что реакции брожения оказывают значительное влияние на фотопродукцию H_2 голодающими по сере клетками *Ch. reinhardtii*, особенно на поздних стадиях, а мутации на уровне пируватформиатлиазы могут рассматриваться в качестве перспективных для увеличения продолжительности процесса фотопродукции H_2 в биотехнологических целях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-64-46018). Результаты, полученные флуоресцентным методом, выполнены в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032500058-7.

Исследования проведены без использования лабораторных животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Antal T.K. The metabolic acclimation of *Chlamydomonas reinhardtii* to depletion of essential nutrients: application for hydrogen production // Microalgal Hydrogen Production: Achievements and Perspectives / Eds. M. Seibert, G. Torzillo. RSC Publishing, 2018. P. 235–264.
2. Kosourov S., Böhm M., Senger M., Berggren G., Stensjö K., Mamedov F., Lindblad P., Allahverdiyeva Y. Photosynthetic hydrogen production: novel protocols, promising engineering approaches and application of semi-synthetic hydrogenases // Physiol. Plant. 2021. Vol. 173. N 2. P. 555–567.
3. Antal T., Petrova E., Slepnyova V., Kukarskikh G., Volgusheva A., Dubini A., Baizhumanov A., Tyystjärvi T., Gorelova O., Baulina O., Chivkunova O., Solovchenko A., Rubin A. Photosynthetic hydrogen production as acclimation mechanism in nutrient-deprived *Chlamydomonas* // Algal Res. 2020. Vol. 49: 101951.
4. Antal T.K., Krendeleva T.E., Laurinavichene T.V., Makarova V.V., Ghirardi M.L., Rubin A.B., Tsygankov A.A., Seibert M. The dependence of algal H_2 production on Photosystem II and O_2 consumption activities in sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* cells // Biochim. Biophys. Acta. 2003. Vol. 1607. N 2–3. P. 153–160.
5. Kosourov S., Seibert M., Ghirardi M.L. Effects of extracellular pH on the metabolic pathways in sulfur-deprived, H_2 -producing *Chlamydomonas reinhardtii* cultures // Plant Cell Physiol. 2003. Vol. 44. N 2. P. 146–155.
6. Gfeller R.P., Gibbs M. Fermentative metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii*: I. analysis of fermentative products from starch in dark and light // Plant Physiol. 1984. Vol. 75. N 1. P. 212–218.
7. Atteia A., van Lis R., Gelius-Dietrich G., Adrait A., Garin J., Joyard J., Rolland N., Martin W. Pyruvate formate-lyase and a novel route of eukaryotic ATP synthesis in *Chlamydomonas* mitochondria // J. Biol. Chem. 2006. Vol. 281. N 15. P. 9909–9918.
8. Terashima M., Specht M., Naumann B., Hippler M. Characterizing the anaerobic response of *Chlamydomonas*

reinhardtii by quantitative proteomics // Mol. Cell Proteomics. 2010. Vol. 9. N 7. P. 1514–1532.

9. Philipps G., Krawietz D., Hemschemeier A., Happe T. A pyruvate formate lyase (PFL1) deficient *Chlamydomonas reinhardtii* strain provides evidence for a link between fermentation and hydrogen evolution in green algae // Plant J. 2011. Vol. 66. N 2. P. 330–340.

10. Catalanotti C., Dubini A., Subramanian V., Yang W., Magneschi L., Mus F., Seibert M., Posewitz M.C., Grossman A.R. Altered fermentative metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii* mutants lacking pyruvate formate lyase and both pyruvate formate lyase and alcohol dehydrogenase // Plant Cell. 2012. Vol. 24. N 2. P. 692–707.

11. Burgess S.J., Tredwell G., Molnár A., Bundy J.G., Nixon P.J. Artificial microRNA-mediated knockdown of pyruvate formate lyase (PFL1) provides evidence for an active 3-hydroxybutyrate production pathway in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* // J. Biotechnol. 2012. Vol. 162. N 1. P. 57–66.

12. Laurinavichene T., Tolstygina I., Tsygankov A. The effect of light intensity on hydrogen production by sulfur-de-

prived *Chlamydomonas reinhardtii* // J. Biotechnol. 2004. Vol. 114. N 1–2. P. 143–151.

13. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods Enzymol, vol. 148 / Eds. R. Douce and L. Packer. N.Y.: Press Inc., 1987. P. 350–382.

14. Shreiber U., Hormann H., Neubauer C., Klughammer C. Assessment of photosystem II photochemical quantum yield by chlorophyll fluorescence quenching analysis // Plant Physiol. 1995. Vol. 22. N 2. P. 209–220.

15. Hemschemeier A., Fouchard S., Cournac L., Peltier G., Happe T. Hydrogen production by *Chlamydomonas reinhardtii*: an elaborate interplay of electron sources and sinks // Planta. 2008. Vol. 227. N 2. P. 397–407.

16. Volgusheva A., Styring S., Mamedov F. Increased photosystem II stability promotes H₂ production in sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2013. Vol. 110. N 18. P. 7223–7228.

Поступила в редакцию 21.11.2021

После доработки 19.01.2022

Принята в печать 01.02.2022

RESEARCH ARTICLE

Influence of fermentation reactions on continuous hydrogen photoproduction by microalga *Chlamydomonas reinhardtii* under sulfur deficiency

A.A. Volgusheva¹, * , E.V. Petrova¹ , G.P. Kukarskikh¹ ,
A. Dubini² , T.K. Antal³ 

¹Department of Biophysics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
1–12 Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russia;

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Córdoba,
Edif. Severo Ochoa, Campus de Rabanales, 14071, Córdoba, Spain;

³Laboratory of Integrated Environmental Research, Pskov State University,
21 Sovetskaya Street, Pskov, 180000, Russia

*e-mail: volg-alena@yandex.ru

The study investigated the effect of the major fermentation enzyme – pyruvate formate lyase – on hydrogen photoproduction by green microalga *Chlamydomonas reinhardtii* under mineral deprivation. Cultures of the wild type (CC-125) and mutant *pfl1* without pyruvate formate lyase activity were incubated on a medium without sulfur in the sealed photoreactors under constant illumination for 96 h. During experiment, accumulation of hydrogen in gas phase of photoreactors and factors affecting hydrogen production, such as photosynthetic activity, respiration, and starch content in cells were assessed. Both strains showed similar photosynthetic activity and starch content when cultivated in the complete medium. Under sulfur depletion, the cultures of the *pfl1* mutant began to evolve hydrogen later than the wild type; however, this process lasted much longer in the mutant. The *pfl1* cultures showed higher rates of starch accumulation and breakdown at the initial and late stages of sulfur deprivation, respectively. Moreover, the mutant was characterized by higher photosynthetic activity at the later stage of starvation. The obtained results indicate close relationships between photosynthetic electron transport, hydrogenase reaction, carbohydrate metabolism and fermentation process, pointing to the prospect of using genetic engineering to modify fermentation reactions in order to improve photosynthetic hydrogen production in biotechnology.

Keywords: *hydrogen photoproduction, sulfur deprivation, fermentation, pyruvate formate lyase, hydrogenase, Chlamydomonas*

Funding: The research was funded by Russian Science Foundation, project number 20-64-46018. The results obtained by using fluorescence methods were carried out with support of the Scientific Project of Lomonosov Moscow State University №121032500058-7.

Сведения об авторах

Волгушева Алёна Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-19-63; e-mail: *volg-alena@yandex.ru*

Петрова Елена Вячеславовна – науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-17-46; e-mail: *eslepova@list.ru*

Кукарских Галина Павловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-19-63; e-mail: *gkukarsk@mail.ru*

Дубини Александра – Ph.D., науч. сотр. кафедры биохимии и молекулярной биологии факультета естественных наук, Университет Кордовы, Испания. Тел.: +3-495-721-83-52; e-mail: *alexandra.dubini@uco.es*

Антал Тарас Корнелиевич – докт. биол. наук, гл. науч. сотр. ПсковГУ, проректор ПсковГУ. Тел.: 8-8112-29-70-06; e-mail: *taras_an@mail.ru*

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 574.583

Сезонная динамика фитопланктона в губе Чупа
(Белое море, Кандалакшский залив)И.Г. Радченко^{1,*} , В.В. Смирнов² , Н.В. Усов² , А.А. Сухотин² 

¹Кафедра общей экологии и гидробиологии, биологический факультет,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

²Беломорская биологическая станция «Картеш», Зоологический институт, Российская академия наук,
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1

*e-mail: iraradchenko@yandex.ru

Впервые после 1994 г. в марте–ноябре 2017 г. в Белом море на разных глубинах исследована динамика структуры и обилия фитопланктона. Численность водорослей варьировала от $3,8 \cdot 10^6$ до $3519 \cdot 10^6$ кл/м³. Биомасса фитопланктона менялась от 0,2 до 90 мг С/м³ и, за некоторым исключением, была выше в верхних слоях толщи воды (0–5 м). Интегрированные на столб воды численность и биомасса водорослей изменялись от $0,2 \cdot 10^9$ до $68,5 \cdot 10^9$ кл/м² и от 0,01 до 1,38 г С/м² соответственно. В динамике биомассы фитопланктона выявлены два пика – в начале мая после схода ледового покрова и в начале сентября. Летний пик биомассы, регистрируемый предыдущими исследованиями в поверхностном слое воды в июле, не выявлен, что вызвано доминированием более мелких нанопланктонных прازیнофитовых и криптофитовых водорослей и динофлагеллят. Смещение доминирующих видов, возможно, связана с общей тенденцией уменьшения вклада крупных видов и увеличения гетеротрофной составляющей в фитопланктоне в условиях более выраженной стратификации водной толщи моря, вызванной потеплением климата.

Ключевые слова: Белое море, Субарктика, сезонная динамика, фитопланктон, численность, биомасса, доминирующие виды, потепление климата

Фитопланктон (ФП) играет ключевую роль в функционировании морских экосистем. В связи с потеплением климата, наблюдаемым в последние десятилетия в арктических и субарктических широтах, возможно изменение структуры и обилия ФП [1]. Субарктическое Белое море сочетает черты как арктических, так и умеренных морей, в которых ярко выражена сезонная динамика ФП. Исследования сезонной динамики обилия и структуры ФП в Белом море ранее проводили только в XX столетии в губе Чупа в районе Беломорской биостанции «Картеш» Зоологического института РАН. В 2013–2014 гг. исследовали годовую динамику численности и биомассы ФП, но результаты работы не опубликованы в полном объеме [2]. В 60-х гг. прошлого века определяли динамику численности, биомассы и состава поверхностного ФП с весны до осени [3], а также динамику численности и состава ФП на разных глубинах с весны до зимы [4]. Позже, в июне–сентябре 1989 г. и апреле–августе 1994 г., были проведены исследования сезонных изменений численности планктонных водорослей и выделены комплексы доминирующих видов [5]. Согласно этим наблюдениям, в течение вегетационного сезона обычно отмечались два пика биомассы ФП – весенний и летний, в некоторые годы прослеживалось менее выражен-

ное осеннее увеличение его обилия. Каждый из пиков обилия ФП обусловлен развитием характерного комплекса видов – весеннего, летнего и осеннего. С 1994 г. данные по сезонной динамике структуры ФП отсутствуют, и, в связи с изменением климата, можно предположить изменения в обилии и структуре ФП за прошедшие более чем 20 лет. В настоящей работе охарактеризована сезонная динамика ФП с марта по ноябрь 2017 г. в губе Чупа Кандалакшского залива Белого моря.

Материалы и методы

Исследования проводили в губе Чупа на декадной станции (глубина 65 м; $66^{\circ}19'50''$ с.ш.; $33^{\circ}40'06''$ в.д.) с марта по ноябрь 2017 г. В период ледового покрова пробы отбирались через прорубь во льду; в свободный ото льда период отбор проб производился с судна. Пробы воды отбирали в разные фазы приливного цикла с разных глубин от 0 до 50 м 5-литровым батометром Нискина (Model 110B, OceanTest Equipment, США). Интервал между отбором проб составлял 4–12 сут. На всех станциях океанографическим зондом MIDAS STD+ (Valeport, Великобритания) проводили вертикальное зондирование для измерения температуры, солености и условной плотности воды. Степень стратификации водной толщи оценивали как

разницу условной плотности на глубине 20 м и 1 м. Границей фотической зоны считали глубину с 1% фотосинтетически активной радиации. Последнюю определяли через коэффициент ослабления света K_d , рассчитанный как $1,7/Z_{sd}$, где Z_{sd} — глубина исчезновения диска Секки (м) [6].

Для исследования ФП пробы воды объемом 1 л фиксировали раствором Люголя и концентрировали до 5–20 мл методом обратной фильтрации (диаметр пор 2 мкм). Концентрированные пробы просчитывали под микроскопом МИКМЕД-1 (ЛОМО, Россия) при увеличении $300\times$ и с водной иммерсией при увеличении $600\times$ в камере Нажотта (объем 0,05 мл). Для каждой пробы просчитывали по 3–7 камер. Водоросли по возможности определяли до рода или вида. Для верификации видовой принадлежности диатомовые водоросли дополнительно просматривали при помощи сканирующего электронного микроскопа (Camscan S-2 Cambridge Scanning Electron Microscope, Великобритания) в Центре коллективного пользования МГУ имени М.В. Ломоносова. Современную классификацию водорослей приводили по электронной базе данных «AlgaeBase» [7]. Неидентифицированные динофлагелляты были разделены по группам согласно максимальному линейному размеру: мелкие (20–29 мкм) и крупные (≥ 30 мкм), и согласно наличию панциря — на панцирные и голые. Неидентифицированные виды рода *Thalassiosira* также ранжировали по диаметру клетки: мелкие (20–29 мкм), средние (30–49 мкм) и крупные (50–70 мкм). Неидентифицированные водоросли с максимальным линейным размером 3–8 мкм объединяли в группу «неидентифицированные коккоидные и жгутиковые» (НКЖ). Все водоросли согласно их максимальному линейному размеру относили к нанопланктону (2–20 мкм), микропланктону (20–200 мкм) и мезопланктону (0,2–2 мм). Биомассу клеток водорослей определяли в углеродных единицах. Для этого вычисляли объемы клеток методом геометрического подобия с последующим переводом в единицы углерода по аллометрическим зависимостям [8]. Суммарную биомассу (B , мг С/м³) ФП определяли суммированием биомасс всех клеток каждого вида. Интегральные биомассу ($B_{\text{инт}}$, г С/м²) и численность ($N_{\text{инт}}$, кл/м²) ФП в столбе воды оценивали трапециевидным интегрированием биомассы фитопланктона от поверхности до глубины отбора проб фитопланктона (15–50 м).

Результаты

Гидрологические условия. Средняя температура в верхнем 25-метровом слое толщи воды ($T_{\text{ср}}$) в период ледового покрова была отрицательной (рис. 1А) и соответствовала гидрологической зиме [9]. После схода льда 10 мая $T_{\text{ср}}$ поднялась выше 0 °С, что соответствовало началу гидрологической весны. Гидрологическое лето наступило 21 июня,

когда наблюдалась наибольшая скорость увеличения $T_{\text{ср}}$, и длилось до момента максимальной скорости снижения $T_{\text{ср}}$ 12 сентября, после чего началась гидрологическая осень. Температура воды достигала максимальных значений трижды — 20 июля (11,0 °С), 12 августа (11,2 °С) и 2 сентября (11,3 °С).

Соленость в верхнем 25-метровом слое толщи воды изменялась в пределах 24–27 в течение всего года. При этом зимой, летом и осенью в поверхностном слое (до 1 м) отмечались периоды снижения солености до 6–8 в результате таяния льда зимой, дождей и речного стока.

Воды моря практически весь период исследования были стратифицированы. Только после схода льда 10 мая, а также 2 сентября и 21 ноября в результате глубокого перемешивания отмечалось квазиоднородное распределение температуры и солености в слое 0–20 м и наименьшая степень стратификации водного столба. Глубина эвфотического слоя варьировала от 6,5 до 33 м в период ледового покрова, тогда как в период открытой воды — от 11 до 23 м.

Таксономический состав фитопланктона. В 120 пробах было определено 185 таксонов, принадлежащих к следующим систематическим группам: Bacillariophyta (94), Miozoa (Dinophyceae) (51), Chlorophyta (17), Cyanobacteria (8), Ochrophyta (6), Euglenozoa (5), Charophyta (2), Haptophyta (Prymnesiophycidae) (1), Cercozoa (Ebriidae) (1). Криptomonеды не идентифицировали до вида и рода. 62% таксонов принадлежат микропланктону, 35% — нанопланктону, 3% — мезопланктону.

Численность и биомасса фитопланктона. Численность (N) водорослей значительно варьировала (рис. 1Б) от 3,8 млн кл/м³ (4 апреля на глубине 20 м) до 3 519 млн кл/м³ (22 августа на глубине 5 м). Биомасса ФП (B) менялась от 0,2 до 90 мг С/м³ (рис. 1В). Минимальная B , как и минимальная N , отмечалась 4 апреля на глубине 20 м, максимальная B — 5 июня в поверхностном горизонте. Биомасса водорослей была выше в верхних слоях воды (0–5 м), за исключением 10–15 мая и 2 сентября, когда отмечалось глубокое перемешивание водного столба.

$B_{\text{инт}}$ изменялась от 0,01 г С/м² (4 апреля) до 1,38 г С/м² (10 мая) (рис. 2А). В динамике $B_{\text{инт}}$ выявлены два пика: весеннее цветение [10] — в начале мая после схода ледового покрова — и в начале сентября. $N_{\text{инт}}$ также была минимальной 4 апреля, составляя $0,2 \cdot 10^9$ кл/м², но максимальных значений, $68,5 \cdot 10^9$ кл/м², достигала 2 сентября (рис. 2Б), образуя в динамике только один пик.

В зимний период подо льдом в планктоне развивались как нано-, так и микропланктонные водоросли (рис. 2А). Во время весеннего цветения в ФП преобладали микроформы и увеличилась доля мезопланктонных форм. Затем вплоть до конца ноября преобладал нанопланктон.

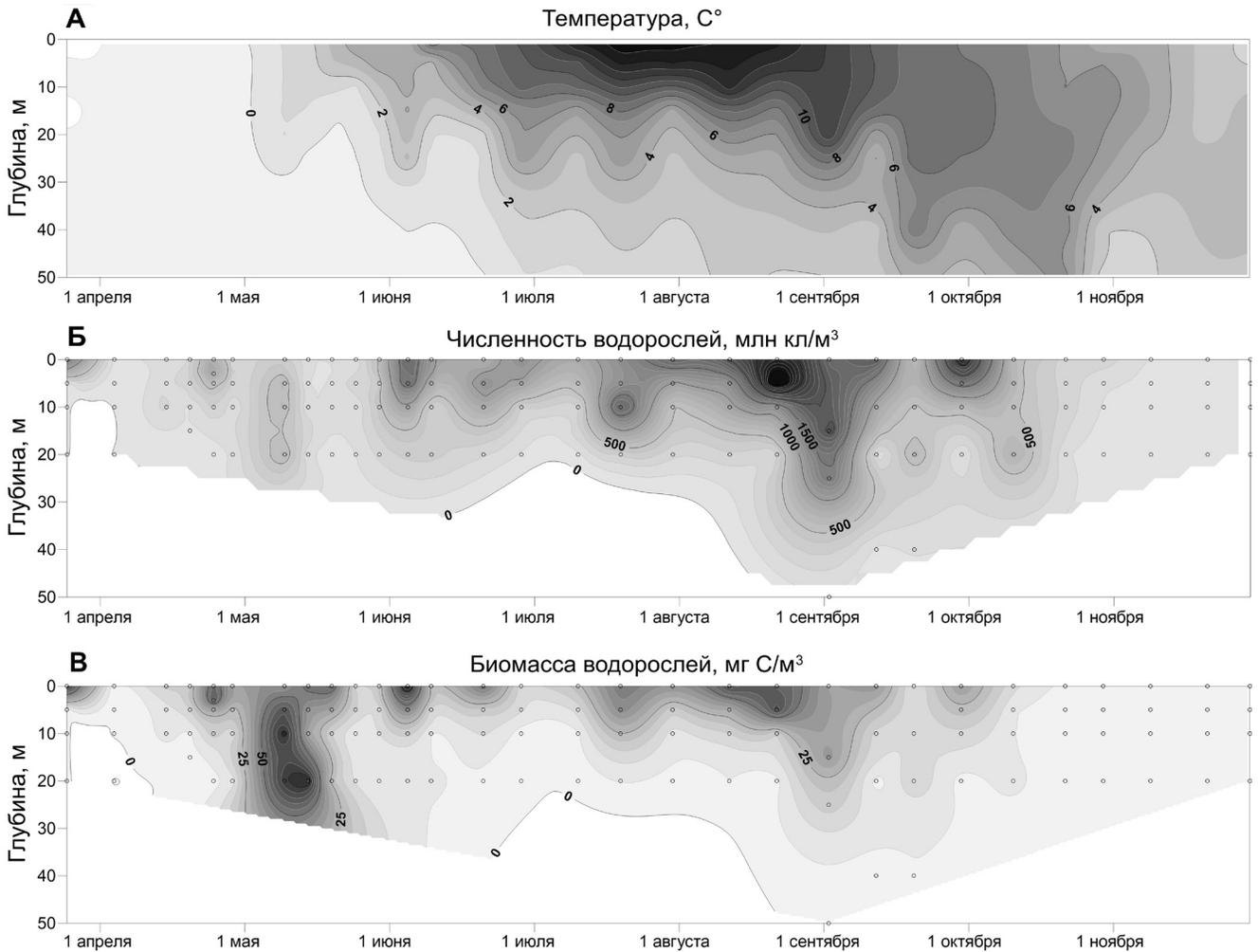


Рис. 1. Сезонное и пространственное распределение температуры и фитопланктона в губе Чупа (Кандалакшский залив Белого моря) в 2017 г.: А – температура воды (T , °С), Б – численность водорослей (млн кл/м³), В – биомасса водорослей (мг С/м³). Кружками обозначены точки отбора проб.

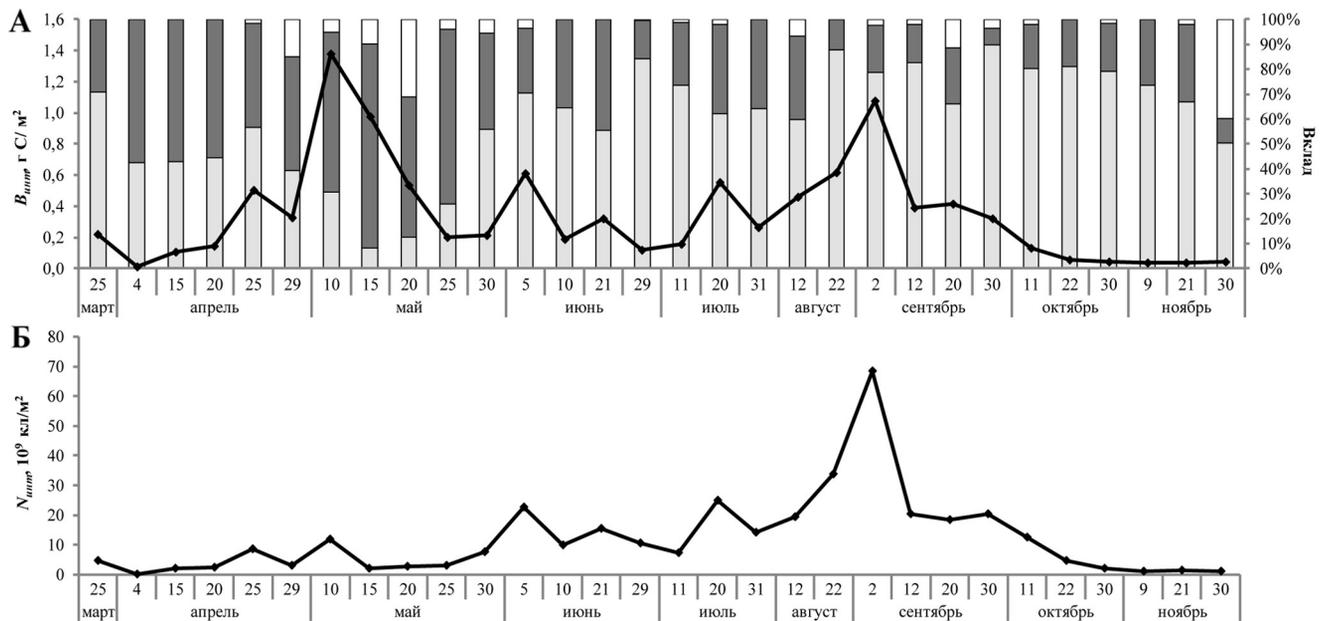


Рис. 2. Сезонная динамика интегрированного на столб воды обилия фитопланктона в губе Чупа (Кандалакшский залив Белого моря) в 2017 г.: А – интегрированная биомасса (B_{int} , г С/м²) и вклад (%) в B_{int} водорослей различных размерных фракций. — B_{int} , □ – Вклад нанофитопланктона, ■ – Вклад микрофитопланктона, ▨ – Вклад мезофитопланктона. Б – интегрированная численность (N_{int} , 10⁹ кл/м²).

Доминирующие виды фитопланктона. В зимний период при невысокой биомассе ФП, сконцентрировавшегося подо льдом, доминировали нанопланктонные ледово-пелагические диатомовые водоросли *Pauliella taeniata* и виды рода *Fragilariopsis*, микропланктонные центрические диатомовые – *Thalassiosira* sp., *Odontella aurita*, и панцирная динофлагеллята *Peridiniella catenata*, а также НКЖ (таблица). В конце ледового периода в планктоне стали появляться крупные микро- и мезопланктонные диатомовые водоросли рода *Coscinodiscus*.

В весенний период при цветении ФП после схода льда 10 и 15 мая увеличилась биомасса крупных голых гетеротрофных динофлагеллят предположительно рода *Gyrodinium*, вносивших

вместе с диатомовыми родов *Coscinodiscus* и *Thalassiosira* значительный вклад в $B_{инт}$ до конца цветения. В последнюю декаду мая на фоне снижения $B_{инт}$ доминировала нанопланктонная примнезиофитовая водоросль *Phaeocystis* cf. *globosa*. При этом максимальные ее концентрации регистрировали в слое 5–10 м. В начале июня в ФП была зарегистрирована диктиоховая водоросль *Pseudopedinella pyriformis*. Обилие этого нанопланктонного вида было значительным, особенно на горизонте 0 м, за счет чего наблюдался рост $B_{инт}$, вклад вида в которую составил 25%. В конце весеннего периода при невысокой $B_{инт}$ доминировали нанопланктонные формы: криптофитовые водоросли, голые динофлагелляты и НКЖ.

Таблица

Доминирующие виды/группы видов и их доля (%) в интегрированной биомассе фитопланктона в столбе воды в гидрологические сезоны в губе Чула (Кандалакшский залив Белого моря) в 2017 г.

Дата	Водоросли
Зима	
25.3	<i>Pauliella taeniata</i> (61)
4.4	<i>Fragilariopsis cylindrus</i> (21), <i>Thalassiosira</i> sp. 20–29 мкм (16), панцирные динофлагелляты ≥ 30 мкм (14), <i>Odontella aurita</i> (10)
15.4	<i>Peridiniella catenata</i> (27), <i>F. cylindrus</i> (12)
20.4	<i>P. catenata</i> (22), <i>F. cylindrus</i> (11)
25.4	<i>F. cylindrus</i> (14), НКЖ (12), <i>Fragilariopsis</i> cf. <i>oceanica</i> (10)
29.4	<i>Coscinodiscus asteromphalus</i> (15), НКЖ (14)
Весна	
10.5	Голые динофлагелляты ≥ 30 мкм (17), <i>Thalassiosira</i> sp. 20–29 мкм (12), <i>F. cf. oceanica</i> (10)
15.5	Голые динофлагелляты ≥ 30 мкм (59), <i>C. asteromphalus</i> (10)
20.5	Голые динофлагелляты ≥ 30 мкм (33), <i>C. asteromphalus</i> (18), <i>Coscinodiscus wailesii</i> (11)
25.5	Голые динофлагелляты ≥ 30 мкм (30), <i>Phaeocystis</i> cf. <i>globosa</i> (16), <i>Coscinodiscus concinnus</i> (12)
30.5	<i>P. cf. globosa</i> (32)
5.6	<i>Pseudopedinella pyriformis</i> (25), криптомонады (10), НКЖ (10)
10.6	НКЖ (18), голые динофлагелляты 20–29 мкм (13), криптомонады (13)
Лето	
21.6	Криptomonаты (15), <i>Coscinodiscus granii</i> (14), голые динофлагелляты 20–29 мкм (13), панцирные динофлагелляты ≥ 30 мкм (12)
29.6	Криptomonаты (38), <i>Pyramimonas</i> spp. (18)
11.7	Голые динофлагелляты 20–29 мкм (16), <i>P. pyriformis</i> (13), <i>Heterocapsa rotundata</i> (11), НКЖ (11)
20.7	<i>Navicula perminuta</i> (21), <i>Thalassionema nitzschioides</i> (12), голые динофлагелляты 20–29 мкм (10)
31.7	Голые динофлагелляты 20–29 мкм (17), <i>T. nitzschioides</i> (16), криптомонады (14), <i>N. perminuta</i> (10)
12.8	<i>N. perminuta</i> (13), голые динофлагелляты 20–29 мкм (11), криптомонады (10)
22.8	<i>Pyramimonas</i> spp. (20), <i>H. rotundata</i> (19), криптомонады (14)
2.9	<i>N. perminuta</i> (25), криптомонады (13), голые динофлагелляты 20–29 мкм (10)
Осень	
12.9	Криptomonаты (24), голые динофлагелляты 20–29 мкм (19), <i>H. rotundata</i> (12)
20.9	Голые динофлагелляты 20–29 мкм (19), криптомонады (14), <i>C. asteromphalus</i> (10)
30.9	Криptomonаты (42), голые динофлагелляты 20–29 мкм (13), НКЖ (12), <i>H. rotundata</i> (11)
11.10	Криptomonаты (24), голые динофлагелляты 20–29 мкм (18), <i>H. rotundata</i> (16), НКЖ (11)
22.10	Голые динофлагелляты 20–29 мкм (23), криптомонады (23), <i>N. perminuta</i> (11), <i>Heterocapsa rotundata</i> (10)
30.10	Голые динофлагелляты 20–29 мкм (46), криптомонады (16)
9.10	Голые динофлагелляты 20–29 мкм (48), криптомонады (13)
21.10	Голые динофлагелляты 20–29 мкм (38), НКЖ (12)
30.10	<i>C. asteromphalus</i> (40), голые динофлагелляты 20–29 мкм (34)

В летний период при невысокой B_{umm} основной вклад в B_{umm} давали нанопланктонные диатомовая водоросль *Navicula perminuta*, криптомонады и микропланктонные голые динофлагелляты, реже — нанопланктонные зеленые прازیнофитовые водоросли рода *Pyramimonas*, динофлагеллят *Heterocapsa rotundata*, а также крупные диатомеи *Thalassionema nitzschioides* и *Coscinodiscus granii*. Увеличение B_{umm} в начале сентября обусловлено увеличением обилия диатомовой водоросли *N. perminuta*, максимальная численность которой (1324 млн кл/м³) наблюдалась в верхнем 25-метровом слое.

В осенний период при низкой B_{umm} основным компонентом фитопланктона были нанопланктонные криптофитовые водоросли, обилие которых снизилось в начале ноября, и микропланктонные голые динофлагелляты, обилие которых, наоборот, в ноябре значительно увеличилось, реже — нанопланктонная динофитовая водоросль *H. rotundata*. Периодически в планктоне появлялись мезопланктонные виды, которые, как например, *Coscinodiscus asteromphalus* 30 ноября, при небольшом количестве клеток давали существенный вклад в B_{umm} .

Обсуждение результатов

В течение вегетационного периода 2017 г. обилие фитопланктона в губе Чупа изменялось на несколько порядков. В сезонной динамике фитопланктона выявлено весеннее и осеннее (конец гидрологического лета) увеличение B_{umm} , в то время как наибольшая N водорослей отмечалась с июня по сентябрь и превышала N_{umm} ФП в период весеннего цветения. Такое расхождение динамики численности и биомассы ФП связано с развитием водорослей разных размерных групп в течение вегетационного периода, когда многочисленные мелкие нанопланктонные виды дают меньший вклад в биомассу, чем немногочисленные крупные микро- и мезопланктонные виды. Во время весеннего цветения в ФП преобладали микроформы и увеличилась доля мезопланктонных форм, тогда как летом и вплоть до конца ноября в ФП доминировали разные виды нанопланктона.

В ходе наших исследований, как и в наблюдениях 2013–2014 гг. [2], не был выявлен летний пик обилия и биомассы ФП, характерный для Белого моря в июле в поверхностном горизонте [3–5, 11]. Также не отмечено подледное цветение, характерное для арктических морей [12].

В конце гидрологической зимы подо льдом биомасса водорослей была невысока, наибольшие ее значения зарегистрированы в поверхностном слое толщи воды и соответствовали значениям апреля 1968 г. [3], но были ниже по сравнению с данными 2002 и 2003 гг. [11] и выше по сравнению с таковыми 2009 г. [11] и 2013 г. [2]. При этом основную долю в ФП составляли вымываемые из льда ледово-пелагические диатомовые водоросли, такие как *Pauliella taeniata*, *Fragilariopsis* cf. *oceanica*,

Fragilariopsis cylindrus и др., и динофлагеллята *Peridiniella catenata*. Как было отмечено нами при исследовании динамики подледного ФП [10], периодические потепления воздуха, очевидно, вызывали более сильное вымывание ледовых водорослей, доминирующих на данный момент во льду, и значительное, но непродолжительное увеличение за счет этого биомассы подледного ФП. Так происходило 25 марта с доминированием *P. taeniata* в наших исследованиях и, по-видимому, в конце апреля 2013 г. с преобладанием *F. oceanica* и *Pseudonitzschia seriata* [2]. По мере увеличения длины светового дня и температуры воздуха к вымываемым ледовым водорослям присоединялись планктонные центрические диатомовые водоросли и динофлагелляты. Состав доминирующих видов в конце гидрологической зимы был характерен для ФП Кандалакшского залива Белого моря [11].

Сразу после схода ледового покрова в начале мая развилось весеннее цветение ФП [10]. Сопоставление полученных данных с результатами предыдущих исследований [3, 4] показывает, что сроки схода льда и достижения наибольшей биомассы ФП в губе Чупа смещаются в пределах 2–3 нед. и отмечаются, как правило, в мае. Сроки схода льда определяются метеорологическими условиями и после относительно «теплых» зим, какой и была зима 2016–2017 гг., освобождение водной поверхности ото льда происходит раньше, чем после «холодных» (например, 1968 г.). Для этой акватории моря характерна сильная межгодовая изменчивость состава доминирующих форм ФП. В период наших исследований не отмечено преобладания наиболее массовых в другие годы форм диатомей *Navicula septentrionalis*, *Chaetoceros fragilis*, *C. karyanus*, и *C. socialis* [3–5], эвгленовых водорослей *Eutreptiella braarudii*, *E. gymnastica* и динофлагелляты *Heterocapsa rotundata* [2]. Доминировавший в 2017 г. вид *P. taeniata* в планктоне в 1966–1968 гг. не отмечался [3, 4]. Следует также отметить существенный вклад динофлагеллят в весеннее цветение в эстуарии Чупа в 2017 г. Высокое обилие динофлагеллят в планктоне в период весеннего цветения, более высокое обилие голых форм по сравнению с панцирными также отмечены и в других исследованиях в арктических морях [13, 14]. Ряд исследований показал, что гетеротрофные динофлагелляты, особенно атекатные, быстрее, чем мезозoopланктон, реагируют на эпизодические пики развития диатомовых водорослей [15] и доминируют в микрзоопланктоне в период весеннего цветения [14].

После схода ледового покрова за счет прогрева поверхностного слоя шло увеличение степени стратификации моря. Динамика ФП проявляла направленный характер, соответствующий наблюдениям в других арктических районах, не подверженных существенному влиянию пресноводного стока [13, 16]. По мере снижения биомассы ледово-нери-

тических пеннатных диатомей в структуре ФП заметнее проявлялась роль планктонных центрических. Параллельно отмечено увеличение вклада в *B* крупных (≥ 31 мкм) неидентифицированных голых гетеротрофных динофлагеллят. В этот период в ФП впервые для Белого моря обнаружена миксотрофная диктиоховая водоросль *Pseudopedinella pyriformis*, которая начала доминировать в ФП в начале июня. Ранее этот вид встречали во время весеннего цветения в Северном море [17]. После схода льда в планктоне появилась примнезиофитовая водоросль *Phaeocystis* cf. *globosa*, ее неподвижная стадия. В 1998–1999 гг. и 2001–2003 гг. в Белом море регистрировали *Phaeocystis pouchetii* [18, 19], однако обнаруженные нами клетки имели характерные черты именно *Phaeocystis globosa* [20].

В период гидрологического лета биомасса водорослей снизилась, в то время как численность увеличилась за счет развития нанопланктонных видов. В отличие от предыдущих исследований, когда в поверхностном горизонте максимальные значения численности [3–5] и биомассы [3] были отмечены в середине–конце июля, в 2017 г. максимум обилия зафиксирован в конце августа и превышал предыдущие значения численности в 1,7–4 раза. При этом наибольшая летняя *B* в наших исследованиях была отмечена в начале августа и соответствовала значениям более ранних наблюдений. Также отличался и видовой состав ФП летнего периода. Доминировавшие в планктоне 1966–1968 гг. и 1989 г. центрические диатомеи *Skeletonema costatum* и виды рода *Chaetoceros* в 2017 г. не давали существенного вклада ни в *N*, ни в *B* поверхностного ФП, за исключением 31 июля, когда вклад *S. costatum* составил 40%. Доминирование криптофитовых водорослей и динофлагеллят отмечали ранее в других районах Белого моря [11, 21], но преобладание празиофитовых водорослей рода *Pyramimonas* и диатомеи *Navicula perminuta* в Белом море в летний период отмечено впервые. Остальные доминанты, такие как *Thalassionema nitzschioides* и виды рода *Coscinodiscus*, входили в число доминирующих по биомассе видов и ранее [3].

В начале гидрологической осени 2017 г. *N* ФП была на 1–2 порядка выше по сравнению с предыдущими исследованиями [3, 4]. Наблюдаемый нами пик *N* в конце сентября был также отмечен только в 1967 г. [3], при этом превышал его более, чем на порядок. Несмотря на то, что пика биомассы фитопланктона в этот период в наших исследованиях не выявлено, значения биомассы несколько превышали таковые в 1967–1968 гг. [3]. При этом ранее [3]

не обнаружили в ФП заметного видового доминирования. По нашим наблюдениям, осенью преобладали разные виды криптоноад и голых динофлагеллят, которые не относились к категории массовых в годы предыдущих исследований, тогда как доминировавшие в 1966–1967 гг. *Skeletonema costatum* и виды рода *Chaetoceros* [4] совершенно отсутствовали в планктоне в осенний период 2017 г. При этом среди доминантов как в 1966 г., так и в 2017 г. встречались только виды рода *Coscinodiscus*. Т.В. Хлебович [4] также отмечала, что формы, развивающиеся осенью, заметно крупнее весенних, что не подтверждается нашими исследованиями.

Таким образом, динамика фитопланктона в губе Чупа в вегетационный период 2017 г. отличалась от таковой в 1960-е и 1980–1990-е гг. – в первую очередь, по составу доминирующих видов. Сезонное изменение абиотических и биотических факторов определяет не только изменение обилия ФП, но и динамику видового состава ФП, в том числе – доминирование тех или иных видов. Массовое развитие более мелких нанопланктонных видов, имеющих более высокую скорость метаболизма, празиофитовых и криптофитовых водорослей, растущих в условиях низкого содержания азота, динофлагеллят, способных к миксотрофному и гетеротрофному питанию, вероятно, связано с общей тенденцией уменьшения вклада крупных видов и увеличения гетеротрофной составляющей в ФП в условиях более жесткой стратификации, вызванной потеплением климата [22, 23].

Отбор проб выполнен в рамках Государственного задания Зоологического института РАН (№ 1021051402749-2). Идентификация водорослей под световым микроскопом выполнена в рамках Государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова часть 2 (тема № 121032300135-7). Работа по анализу проб в сканирующем электронном микроскопе проведена на оборудовании Центра коллективного пользования Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ. Анализ структуры фитопланктона выполнен в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды». Работа проведена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bindoff N.L., Cheung W.W.L., Kairo J.G. et al. Changing ocean, marine ecosystems, and dependent communities // IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate / Eds. H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, V. Masson-Delmotte, P. Zhai, M. Tignor, E. Poloczanska,

K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Nicolai, A. Okem, J. Petzold, B. Rama, and N.M. Weyer. IPCC, 2019. P. 447–587.

2. Bakhmet I., Sazhin A., Maximovich N., Ekimov D. In situ long-term monitoring of cardiac activity of two bivalve species from the White Sea, the blue mussel *Mytilus edulis*

and horse mussel *Modiolus modiolus* // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2019. Vol. 99. N 4. P. 833–840.

3. Кокин К.А., Кольцова Т.И., Хлебович Т.В. Состав и динамика фитопланктона Карельского побережья Белого моря // Бот. журн. 1970. Т. 55. № 4. С. 499–509.

4. Хлебович Т.В. Качественный состав и сезонные изменения численности фитопланктона в губе Чупа Белого моря // Сезонные явления в жизни Белого и Баренцева морей / Под ред. В.В. Хлебовича. Л.: Наука, 1974. С. 56–64.

5. Гогорев Р.М. Сезонные изменения фитопланктона губы Чупа Белого моря // Новости систем. низш. раст. 2005. Т. 38. С. 38–47.

6. Poole H.H., Atkins W.R.G. Photoelectric measures of submarine illumination throughout the year // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 1929. Vol. 16. N 1. P. 297–324.

7. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase [Электронный ресурс] // World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. 2022. URL: <http://www.algae-base.org> (дата обращения: 30.01.2022).

8. Menden-Deuer S., Lessard E.J. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton // Limnol. Oceanogr. 2000. Vol. 45. N 3. P. 569–579.

9. Usov N.V., Khaitov V.M., Kutcheva I.P., Martynova D.M. Phenological responses of the Arctic, ubiquitous, and boreal copepod species to long-term changes in the annual seasonality of the water temperature in the White Sea // Polar. Biol. 2021. Vol. 44. N 5. P. 959–976.

10. Radchenko I., Smirnov V., Ilyash L., Sukhotin A. Phytoplankton dynamics in a subarctic fjord during the under-ice–open water transition // Mar. Environ. Res. 2021. Vol. 164: 105242.

11. Ilyash L.V., Belevich T.A., Zhitina L.S., Radchenko I.G., Ratkova T.N. Phytoplankton of the White sea // The handbook of environmental chemistry, vol. 81 / Eds. D. Barceló and A.G. Kostianoy. Berlin; Heidelberg: Springer, 2018. P. 187–222.

12. Ardyna M., Mundy C.J., Mills M.M., et al. Environmental drivers of under-ice phytoplankton bloom dynamics in the Arctic Ocean // Elem. Sci. Anth. 2020. Vol. 8: 30.

13. Hodal H., Falk-Petersen S., Hop H., Kristiansen S., Reigstad M. Spring bloom dynamics in Kongsfjorden, Sval-

bard: nutrients, phytoplankton, protozoans and primary production // Polar Biol. 2012. Vol. 35. N 2. P. 191–203.

14. Menden-Deuer S., Lawrence C., Franzè G. Herbivorous protist growth and grazing rates at *in situ* and artificially elevated temperatures during an Arctic phytoplankton spring bloom // PeerJ. 2018. 6: e5264.

15. Levinsen H., Nielsen T.G. The trophic role of marine pelagic ciliates and heterotrophic dinoflagellates in arctic and temperate coastal ecosystems: a cross-latitude comparison // Limnol. Oceanogr. 2002. Vol. 47. N 2. P. 427–439.

16. von Quillfeldt C. Common diatom species in Arctic spring blooms: Their distribution and abundance // Botanica Marina. 2000. Vol. 43. N 6. P. 499–516.

17. Tiselius P., Kuylensstierna M. Growth and decline of a diatom spring bloom: Phytoplankton species composition, formation of marine snow and the role of heterotrophic dinoflagellates // J. Plankton Res. 1996. Vol. 18. N 2. P. 133–155.

18. Ratkova T.N. Phytoplankton composition in the White Sea Basin in summer–autumn 1998 and 1999 // Ber. Polarforsch. 2000. Vol. 359. P. 97–109.

19. Ratkova T.N., Wassmann P. Sea ice algae in the White and Barents seas: composition and origin // Polar Res. 2005. Vol. 24. N 1–2. P. 95–110.

20. Kraberg A., Baumann M., Durselen C.D. Coastal phytoplankton photo guide for northern European seas. München: Pfeil, Dr. Friedrich, 2010. 204 pp.

21. Ilyash L.V., Zhitina L.S., Belevich T.A., Shevchenko V.P., Kravchishina M.D., Pantyulin A.N., Tolstikov A.V., Chultsova A.L. Spatial distribution of the phytoplankton in the White sea during atypical domination of dinoflagellates (July 2009) // Oceanology. 2016. Vol. 56. N 3. P. 372–381.

22. Mousing E.A., Ellegaard M., Richardson K. Global patterns in phytoplankton community size structure – evidence for a direct temperature effect // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2014. Vol. 497. P. 25–38.

23. Ardyna M., Arrigo K.R. Phytoplankton dynamics in a changing Arctic Ocean // Nat. Clim. Chang. 2020. Vol. 10. N 10. P. 892–903.

Поступила в редакцию 05.12.2021

После доработки 31.01.2022

Принята в печать 15.02.2022

RESEARCH ARTICLE

Seasonal dynamics of phytoplankton in Chupa inlet (White Sea, Kandalaksha Bay)

I.G. Radchenko^{1,*} , V.V. Smirnov² , N.V. Usov² , A.A. Sukhotin² 

¹Department of General Ecology and Hydrobiology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

²“Kartesh” White Sea Biological Station, Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, Universitetskaya nab. 1, Saint-Petersburg, 199034, Russia

*e-mail: iraradchenko@yandex.ru

For the first time since 1994, in March–November 2017, the dynamics of the structure and abundance of phytoplankton was studied at different depths in the White Sea. The abundance of algae varied from $3.8 \cdot 10^6$ to $3.519 \cdot 10^6$ cells/m³. Phytoplankton biomass ranged from 0.2 to 90 mg C/m³ and, with some exceptions, was the highest in the surface layer of the water column (0–5 m). The algal abundance and biomass integrated throughout the water column varied from

0.2·10⁹ to 68.5·10⁹ cells/m² and 0.01 to 1.38 g C/m², respectively. Two peaks of phytoplankton biomass were identified – in early May after the ice removal and in early September. The summer peak of biomass recorded by previous studies in the surface layers in July has not been observed, which was caused by the dominance of smaller nanoplankton prasinophyte and cryptophyte algae and dinoflagellates. The change of dominant species may be related to the general tendency of decrease of the contribution of large species and increase of the heterotrophic component in phytoplankton in conditions of more pronounced stratification of the water column caused by the climate warming.

Keywords: *White Sea, Subarctic, seasonal dynamics, phytoplankton, abundance, biomass, dominant species, climate warming*

Funding: Sampling was carried out within the framework of the State Task # 1021051402749-2 to the Zoological Institute of Russian Academy of Sciences. Identification of algae by a light microscope was performed within the framework of the State Task of Moscow State University, part 2 (topic № 121032300135-7). The analysis of samples by a scanning electron microscope was performed at the equipment of the User Facilities Center of M.V. Lomonosov Moscow State University with the financial support from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation. The analysis of the phytoplankton structure was carried out within the framework of the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Lomonosov Moscow State University “The Future of the planet and global environmental changes”.

Сведения об авторах

Радченко Ирина Георгиевна – канд. биол. наук, доц. кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-91; e-mail: iraradchenko@yandex.ru

Смирнов Вячеслав Валерьевич – мл. науч. сотр. Беломорской биологической станции «Картеш» Зоологического института РАН. Тел.: 8-812-714-00-97; e-mail: electroniq.ape@gmail.com

Усов Николай Викторович – канд. биол. наук, науч. сотр. Беломорской биологической станции «Картеш» Зоологического института РАН. Тел.: 8-812-714-00-97; e-mail: nikolay.usov@gmail.com

Сухотин Алексей Александрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотр., зав. Беломорской биологической станции «Картеш» Зоологического института РАН. Тел.: 8-812-714-00-97; e-mail: alexey.sukhotin@zin.ru

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал «Вестник Московского университета. Серия 16. Биология» является научным изданием биологического факультета Московского университета имени М.В. Ломоносова. Статьи и материалы, публикуемые в журнале, затрагивают самые разные разделы современной биологии, но обязательно в фундаментальном аспекте. К печати принимаются только комплексные работы, представляющие собой завершённые исследования или проблемные теоретические обзоры.

«Вестник Московского университета. Серия 16. Биология» входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук. Он также публикуется американской компанией «Pleiades Publishing Group» на английском языке под названием «Moscow University Biological Sciences Bulletin». Оба издания синхронны и выходят четыре раза в год. Русская версия журнала индексируется в базах данных РИНЦ, ВИНТИ, EastView, RSCI на платформе Web of Science, английская – в Scopus, SCImago, EBSCO Discovery Service, OCLC WorldCat Discovery Service, ProQuest Central, AGRICOLA, EMBiology, Institute of Scientific and Technical Information of China, Japanese Science and Technology Agency (JST), Dimensions, Google Scholar и др. Двухлетний импакт-фактор РИНЦ русскоязычной версии составляет 0,924, показатель CiteScore 2020 (Scopus) англоязычной версии – 1,3.

После принятия статьи в печать редакция высылает авторам договоры с издателем журнала, которые необходимо заполнить и подписать всем соавторам. Авторский договор вступает в силу в случае и с момента принятия статьи к публикации. Заполненные и подписанные договоры можно присылать в редакцию в отсканированном виде по электронной почте.

Общая информация

Сотрудники любых научных учреждений (как российских, так и зарубежных) могут присылать в наш журнал свои статьи, если они написаны на литературном русском языке и оформлены в соответствии с настоящими Правилами.

Все указанные в статье авторы должны нести ответственность за ее содержание. Не принимаются к печати работы, уже опубликованные или отправленные в другие издания, в связи с этим к рукописи должно прилагаться сопроводительное письмо, в котором авторы подт-верждают это. Редакция оставляет за собой право осуществлять литературное редактирование рукописей. Плата с авторов за публикацию не взимается. Работы, оформленные не по правилам или не соответствующие профилю издания, могут быть отклонены редакцией журнала без рецензирования.

Структура статьи

Статьи представляются в электронной форме в формате Word 97-2003 (*.doc) и Word 2007 (*.docx), файл со статьей должен быть назван по фамилии автора, а если авторов несколько – по фамилии первого (например, Иванов и др.doc). Форматирование: шрифт Times New Roman, кегль 12, междустрочный интервал – полусторонний, отступ – 1,25, выравнивание по ширине (для удобства к правилам прилагается [шаблон статьи](#)). Редакция рекомендует придерживаться следующего объема рукописи: до 4000 слов для экспериментальной статьи, до 7000 слов для обзорной (включая список литературы и резюме на английском языке). Объёмы, значительно отклоняющиеся от рекомендованных, необходимо согласовывать с редакцией.

На первой странице рукописи в левом верхнем углу следует указать индекс УДК, соответствующий содержанию статьи. В следующих строках приводятся: название работы (полужирным шрифтом, кегль 14), инициалы и фамилии авторов (полужирным шрифтом), наименование организации с указанием почтового адреса (курсивом), в сноске на первой странице указывается e-mail автора (отмеченного в заголовке звездочкой), ответственного за переписку с редакцией. После информации о местах работы следуют резюме статьи на русском языке (150–300 слов) и ключевые слова (6–7 слов или словосочетаний, курсивом).

Образец оформления «шапки» статьи:

УДК 577.29

Эволюция представлений о патогенезе болезни Альцгеймера

Н.А. Стефанова¹, Н.Г. Колосова^{1,2,*}

¹ Сектор молекулярных механизмов старения, Институт цитологии и генетики, Сибирское отделение Российской академии наук, Россия, 630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, д. 10;

² кафедра цитологии и генетики, биологическое отделение, Новосибирский государственный университет, Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2

*e-mail: kolosova@mail.ru

Статья должна быть структурирована и включать следующие разделы: введение (слово «введение» не пишется), материалы и методы, результаты, обсуждение результатов (можно объединить с предыдущим пунктом как «результаты и обсуждение»), заключение (не отделяется от предыдущего текста и не имеет подзаголовка), список

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 16. БИОЛОГИЯ. 2022. Т. 77. № 1

литературы. Названия разделов печатаются с заглавной буквы без точки в конце (полужирным шрифтом), слова «список литературы» набираются заглавными буквами (обычный шрифт). Произвольная структура допустима для теоретических и обзорных статей, но они также должны содержать резюме и ключевые слова. Страницы публикации должны быть пронумерованы (расположение – нижний колонтитул, середина страницы).

Информация о финансировании работы приводится перед списком литературы в следующей формулировке: «Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 00-00-00000)».

Кроме того, также перед списком литературы авторы должны сообщить о наличии или отсутствии конфликта интересов и указать, каким этическим советом утверждены протоколы исследования, если эксперименты проводились с использованием животных или с привлечением людей в качестве испытуемых.

После списка литературы размещается фраза «Поступила в редакцию...», где указывается дата отправки рукописи.

Далее на отдельной странице на английском языке печатаются заглавие, инициалы и фамилии авторов, названия организаций с адресами и e-mail автора, ответственного за переписку, резюме и ключевые слова (полный перевод русской версии, форматирование такое же, как и в «шапке» статьи).

Образец оформления англоязычной «шапки» статьи:

Evolution of understanding of Alzheimer's disease pathogenesis

N.A. Stefanova¹, N.G. Kolosova^{1,2,*}

¹*Sector of Molecular Mechanisms of Aging, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Lavrentyeva pr. 10, Novosibirsk, 630090, Russia;*

²*Chair of Cytology and Genetics, Department of Natural Sciences, Novosibirsk State University, Pirogova ul. 2, Novosibirsk, 630090, Russia*

**e-mail: kolosova@mail.ru*

После ключевых слов приводится информация о финансировании работы (Funding) на английском языке:

Funding: The research was funded by Russian Foundation for Basic Research, project number 00-00-00000. (This study was performed under the state assignment of Moscow State University, project number AAAA-A00-000000000000-0).

На последней странице приводятся сведения об авторах: фамилия, имя и отчество полностью (курсивом), научная степень, должность, место работы, рабочий телефон (с кодами страны и города), e-mail.

Образец:

Иванов Иван Иванович – канд. (докт.) биол. (мед.) наук, ст. (мл.) науч. сотр., (доц., проф.) кафедры..... биологического факультета МГУ. Тел.:8-495-939-...-...; e-mail:...

Таблицы и рисунки

Число таблиц и рисунков не должно быть избыточным (рекомендуется приводить не более трех единиц суммарно, каждая не более половины листа А4). Не допускается представление одних и тех же материалов в табличной и графической формах, предпочтение отдается рисункам. Подписи к рисункам и фотографиям, содержащие расшифровку условных обозначений, приводятся не на самих иллюстрациях, а на отдельной странице в конце рукописи (после сведений об авторах). Они должны быть информативными и понятными без прочтения статьи. Рисунки и таблицы должны иметь порядковый номер, который указывается при ссылке на них в тексте статьи (пример: рис. 1, табл. 2). Если в статье только один рисунок (или одна таблица), то слово «рисунок» («таблица») при ссылке на него в тексте не сокращается и не нумеруется.

Графические иллюстрации и фотографии представляются в формате TIFF в виде отдельных файлов, другие форматы не принимаются. Файлам с рисунками присваивают такое же название, как и файлу статьи, при этом добавляют слово «рис» и порядковый номер (если рисунков несколько). Не допускается вставка рисунков, фотографий и таблиц в основной текст. Пиксельное реальное (не интерполированное!) разрешение фотографий должно обеспечивать ясность всех деталей (не менее 300 точек на дюйм). Иллюстрации могут быть цветными, однако необходимо учитывать, что цвет будет сохранен лишь в электронной версии статьи, но не в печатной. В связи с этим необходимо подобрать цвета таким образом, чтобы при переводе рисунка в оттенки серого его смысл не терялся и все элементы были различимы.

Таблицы печатаются на отдельных страницах после сведений об авторах.

Список литературы

Мы рекомендуем авторам придерживаться осмысленного соотношения объемов текста статьи и приставленного списка литературы. Как правило, список литературы должен занимать от 20 до 40% общего объема рукописи.

Желательно, чтобы список литературы состоял преимущественно из ссылок на научные статьи, в основном – напечатанные в последнее десятилетие (в некоторых областях биологии допустимы отклонения от этого правила, которые необходимо согласовывать с редакцией). Ссылки на все остальные варианты публикаций следует свести к минимуму.

В тексте ссылка на цитируемый источник приводится в квадратных скобках с указанием ее порядкового номера. При наличии нескольких источников они перечисляются в порядке возрастания номеров через запятую, например: [3, 5, 8], а если номера идут подряд, то через тире [3–7]. Фамилии иностранных авторов приводятся в тексте статьи на русском языке, например, «...что соответствует выводам Смита [19]».

Ссылки в списке литературы оформляются следующим образом:

1) **Статья в журнале.** Авторы (инициалы после фамилии). Название статьи // Журнал. Год. Том (Т. или Vol.). Номер (N или №). Страницы.

2) **Книга.** Авторы (инициалы после фамилии). Название. Город: Издательство (без кавычек), год. Общее количество страниц.

3) **Статья в сборнике.** Авторы (инициалы после фамилии). Название статьи // Название сборника / Под ред. (Eds.) Инициалы и фамилия (если редактора два, то между ними ставится и/and). Город: Издательство (без кавычек), год. Страницы.

4) **Электронный ресурс.** Название сайта [Электронный ресурс]. Год. Дата обновления (если есть): дд.мм.гггг. URL: <http://www...> (дата обращения: дд.мм.гггг). *Дата обращения – это дата последнего посещения сайта, она обязательно должна быть указана.*

5) **Электронная публикация.** Авторы (инициалы после фамилии). Название публикации [Электронный ресурс] // Название источника. Год. URL: <http://www...> (дата обращения: дд.мм.гггг).

Если авторов больше 15, то приводятся только фамилии и инициалы первых трех (*Сидоров С.С., Иванов И.И., Петров П.П. и др.; Smith A., Jones J., Brown R., et al.*). При указании журнала следует приводить его принятое сокращенное название (Бюллетень МОИП – Бюл. МОИП, Journal of Biochemistry – J. Biochem. и т.п.), то же касается и городов (Москва – М., New York – N.Y. и т.д.). Допустимо использовать ссылку на электронную публикацию только в том случае, если статья не издавалась в бумажном виде.

Примеры оформления источников в списке литературы:

Статья в журнале:

Litchfield K., Reading J.L., Puttick C., Thakkar K., Abbosh C., Bentham R., Watkins T.B., Rosenthal R., Biswas D., Rowan A., Lim E. Meta-analysis of tumor- and T cell-intrinsic mechanisms of sensitization to checkpoint inhibition // Cell. 2021. Vol. 184. N 3. P. 596–614.

Marchena M., Echebarria B. Influence of the tubular network on the characteristics of calcium transients in cardiac myocytes // PloS One. 2020. Vol. 15. N 4: e0231056.

Гребенкин И.В., Алексеенко А.Е., Гайворонский Н.А., Игнатов М.Г., Казённов А.М., Козаков Д.В., Кулагин А.П., Холодов Я.А. Применение ансамбля нейросетей и методов статистической механики для предсказания связывания пептида с главным комплексом гистосовместимости // Комп. исслед. моделир. 2020. Т. 12. № 6. С. 1383–1395.

Книга:

Holliday R. Aging: the paradox of life. Why we age. Dordrecht: Springer, 2007. 134 pp.

Рязанова Г.И. Поведение насекомых. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2019. 232 с.

Статья в сборнике:

Mahajan M., Yadav R.K. Labeling and sorting of arabidopsis SAM cell populations to capture their transcriptome profile // Plant stem cells. Methods in molecular biology, vol. 2094 / Eds. M. Naseem and T. Dandekar. N.Y.: Humana, 2020. P. 39–47.

Храмченкова О.М., Бачура Ю.М. Альгодиагностика деградированных почв // Радиация, экология и техносфера: материалы междунар. науч. конф. (Гомель, 26–27 сент. 2013 г.) / Под ред. А.Д. Наумова. Минск: Ин-т Радиологии, 2013. С. 174–176.

Электронный ресурс:

Senescence.info [Электронный ресурс]. 1997. Дата обновления: 18.08.1989. URL: <http://www.senescence.info> (дата обращения: 11.03.2021).

Официальный сайт ЮНЕСКО [Электронный ресурс]. 2009. URL: <http://www.unesco.org> (дата обращения: 15.02.2021).

Электронная публикация:

Bizzarro J.J. Slatyspotted guitarfish (*Rhinobatos glaucostigma*) [Электронный ресурс] // IUCN Red List of Threatened Species. 2009. URL: <http://www.iucnredlist.org> (дата обращения: 10.02.2022).

Ссылки на неопубликованные или находящиеся в печати работы не допускаются.

При цитировании статей, опубликованных в российских журналах и при этом имеющих переводные версии на английском языке, желательно указывать выходные данные англоязычных версий. Это позволит избежать проблем при переводе списков литературы.

Дополнительные правила оформления

Все размерности физических величин должны соответствовать Международной системе единиц (СИ), например: м – метр, кг – килограмм, мин – минута, ° – градус и т.д. Все сокращения размерностей и величин приводятся по ГОСТу. В десятичных дробях целая часть от дробной отделяется запятой. В тексте можно использовать только прямые кавычки. Цифры до десяти включительно пишутся словами. Знак процента (%) не отделяется от цифры пробелом, например, 50%. Между цифрами всегда ставится тире без пробелов, например, 1–3 км, 50–120 мкл и т.п.

Химические соединения следует указывать согласно номенклатуре, рекомендуемой ИЮПАК (1979 г.). Вместо названий простых веществ допускается использование их формулы, например, хлорид натрия – NaCl, углекислый газ – CO₂ и т.д. Разрешается пользоваться общепринятыми аббревиатурами наиболее часто используемых соединений. К ним относятся: нуклеотиды, нуклеиновые кислоты, аминокислоты (например, аденозинтрифосфорная кислота – АТФ, дезоксирибонуклеиновая кислота – ДНК, аргинин – Арг, валин – Вал). Все прочие нестандартные сокращения должны быть пояснены в тексте при первом упоминании.

Названия генов пишутся курсивом, их продуктов – обычным шрифтом. Например: ген – *FOXO3*, его продукт – FOXO3.

При наличии в тексте русских названий представителей различных царств живых организмов обязательно должны быть указаны соответствующие латинские названия (род, вид), желательно пользоваться Международными кодексами номенклатуры (Международный кодекс ботанической номенклатуры, Международный кодекс номенклатуры бактерий и т.д.). Курсивом выделяются только родовые, видовые и подвидовые названия.

Например: ... два вида кузнечиков подсемейства мечников (Tettigoniidae, Conocephalinae): мечник обыкновенный *Conocephalus fuscus* (Fabr.) (= *discolor* Thunb.) и мечник короткокрылый *C. dorsalis* (Latr.)...

Подготовка к печати

Рукопись, присланная автором, проверяется на соответствие правилам оформления. Если работа не соответствует требованиям, то она возвращается автору без рецензирования. Правильно оформленные статьи поступают на рецензию. После рецензирования рукописи, при необходимости, отправляются авторам на доработку и исправление ошибок. Исправленный вариант статьи должен быть возвращен в редакцию не позднее, чем через 7–10 дней, вместе с подробным ответом на все замечания рецензентов. Если автор присылает исправленный вариант позднее указанного срока, статья рассматривается как вновь поступившая. Далее над рукописью работает редактор, исправленный текст и его замечания отсылаются авторам на 2–3 рабочих дня.

Корректуры (русско- и англоязычная) статей направляются авторам также на 2–3 рабочих дня, в течение которых необходимо тщательно проверить текст, рисунки, таблицы и т.д., внося в гранки необходимую правку. В случае англоязычной корректуры желательно уделить особое внимание специальным терминам, которые могут быть неправильно интерпретированы переводчиками. Приветствуется практика публикации в английской версии авторских переводов статей.

Полезные ссылки

Список сокращённых названий журналов можно найти [здесь](#)

Классификатор УДК располагается [здесь](#)

О том, как правильно сокращать общепринятые термины, можно прочитать [здесь](#)