



УДК 581.11:577.112.853.085.2:582.32(99+476)

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ568187>

ГЕМОСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO* ЛЕКТИН-СОДЕРЖАЩИХ СУБСТАНЦИЙ МОХООБРАЗНЫХ НА ПРИМЕРЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ АНТАРКТИКИ И БЕЛАРУСИ

О.Л. Канделинская¹, Е.Р. Грищенко¹, Д.В. Григорьева², И.В. Горудко², Д.В. Горецкий¹,
Э.В. Дашкевич³, Ж.В. Пешняк³, Н.А. Бухвальд³, О.М. Масловский¹, И.П. Сысой¹,
Ю.Г. Гигиняк⁴, Е.В. Корзун⁴, В.А. Костевич^{5, 6}, М.П. Андреев⁷, Л.Е. Курбатова⁷

¹ Институт экспериментальной ботаники Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь;

² Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь;

³ Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий
Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Минск, Беларусь;

⁴ Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам, Минск, Беларусь;

⁵ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

⁶ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия;

⁷ Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Канделинская О.Л., Грищенко Е.Р., Григорьева Д.В., Горудко И.В., Горецкий Д.В., Дашкевич Э.В., Пешняк Ж.В., Бухвальд Н.А., Масловский О.М., Сысой И.П., Гигиняк Ю.Г., Корзун Е.В., Костевич В.А., Андреев М.П., Курбатова Л.Е. Гемостатическая активность *in vitro* лектин-содержащих субстанций мохообразных на примере некоторых представителей Антарктики и Беларуси // Медицинский академический журнал. 2023. Т. 23. № 3. С. 5–20. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ568187>

Рукопись получена: 09.08.2023

Рукопись одобрена: 02.10.2023

Опубликована: 30.11.2023

Обоснование. Современный рынок изделий медицинского назначения Беларуси и России представлен широкой линейкой гемостатических средств, из которых наиболее востребованными признаны местные гемостатики растительного происхождения, обладающие значительным технологическим потенциалом для обновления и совершенствования. Перспективным резервом для этого могут быть биологически активные соединения мхов, которые характеризуются противовоспалительным, антибактериальным и антифунгальным действием. Однако их гемостатический эффект почти не изучен, что определяет актуальность настоящей работы.

Цель — изучение влияния лектин-содержащих субстанций мхов трех видов, собранных в восточной Антарктике и в Беларуси, на показатели гемостаза крови человека *in vitro*.

Материалы и методы. Исследовали мхи родов *Bryum*, *Ceratodon* и *Coscinodon*, собранные в Беларуси и в районе Белорусской антарктической станции Гора Вечерняя в восточной Антарктике. Лектин-содержащие субстанции мхов получали посредством экстракции побегов в 0,05 моль трис-НСI буфере (рН 8,0), центрифугирования и фильтрации. Оценку биологической активности лектин-содержащих субстанций мхов проводили по реакции агглютинации кроличьих эритроцитов, а также по влиянию на агрегацию тромбоцитов человека и в тесте на активированное парциальное тромбопластиновое время.

Результаты. Установлено, что лектин-содержащие субстанции исследуемых видов мхов обладали агглютинирующей активностью в отношении эритроцитов в диапазоне от 11708,28 (белорусские образцы) до 1333979,59 Ед на 1 мг белка (антарктические образцы) в зависимости от вида и локализации; инициировали агрегацию тромбоцитов человека (25–80 % от эффекта тромбина) независимо от группы крови, резуса и пола доноров; оказывали влияние на плазменное звено гемостаза, снижая активированное парциальное тромбопластиновое время на 15–18 %.

Заключение. Некоторые виды мхов родов *Bryum*, *Ceratodon* и *Coscinodon* Антарктики и Беларуси оказывали агглютинирующее и гемостатическое действие в отношении эритроцитов и тромбоцитов, причем наибольшая активность отмечена для антарктических видов. Высказана гипотеза, согласно которой наблюдаемый феномен обусловлен особенностями структуры белков, в том числе лектинов. Предполагается, что возможными индукторами агглютинации эритроцитов и агрегации тромбоцитов в составе мхов являются лектины. Показано, что виды мхов *Bryum pseudotriquetrum* и *Ceratodon purpureus* имеют определенный ресурсный потенциал в Беларуси для их ежегодной заготовки. Полученные результаты расширяют перечень видов мхов с гемостатической активностью и могут быть использованы для разработки новых гемостатиков растительного происхождения локального применения.

Ключевые слова: лектины; эритроциты; агрегация; тромбоциты; тромбин; АПТВ-тест; роды мхов *Bryum*, *Ceratodon* и *Coscinodon* Антарктики и Беларуси; ресурсный потенциал.

Список сокращений

АПТВ — активированное парциальное тромбопластиновое время; ЛСС — лектин-содержащие субстанции.

HEMOSTATIC ACTIVITY *IN VITRO* OF LECTIN-CONTAINING SUBSTANCES OF BRYATHYPES ON THE EXAMPLE OF SOME ANTARCTIC AND BELARUS REPRESENTATIVES

Olga L. Kandelinskaya¹, Helena R. Grischenko¹, Daria V. Grigorieva², Irina V. Gorudko², Dmitry V. Goretsky¹, Eleonora V. Dashkevich³, Janna V. Peshnyak³, Natallia A. Bukhvald³, Oleg M. Maslovsky¹, Irina P. Sysoi¹, Yury G. Hihiniak⁴, Egor V. Korzun⁴, Valeria A. Kostevich^{5, 6}, Mikhail P. Andreev⁷, Lyubov E. Kurbatova⁷

¹ Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus;

² Belarusian State University, Minsk, Belarus;

³ Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies of the Ministry of Health of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus;

⁴ Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources, Minsk, Belarus;

⁵ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

⁶ Academician Yu.M. Lopukhin Federal Scientific and Clinical Center for Physical and Chemical Medicine of the Federal Biomedical Agency, Moscow, Russia;

⁷ V.L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kandelinskaya OL, Grischenko HR, Grigorieva DV, Gorudko IV, Goretsky DV, Dashkevich EV, Peshnyak JV, Bukhvald NA, Maslovsky OM, Sysoi IP, Hihiniak YuG, Korzun EV, Kostevich VA, Andreev MP, Kurbatova LE. Hemostatic activity *in vitro* of lectin-containing substances of bryathypes on the example of some Antarctic and Belarus representatives. *Medical Academic Journal*. 2023;23(3):5–20. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ568187>

Received: 09.08.2023

Accepted: 02.10.2023

Published: 30.11.2023

BACKGROUND: The modern market of medical devices in Belarus and Russia is represented by a wide range of hemostatic agents, of which the most popular are local hemostatics of plant origin possessing the significant technological potential for renewal and improvement. A promising reserve for this may be biologically active compounds of mosses, which are characterized by anti-inflammatory, antibacterial and antifungal effects. However, their hemostatic effect is almost not studied, which determines the relevance of this work.

AIM: The aim of this work is to study the effect of lectin-containing substances from mosses of three species collected in East Antarctica and Belarus on the parameters of human blood hemostasis *in vitro*.

MATERIALS AND METHODS: We studied mosses of the genera *Bryum*, *Ceratodon*, and *Coscinodon*, collected in the area of the Belarusian Antarctic station Gora Vechernyaya in East Antarctica and in Belarus. Lectin-containing substances of mosses were obtained by extracting shoots in 0.05 M tris-HCl buffer (pH 8.0), centrifugation, filtration. The assessment of the biological activity of lectin-containing substances in mosses was carried out by the agglutination reaction of rabbit erythrocytes, as well as the effect on human platelet aggregation and in the test for activated partial thromboplastin time.

RESULTS: It was established that lectin-containing substances of the studied moss species had agglutinating activity against erythrocytes in the range from 11708.28 (Belarusian samples) to 1333979.59 U/mg of protein (Antarctic samples) depending on the species and localization; initiated the aggregation of human platelets (25–80% of the effect of thrombin) regardless of blood group, Rh and gender of donors; influenced the plasma link of hemostasis, reducing activated partial thromboplastin time (by 15–18%).

CONCLUSIONS: It was found that some species of mosses of the genera *Bryum*, *Ceratodon* and *Coscinodon* of Antarctica and Belarus had an agglutinating and hemostatic effect on erythrocytes and platelets, with the greatest activity noted for Antarctic species. A hypothesis has been put forward that the observed phenomenon is due to the structural features of proteins, including lectins. It is assumed that lectins are possible inducers of erythrocyte agglutination and platelet aggregation in mosses. It is shown that the moss species *Bryum pseudotriquetrum* and *Ceratodon purpureus* have a certain resource potential in Belarus for their annual harvest. The results obtained expand the list of moss species with hemostatic activity, and can be used to develop new hemostatics of plant origin for local use from Belarusian plant materials.

Keywords: lectins; erythrocytes; aggregation; platelets; thrombin; APTT-test; the moss genera *Bryum*, *Ceratodon*, and *Coscinodon* of Antarctica and Belarus; resource potential.

Обоснование

Среди разнообразных гемостатических средств местного применения, представленных на рынке изделий медицинского назначения в Беларуси и России, весьма востребованы местные гемостатики природного происхождения, в частности, на основе полисахаридов (поли-N-ацетилглюкозамина из морских водорослей, хитозана из ракообразных; производных целлюлозы и амилопектина). Каждый из них не универсален, однако обладает значительным технологическим потенциалом обновления и совершенствования [1–3].

В подобном контексте одним из подходов при создании новых локальных гемостатиков растительного происхождения может быть использование биологически активных соединений мохообразных (*Bryophyta*), которые все еще остаются малоизученной группой высших растений в фармакогностическом, фитохимическом и биохимическом контекстах. Исключение составляют представители рода *Sphagnum*, которые нашли широкое применение в медицинской практике различных стран, особенно в период военных действий [4, 5].

На современном этапе отмечается всплеск интереса к мохообразным и поиску видов, перспективных для использования в медицине, благодаря противовоспалительному, антибактериальному и антифунгальному эффектам, обусловленным, как полагают, наличием полисахаридного комплекса и разнообразных вторичных метаболитов [6–10]. В единичных работах отмечен и гемостатический эффект некоторых видов мхов [6, 8], реализуемый, по мнению авторов, посредством таннинов, сапонинов и гликозидов [11–16]. Вместе с тем нельзя исключить, что в составе мхов могут присутствовать также белки лектины, характерная особенность которых — наличие в молекулах специфических углеводсвязывающих сайтов, принимающих участие в формировании белок-углеводных взаимодействий и обеспечивающих аффинное связывание с углеводными детерминантами на поверхности клеток [17, 18]. Данное обстоятельство позволяет предполагать, что лектины мхов обладают агрегантными свойствами в отношении форменных элементов крови и способны выступать в качестве агонистов, запускающих агрегацию тромбоцитов [19–24]. Однако в литературе практически отсутствуют сведения о присутствии лектинов в составе мхов, их гемостатических свойствах и влиянии исследованных видов Антарктики и Беларуси на гемостаз.

Цель настоящей работы — исследование влияния лектин-содержащих субстанций из трех

видов мхов Антарктики и двух видов мхов Беларуси на некоторые показатели гемостаза крови человека *in vitro*.

Материалы и методы

Объекты исследования — представители бриофлоры родов *Bryum* семейства *Bryaceae* Schwägr. (*Bryum pseudotriquetrum* (Hedw.) G. Gaertn, рис. 1); *Ceratodon* семейства *Ditrichaceae* Limpr. (*Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., рис. 2) и *Coscinodon* семейства *Grimmiaceae* Arn. (*Coscinodon lawianus* (J.H. Willis) Ochyra, рис. 3), собранные в Восточной Антарктиде в районе Белорусской антарктической станции Гора Вечерняя и Российской антарктической станции Прогресс.

Более подробная информация о локализации исследованных видов мхов представлена в табл. 1.

Среди мхов, представленных в табл. 1, *B. pseudotriquetrum* и *C. purpureus* — биполярные виды, космополиты, которым свойственен широкий ареал обитания во многих регионах мира, тогда как *C. lawianus* — эндемик континентальной Антарктики и встречается преимущественно в ее восточной части.

Так, *B. pseudotriquetrum* отмечен на территориях от высоких широт Арктики до субтропической зоны, а также в горах и экваториальных областях, в южном полушарии встречается на всех субантарктических островах, на

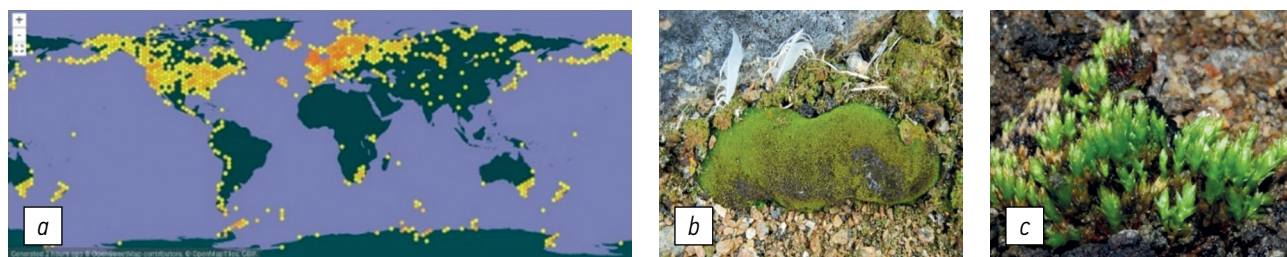


Рис. 1. Мох *Bryum pseudotriquetrum*: *a* — карта распространения (<https://www.gbif.org/species/2676867>); *b* — куртина; *c* — побеги (фотографии любезно предоставлены Л.Е. Курбатовой)

Fig. 1. Moss *Bryum pseudotriquetrum*: *a* — distribution map (<https://www.gbif.org/species/2676867>); *b* — curtain; *c* — shoots (photos courtesy of L.E. Kurbatova)

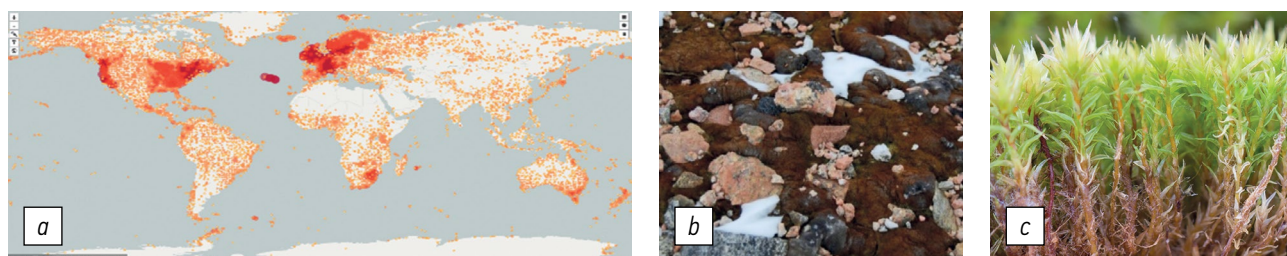


Рис. 2. Мох *Ceratodon purpureus*: *a* — карта распространения (<https://www.gbif.org/species/5281381>); *b* — сообщество на невысоких скальных выходах; *c* — побеги (фотографии Л.Е. Курбатовой)

Fig. 2. Moss *Ceratodon purpureus*: *a* — distribution map (<https://www.gbif.org/species/5281381>); *b* — network on low rocky outcrops; *c* — shoots (photographs by L.E. Kurbatova)

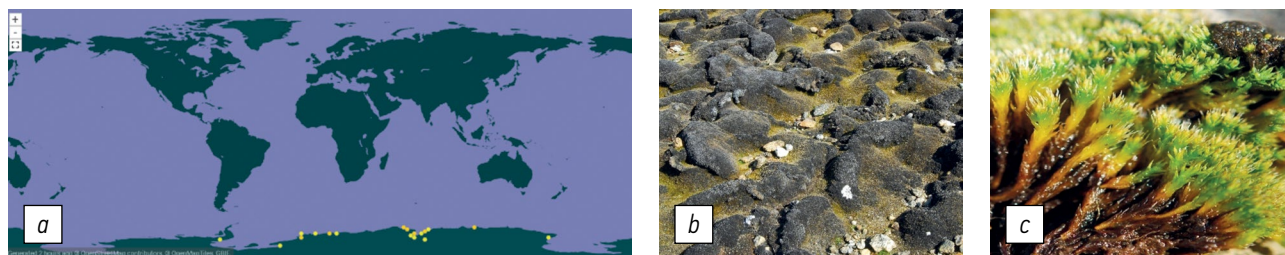


Рис. 3. Мох *Coscinodon lawianus*: *a* — карта распространения (<https://www.gbif.org/species/8124837>); *b* — дернины; *c* — побеги (фотографии Л.Е. Курбатовой)

Fig. 3. Moss *Coscinodon lawianus*: *a* — distribution map (<https://www.gbif.org/species/8124837>); *b* — sods; *c* — shoots (photographs by L.E. Kurbatova)

Таблица 1 / Table 1

Виды мхов Восточной Антарктиды и Беларуси
Moss species of East Antarctic and Belarus

№ образца	Вид	Семейство	Место сбора (коллектор)	Координаты
Континентальная восточная Антарктида				
1	<i>B. pseudotriquetrum</i>	<i>Bryaceae</i>	Восточная Антарктида, Земля Эндерби, холмы Тала, оазис Вечерний, мыс Доступный, окрестности Белорусской антарктической станции Гора Вечерняя (Е.В. Корзун)	S 67°39.269 E 46°09.330
2	<i>C. purpureus</i>	<i>Ditrichaceae</i>	Восточная Антарктида, холмы Ларсеманн, районы залива Прюдс, озера Скандретт, окрестности Российской станции Прогресс, скалы (Ю.Г. Гигиняк)	S 69°23.351 E 76°23.317
3	<i>C. lawianus</i>	<i>Grimmiaceae</i>	Восточная Антарктида, холмы Ларсеманн, районы залива Прюдс, озера Скандретт, окрестности Российской станции Прогресс (Ю.Г. Гигиняк)	S 69°23.662 E 76°22.607
Беларусь				
4	<i>B. pseudotriquetrum</i>	<i>Bryaceae</i>	Беларусь, Минская область (О.М. Масловский)	N 54°45.382 E 26°46.596
5	<i>C. purpureus</i>	<i>Ditrichaceae</i>	Беларусь, Минская область (О.Л. Канделинская)	N 53°91.601 E 27°60.271

юге Австралии, в Новой Зеландии, в Южной Америке в Чили и Аргентине, в Антарктике, это один из наиболее часто встречающихся видов в Антарктике [25].

Вид *C. purpureus* встречается на всех континентах, от полярных областей обоих полушарий до высокогорий тропиков; это один из наиболее часто встречающихся видов в Антарктике. В восточной Антарктике растет во всех прибрежных и пришельфовых оазисах, встречается в горах и на нунатаках до 83°S, на высотах до 1347 м. Вид имеет очень широкую экологическую амплитуду, растет на скальных поверхностях, в трещинах, на песке, на переувлажненном грунте, на скалах, скальных полках, на склонах морен между камней, по берегам озер и водотоков [25].

Вид *C. lawianus* — эндемик восточной Антарктиды и отмечен как в прибрежных оазисах, так и во внутренних территориях в горах

и на нунатаках до 73°S, на высотах до 2160 м. Растет на скалах в трещинах, расщелинах и кавернах, на песке на стоках со снежников и ледников, на влажных скалах по берегам водотоков. Избегает субстратов с повышенным содержанием азота, в частности, не встречается в местах расположения птичьих колоний и гнездовий [25].

Выделение лектин-содержащих субстанций (ЛСС) из мхов

Образцы мхов размораживали, очищали от механических примесей, отмывали от песка и подсушивали на фильтровальной бумаге. Для исследований использовали верхушечную часть стеблей длиной от 5 до 10 мм. Навеску мхов 0,5 г растирали в 0,05 моль трис-НСI буфере, рН 8,0, в соотношении 1 : 10 и оставляли для экстракции на ночь. Затем экстракт отжимали через капроновую ткань, фильтрат центрифугировали

при 20 000 г 20 мин. Оценку активности лектинов в надосадочной жидкости (далее ЛСС) определяли по реакции агглютинации кроличьих эритроцитов.

Анализ агглютинирующей активности ЛСС мхов. Для осуществления данного анализа использовали кровь кроликов, полученную из ушной вены здоровых особей на базе вивария Минского медицинского университета (Минск, Беларусь) в соответствии с Хельсинкской декларацией о гуманном обращении с животными 1964 г. (с изменениями и дополнениями), с Европейскими Директивами 86/609/ЕЕС от 24.11.1986, Европейской конвенцией СЕД № 123 от 18.03.1986 (с изменениями от 15.06.2006) о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, с Директивой Европейского парламента и Совета ЕС 2010/63/EU от 22.09.2010 [26, 27].

Кровь стабилизировали раствором антикоагулянта CPDA-1 в соотношении 6 : 1. Определение агглютинирующей активности ЛСС мхов проводили посредством микротитрования на иммунологических планшетах с U-образными лунками с добавлением в них 2 % суспензии эритроцитов кролика. Реакцию агглютинации проводили при комнатной температуре и результат (агглютинацию) регистрировали через 2 ч после начала титрования. Активность лектинов выражали в величинах, обратных минимальной концентрации белка, при которой отмечали реакцию геагглютинации (Ед/мг белка).

Определение содержания белка в составе ЛСС мхов. Определение концентрации белка в составе ЛСС мхов осуществляли по методу Bradford [28], в качестве стандарта для построения калибровочного графика использовали бычий сывороточный альбумин. Концентрацию белка выражали в мг/мл.

Выделение тромбина. Для выделения тромбина использовали протромбин, отделенный от церулоплазмينا с помощью аффинной хроматографии на неомицин-агарозе. α -Тромбин получали фильтрованием протромбина через колонку с агарозным гелем с иммобилизованным экарином, как описано ранее [29].

Исследование влияния ЛСС мхов на агрегацию. Для осуществления данного анализа использовали донорскую кровь различных групп, резуса и пола, полученную из Республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск, Беларусь). Кровь стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9 : 1.

Обогащенную тромбоцитами плазму получали центрифугированием крови при 150 г в течение 10 мин. Отмытые тромбоциты выделяли путем двукратного центрифугирования

обогащенной тромбоцитами плазмы при 1500 г в течение 3 мин с последующим отмыванием осадка в трис/EDTA-буфере (13,3 ммоль трис, 120 ммоль NaCl, 15,4 ммоль KCl, 6 ммоль D-глюкозы, 1,5 ммоль EDTA, pH 6,9).

Агрегацию тромбоцитов исследовали с применением анализатора агрегации AP2110 (ЗАО «Соллар», Минск, Беларусь). При исследовании тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов в кювету агрегометра вносили 50 мкл отмытых тромбоцитов и 350 мкл фосфатно-солевого буфера (10 ммоль $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, 137 ммоль NaCl, 2,7 ммоль KCl, pH 7,4), содержащего 1 ммоль CaCl_2 и 0,5 ммоль MgCl_2 , инкубировали при температуре 37 °С в течение 5 мин в отсутствие или в присутствии исследуемых веществ в необходимой концентрации, а затем добавляли тромбин (0,5 мкг/мл).

Для количественной оценки процесса агрегации тромбоцитов использовали следующие параметры: степень агрегации (T) — максимальное изменение величины светопропускания суспензии тромбоцитов при регистрации агрегации; скорость агрегации (v) — тангенс максимального угла наклона прямолинейного участка кинетической кривой.

Определение активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ-тест). Измерения проводили в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов для определения АПТВ (АПТВ-тест, производитель — РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Беларусь). Принцип работы набора реагентов заключается в определении времени свертывания плазмы при контакте с АПТВ-реагентом, содержащем контактный активатор — эллаговую кислоту, фосфолипиды и 0,277 % раствор CaCl_2 .

Для анализа использовали донорскую кровь различных групп, резуса и пола, полученную из РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск, Беларусь). Кровь стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9 : 1 и центрифугировали 15 мин при 1800 г. Полученную бестромбоцитарную плазму переносили в другую пробирку и центрифугировали повторно 15 мин при 1800 г.

Перед проведением анализа флакон с жидким АПТВ-реагентом оставляли при комнатной температуре в течение 30 мин для стабилизации. В прогретую при 37 °С пробирку, помещенную в термостат с прозрачными стенками, вносили 0,1 мл плазмы, 0,1 мл предварительно перемешанного АПТВ-реагента и инкубировали в течение 3 мин. Затем в смесь добавляли 0,1 мл 0,277 % раствора CaCl_2 , предварительно прогретого при температуре 37 °С в блоке подготовки проб. Показания регистрировали визуально по образованию первых

нитей фибринового сгустка. АПТВ выражали через индекс Ratio (R), который вычисляли по формуле: $R = \text{АПТВ}_{\text{образца}} / \text{АПТВ}_{\text{контрольной плазмы}}$. В норме $R = 0,8-1,2$. Все исследования с человеческой кровью были одобрены решением этического комитета ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (решение № 1 от 10.04.2022, Минск, Беларусь).

Статистический анализ результатов был выполнен с помощью пакета программ Origin 7.0. Данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего. Для анализа различий между средними значениями использовали *t*-критерий Стьюдента. В экспериментах по определению активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ-тест) различия между средними значениями оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни (*U*) с использованием программы Statistica v.10. (StatSoft Inc., США). Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Согласно представленным данным, ЛСС мхов восточной Антарктики и Беларуси характеризовались вариабельностью показателя агглютинирующей активности в отношении кроличьих эритроцитов в зависимости от вида и места произрастания (табл. 2). Показатель активности лектинов в составе ЛСС исследованных белорусских

Таблица 2 / Table 2

Активность лектинов в составе лектин-содержащих субстанций исследованных представителей бриофлоры восточной Антарктики и Беларуси в тест-системе на основе кроличьих эритроцитов
Lectin activity in the composition of moss lectin-containing substances in the studied representatives of the bryoflora of east Antarctica and Belarus in a test system based on rabbit erythrocytes

№ образца	Вид	Активность лектинов, Ед/мг белка
Восточная Антарктика		
1	<i>B. pseudotriquetrum</i>	482954,31 \pm 10499,01
2	<i>C. purpureus</i>	1769253,14 \pm 37643,68
3	<i>C. lawianus</i>	1333979,59 \pm 48135,84
Беларусь		
4	<i>B. pseudotriquetrum</i>	30206,49 \pm 755,16*
5	<i>C. purpureus</i>	11708,28 \pm 182,68*

*Различия между антарктическими и белорусскими образцами *B. pseudotriquetrum* ($p = 0,0000017468$) и *C. purpureus* ($p = 0,0000012589$) достоверны при $p < 0,05$.

и антарктических видов мхов находился в пределах 30206,49–482954,31 (*B. pseudotriquetrum*) и 11708,28–1769253,14 (*C. purpureus*) Ед/мг белка, причем данный показатель у белорусских образцов мхов был значительно ниже по сравнению с таковым у антарктических образцов.

Далее было исследовано влияние тестируемых ЛСС мхов на агрегацию изолированных тромбоцитов. На рис. 4 представлены типичные кинетические кривые агрегации тромбоцитов, индуцированной ЛСС антарктических мхов. Необходимо отметить, что исследуемые образцы ЛСС антарктических мхов (рис. 4, *a-c*) — сильные индукторы агрегации тромбоцитов. Их эффект был сравним с эффектом стандартного индуктора агрегации тромбоцитов — тромбина (рис. 4, *d*).

При анализе количественных показателей, характеризующих агрегацию тромбоцитов (*T* — степень агрегации, определяемая как величина светопропускания суспензии тромбоцитов по прошествии 5 мин агрегации, *v* — скорость агрегации, определяемая как величина тангенса максимального угла наклона линейного участка кинетической кривой агрегации), было установлено (рис. 5), что агрегантный эффект тестируемых ЛСС антарктических мхов составлял 25–80 % от эффекта тромбина в той же концентрации. Образцы ЛСС из мхов *B. pseudotriquetrum* и *C. lawianus* характеризовались наиболее выраженной способностью индуцировать агрегацию тромбоцитов (70–80 % от эффекта тромбина).

Интересно отметить, что способность исследуемых субстанций индуцировать агрегацию тромбоцитов не зависела ни от группы крови доноров (тромбоциты выделяли из 5 образцов О(І) группы, 5 образцов А(ІІ) группы и 1 образца В(ІІІ) группы), ни от пола донора (в работе была использована кровь 4 мужчин и 7 женщин).

Для сравнительного анализа далее было проведено исследование гемостатической активности ЛСС, выделенных из биполярных видов мхов, которые встречаются не только в Антарктике, но и в Беларуси. Таковыми являются виды *B. pseudotriquetrum* и *C. purpureus*. Как видно из данных, представленных в табл. 2, показатель активности лектинов в составе ЛСС исследованных белорусских мхов был ниже, чем в образцах ЛСС антарктических мхов (11708,28 — *C. purpureus*, 30206,49 Ед/мг белка — *B. pseudotriquetrum*).

Данный факт оказывал влияние и на способность ЛСС белорусских мхов инициировать агрегацию тромбоцитов. Так, несмотря на то, что кинетические кривые агрегации тромбоцитов под влиянием ЛСС антарктических и белорусских видов мхов были сходны, последние

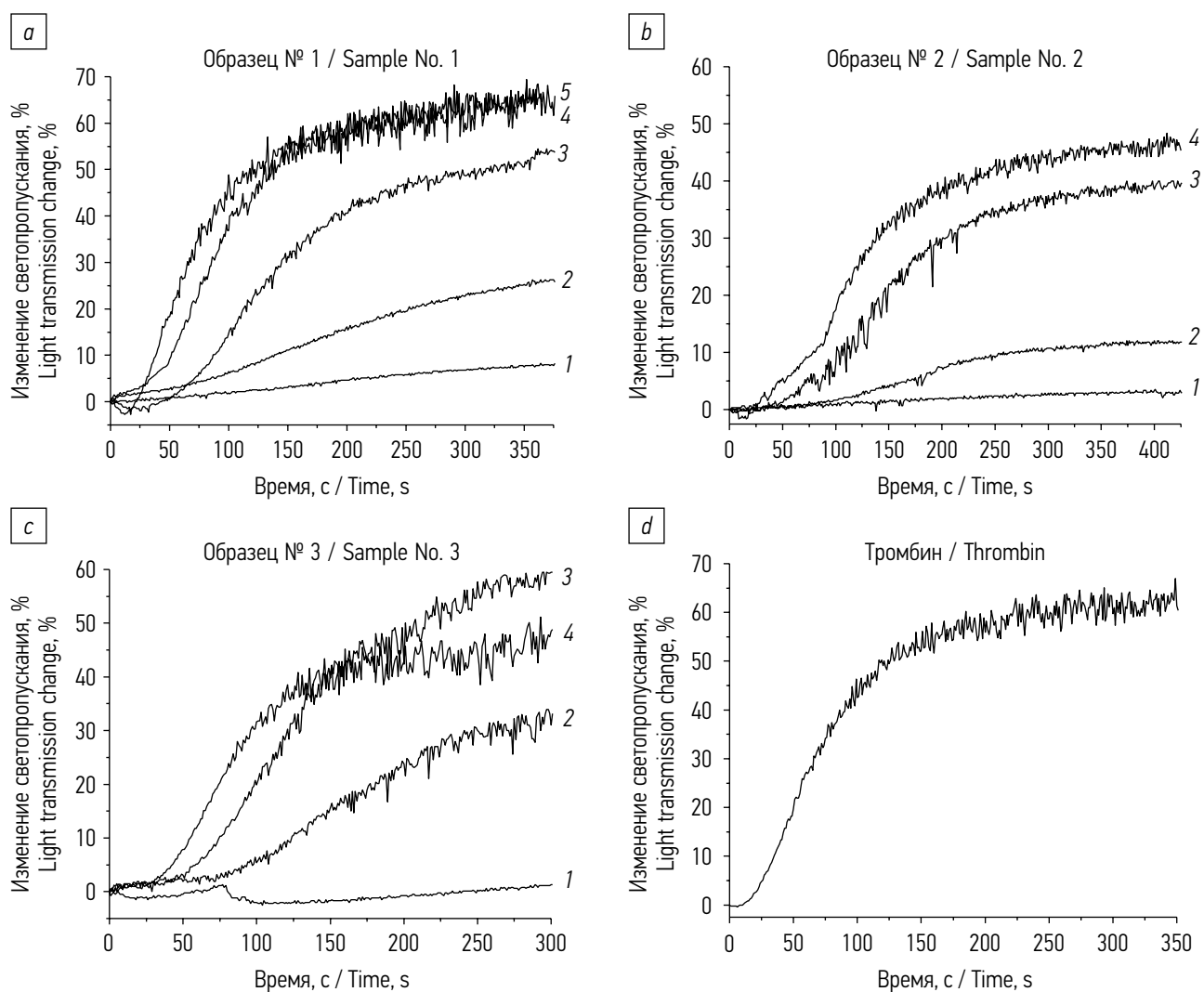


Рис. 4. Типичные кинетические кривые агрегации тромбоцитов при добавлении лектин-содержащих субстанций антарктических мхов (a–c) в различных концентрациях и тромбина (d). Тромбоциты ($2,5 \cdot 10^8$ кл/мл) в фосфатно-солевом буфере, содержащем 1 ммоль CaCl_2 , 0,5 ммоль MgCl_2 . Образец № 1 — *B. pseudotriquetrum*, № 2 — *C. purpureus*, № 3 — *C. lawianus*. Используемые концентрации на рисунке a: 1 — 0,11, 2 — 0,23, 3 — 0,57, 4 — 1,14, 5 — 2,27 мкг/мл; b: 1 — 0,18, 2 — 0,45, 3 — 0,9, 4 — 1,8 мкг/мл; c: 1 — 0,12, 2 — 0,3, 3 — 0,6, 4 — 1,2 мкг/мл; d — 0,5 мкг/мл

Fig. 4. Typical kinetic curves of platelet aggregation with the addition of Antarctic moss lectin-containing substances (a–c) at various concentrations and thrombin (d). Platelets ($2.5 \cdot 10^8$ cells/ml) in PBS containing 1 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 . Sample numbers: No. 1 — *B. pseudotriquetrum*, No. 2 — *C. purpureus*, No. 3 — *C. lawianus*. Concentrations used in figure a: 1 — 0.11, 2 — 0.23, 3 — 0.57, 4 — 1.14, 5 — 2.27 $\mu\text{g/ml}$; b: 1 — 0.18, 2 — 0.45, 3 — 0.9, 4 — 1.8 $\mu\text{g/ml}$; c: 1 — 0.12, 2 — 0.3, 3 — 0.6, 4 — 1.2 $\mu\text{g/ml}$; d — 0.5 $\mu\text{g/ml}$

регистрировались при значительно более высоких концентрациях (рис. 6).

Исходя из анализа параметров агрегации тромбоцитов (степень T , скорость ν) (рис. 7) можно сделать вывод, что образцы ЛСС мхов из Беларуси — менее сильные индукторы агрегации тромбоцитов по сравнению с ЛСС антарктических мхов.

Их эффект был сравним с эффектом стандартного индуктора агрегации тромбоцитов — тромбина (0,5 мкг/мл) в диапазоне концентраций 15–35 мкг/мл, тогда как аналогичный эффект регистрировался для ЛСС антарктических мхов в диапазоне концентраций 0,5–1,5 мкг/мл.

Мы высказываем гипотезу, согласно которой наблюдаемый феномен более высокой активности ЛСС из исследуемых видов антарктических мхов по сравнению с таковыми белорусских видов обусловлен особенностями структуры белков, в том числе лектинов, что нуждается в отдельных исследованиях. Как и в случае с антарктическими мхами, способность исследуемых ЛСС из белорусских мхов индуцировать агрегацию тромбоцитов также не зависела ни от группы крови доноров, ни от пола донора.

Далее нами было изучено влияние ЛСС мхов Антарктики на плазменный (вторичный) гемостаз и осуществлено гемостазиологическое

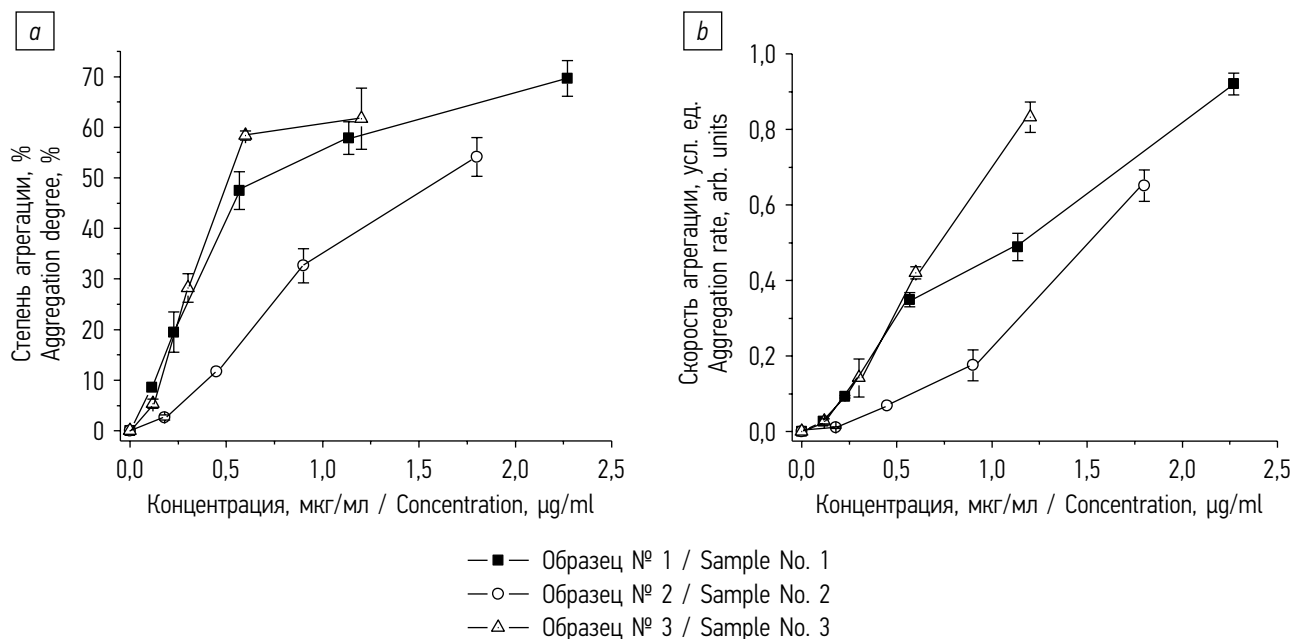


Рис. 5. Зависимость параметров агрегации тромбоцитов (*a* — степень, *b* — скорость), инициируемой внесением лектин-содержащих субстанций антарктических мхов, от их концентрации. Тромбоциты ($2,5 \cdot 10^8$ кл/мл) в фосфатно-солевом буфере, содержащем 1 ммоль CaCl_2 , 0,5 ммоль MgCl_2 . Образец № 1 — *B. pseudotriquetrum*, № 2 — *C. purpureus*, № 3 — *C. lawianus*

Fig. 5. Dependence of the parameters of platelet aggregation (*a* — degree, *b* — rate) initiated by the addition of Antarctic moss lectin-containing substances, on the concentration of these compounds. Platelets ($2,5 \cdot 10^8$ cells/ml) in PBS containing 1 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 . Sample numbers: No. 1 — *B. pseudotriquetrum*, No. 2 — *C. purpureus*, No. 3 — *C. lawianus*

исследование плазмы крови доноров с добавлением ЛСС в соотношении 1 : 1. Определяли показатель АПТВ с указанием индекса Ratio (R). В качестве контроля использовали плазму донора и плазму с добавлением физиологического

раствора в соотношении 1 : 1. Результаты гемостазиологических исследований представлены в табл. 3–6.

Согласно данным табл. 5 и 6, под влиянием ЛСС антарктических мхов наблюдалось

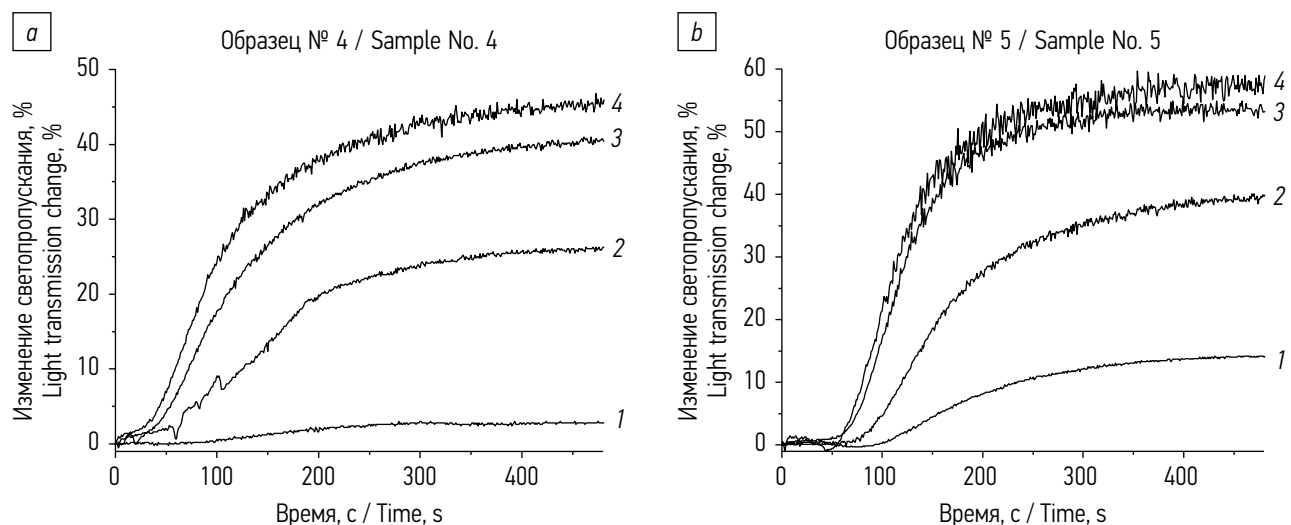


Рис. 6. Типичные кинетические кривые агрегации тромбоцитов при добавлении лектин-содержащих субстанций белорусских мхов в различных концентрациях. Тромбоциты ($2,5 \cdot 10^8$ кл/мл) в фосфатно-солевом буфере, содержащем 1 ммоль CaCl_2 , 0,5 ммоль MgCl_2 . Образец № 4 — *B. pseudotriquetrum*, № 5 — *C. purpureus*. Используемые концентрации на рисунке *a*: 1 — 3,4, 2 — 8,5, 3 — 17, 4 — 34 мкг/мл; *b*: 1 — 1,4, 2 — 3,6, 3 — 7,1, 4 — 14,3 мкг/мл

Fig. 6. Typical kinetic curves of platelet aggregation with the addition of Belarus moss lectin-containing substances at various concentrations. Platelets ($2,5 \cdot 10^8$ cells/ml) in PBS containing 1 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 . Sample numbers: No. 4 — *B. pseudotriquetrum*, No. 5 — *C. purpureus*. Concentrations used in figure *a*: 1 — 3.4, 2 — 8.5, 3 — 17, 4 — 34 µg/ml; *b*: 1 — 1.4, 2 — 3.6, 3 — 7.1, 4 — 14.3 µg/ml

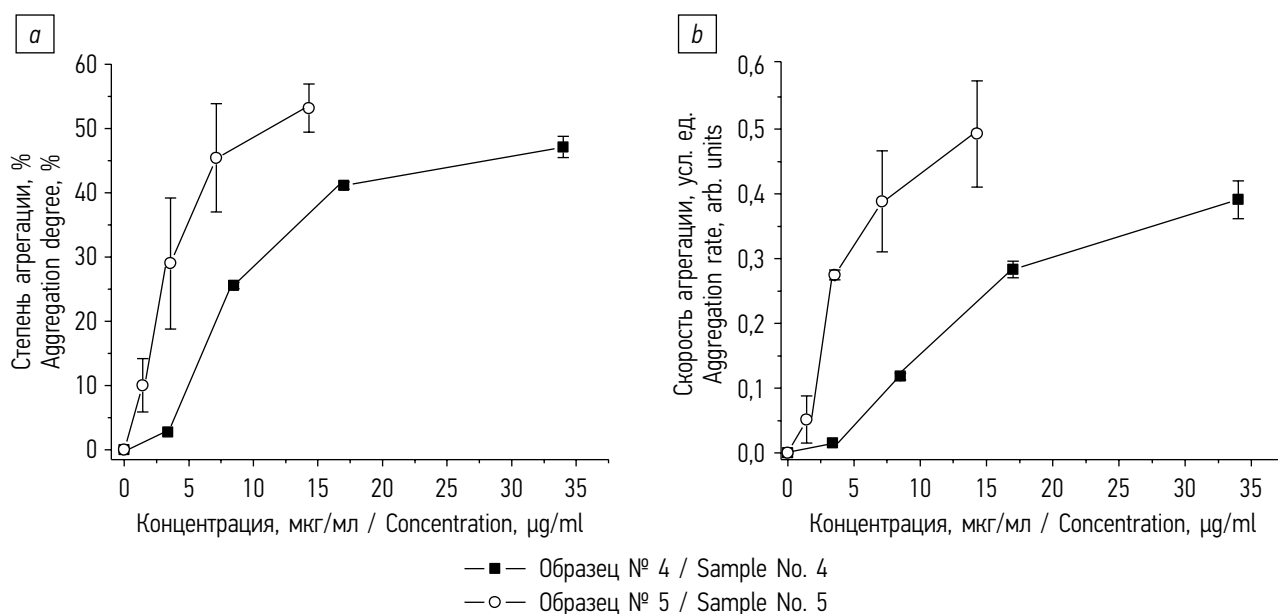


Рис. 7. Зависимость параметров агрегации тромбоцитов (*a* — степень, *b* — скорость), инициируемой лектин-содержащих субстанций из белорусских мхов, от их концентрации. Тромбоциты ($2,5 \cdot 10^8$ кл/мл) в фосфатно-солевом буфере, содержащем 1 ммоль CaCl_2 , 0,5 ммоль MgCl_2 . Образец № 4 — *B. pseudotriquetrum*, № 5 — *C. purpureus*

Fig. 7. Dependence of the parameters of platelet aggregation (*a* — degree, *b* — rate) initiated by the addition of Belarusian moss lectin-containing substances, on the concentration of these compounds. Platelets ($2.5 \cdot 10^8$ cells/ml) in PBS containing 1 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 . Sample numbers: No. 4 — *B. pseudotriquetrum*, No. 5 — *C. purpureus*

снижение показателя АПТВ на 15–18 %, причем достоверно значимое снижение данного показателя определялось под действием образца № 1 ($p = 0,016$). Кроме того, выявлено статистически достоверное снижение индекса R (почти в 2 раза) под действием исследуемых образцов № 1, 2, 3 ($p = 0,012$ для всех значений), показатели которого соответствовали диапазону нормы (0,8–1,2).

Поскольку показатель АПТВ используется для характеристики эффективности работы внутреннего пути плазменного гемостаза, в котором участвуют факторы XII, XI, IX, VIII, X, V и II, можно предположить, что тестируемые ЛСС антарктических мхов оказывают влияние на взаимодействие вышеупомянутых факторов свертывания при образовании кровяного сгустка.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами впервые установлены феномен высокой агрегационной активности ЛСС из мхов Антарктики и Беларуси и их влияние на коагуляционный гемостаз. Полученные результаты могут служить перспективной основой для разработки отечественных фитопрепаратов различного назначения для применения в медицине. При необходимости возможно использование белорусских биполярных видов мхов в качестве растительного сырья.

В этой связи нами была проведена ресурсная оценка запасов побегов *B. pseudotriquetrum* с помощью разработанного алгоритма кадастровой региональной оценки запасов растительных

Таблица 3 / Table 3

Результаты гемостазиологических исследований доноров
Results of donors hemostasiological studies

Показатель	Параметры гемостаза	
	АПТВ, с	R
Донор № 1	34,0	1,03
Донор № 2	34,8	1,06
Донор № 3	42,0	1,28
Донор № 4	38,8	1,18
Донор № 5	35,0	1,07
Среднее значение ± стандартное отклонение	36,92 ± 1,52	1,12 ± 0,05
Референсные значения	28–35	0,8–1,2

Таблица 4 / Table 4

Результаты гемостазиологических исследований доноров (разбавление плазмы физиологическим раствором в соотношении 1 : 1)
Results of donors hemostasiological studies (dilution of plasma with physiological saline in a ratio of 1 : 1)

Показатель	Параметры гемостаза	
	АПТВ, с	R
Донор № 1	51,9	1,58
Донор № 2	48,6	1,48
Донор № 3	56,0	1,7
Донор № 4	55,0	1,67
Донор № 5	48,1	1,47
Среднее значение ± стандартное отклонение	51,92 ± 1,60	1,58 ± 0,05
Референсные значения	28–35	0,8–1,2

Таблица 5 / Table 5

Результаты гемостазиологических исследований доноров в присутствии лектин-содержащих субстанций из антарктических мхов

Results of donors hemostasiological studies in the presence of moss lectin-containing substances from Antarctic mosses

Показатель	Параметры гемостаза					
	образец № 1 (<i>B. pseudotriquetrum</i>)		образец № 2 (<i>C. purpureus</i>)		образец № 3 (<i>C. lawianus</i>)	
	АПТВ, с	R	АПТВ, с	R	АПТВ, с	R
Донор № 1	44,8	0,86	51,0	0,98	42,2	0,81
Донор № 2	48,1	0,99	38,9	0,8	40,8	0,84
Донор № 3	48,0	0,86	51,9	0,93	55,6	0,99
Донор № 4	39,0	0,71	37,2	0,68	42,0	0,76
Донор № 5	35,8	0,74	37,6	0,68	42,2	0,88
Среднее значение ± стандартное отклонение	43,14 ± 2,50	0,83 ± 0,05	42,32 ± 3,87	0,81 ± 0,06	44,56 ± 2,78	0,86 ± 0,04
Референсные значения	28–35	0,8–1,2	28–35	0,80–1,2	28–35	0,8–1,2

Таблица 6 / Table 6

Средние значения гемостазиологических исследований
Mean values of hemostatic studies

Вариант эксперимента	АПТВ, с	R ¹
Доноры + 0,9 % раствор хлорида натрия	51,92 ± 1,60	1,58 ± 0,05
Доноры + образец № 1	43,14 ± 2,50*	0,83 ± 0,05*
Доноры + образец № 2	42,32 ± 3,87	0,81 ± 0,06*
Доноры + образец № 3	44,56 ± 2,78	0,86 ± 0,04*
Референсные значения	28–35	0,8–1,2

R¹ — отношение показателя «АПТВ доноров + образец» к показателю «АПТВ доноров + 0,9 % раствор хлорида натрия». Обозначение образцов см. в табл. 5; * достоверность различий между аналогичными показателями по сравнению с показателем «доноры + физиологический раствор» при $p < 0,05$.

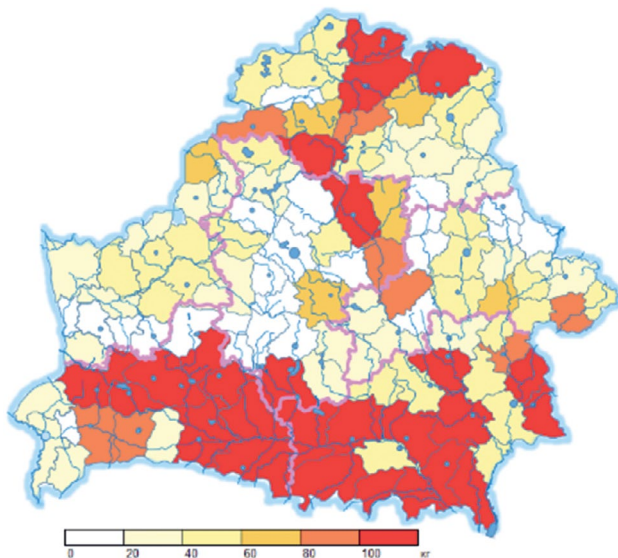


Рис. 8. Распределение эксплуатационных запасов сырья *B. pseudotriquetrum* на территории Республики Беларусь по административным районам

Fig. 8. Distribution of exploitable stocks of *B. pseudotriquetrum* raw materials on the territory of the Republic of Belarus by administrative regions

ресурсов. На территории Республики Беларусь всего учтено 20 823 популяций на площади 3659,5 га [30]. Рассчитаны запасы сырья и рекомендуемые объемы ежегодного пользования ресурсами данного вида. Общий биологический запас побегов *B. pseudotriquetrum* на территории страны составляет 18,3 т, эксплуатационный — 9,1 т, а возможный объем ежегодной заготовки сырья — 0,9 т. На рис. 8 проиллюстрировано распределение эксплуатационных запасов побегов данного вида по стране.

Согласно представленным данным, наибольшие эксплуатационные запасы побегов данного вида сосредоточены в Брестской (2815 кг) и Гомельской (2743 кг) областях, наименьшие — в Гродненской (534 кг). По административным районам самые большие эксплуатационные запасы сырья (более 100 кг) выявлены в Березовском (124,8 кг), Ганцевичском (138,0 кг), Ивацевичском (400,0 кг), Лунинецком (522,0 кг), Ляховичском (141,0 кг), Пинском (104,5 кг), Пружанском (116,5 кг) и Столинском (960,0 кг) районах Брестской области; Городокском (139,3 кг), Докшицком (136,3 кг), Полоцком (170,8 кг)

и Россонском (112,3 кг) районах Витебской области; Брагинском (154,5 кг), Ветковском (270,3 кг), Добрушском (130,0 кг), Ельском (147,5 кг), Житковичском (350,0 кг), Жлобинском (100,3 кг), Калинковичском (117,8 кг), Лельчицком (403,8 кг), Наровлянском (142,3 кг), Петриковском (206,0 кг), Речицком (127,8 кг) и Хойникском (139,0 кг) районах Гомельской области; Борисовском (122,8 кг) и Солигорском (114,0 кг) районах Минской области.

Вид *S. purpureus* распространен по всей территории Республики Беларусь. Однако несмотря на то, что в настоящее время зарегистрировано значительное количество популяций данного вида, они малочисленны. В связи с этим заготовки сырья *S. purpureus* возможны, но лишь в небольших объемах.

Заклучение

В результате проведенных исследований нами впервые установлен феномен высокой агрегационной активности ЛСС из мхов Антарктики и Беларуси, сопоставимой с тромбином. Исследованные представители мохообразных родов *Bryum*, *Ceratodon* и *Coscinodon* характеризовались агглютинирующим и гемостатическим действием в отношении эритроцитов и тромбоцитов соответственно, причем наиболее высокие показатели были отмечены для антарктических видов по сравнению с этими же видами из Беларуси. Высказана гипотеза, согласно которой наблюдаемый феномен обусловлен особенностями структуры белков, в том числе лектинов. Предполагается, что возможными индукторами агглютинации эритроцитов и агрегации тромбоцитов в составе мхов являются лектины. Показано, что у видов *V. pseudotriquetrum* и *S. purpureus* имеется определенный ресурсный потенциал в Беларуси, что позволяет рассматривать перспективы их ежегодной заготовки. Полученные результаты расширяют спектр перспективных видов мхов, обладающих гемостатической активностью, которые могут быть использованы для разработки новых гемостатиков растительного происхождения локального применения.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование было проведено при поддержке подпрограммы «Развитие деятельности белорусской антарктической станции» Государственной программы «Научно-инновационная деятельность Национальной академии наук Беларуси» на 2021–2025 гг. в рамках мероприятия 8. Заказчик не оказывал влияния на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Наибольший вклад распределен следующим образом: *О.Л. Канделинская* — концепция и дизайн исследования, анализ полученных результатов и их обсуждение, подбор и обзор литературы, написание статьи, привлечение финансирования; *Е.Р. Грищенко* — проведение экспериментов, обработка результатов и их анализ; *Д.В. Григорьева* — проведение экспериментов, их обработка и описание, обсуждение результатов; *И.В. Горудко* — подбор литературы, обсуждение результатов; *Д.В. Горецкий* — проведение экспериментов; *Э.В. Дашкевич* — подбор литературы, дизайн исследования, анализ и обсуждение результатов; *Ж.В. Пешняк* — проведение экспериментов, обработка результатов; *Н.А. Бухвальд* — проведение экспериментов, обработка результатов; *О.М. Масловский* — проведение полевых исследований, определение белорусских образцов мхов, оценка ресурсного потенциала белорусских мхов, обсуждение результатов; *И.П. Сысой* — проведение полевых исследований, оценка ресурсного потенциала, построение карты, анализ результатов; *Ю.Г. Гигиняк*, *Е.В. Корзун* — сбор коллекции мхов в Антарктике, фотографирование, пакетирование; *В.А. Костевич* — выделение и очистка тромбина; *М.П. Андреев* — обсуждение результатов; *Л.Е. Курбатова* — таксономический анализ собранной коллекции мхов, фотографирование мхов в Антарктике.

Информированное согласие на публикацию. Авторы получили письменное согласие доноров на публикацию результатов научных исследований.

Additional information

Funding source. The study has been supported by support of the subprogram “Development of the Belarusian Antarctic Station” of the State Program “Scientific and Innovative Activities of the National Academy of Sciences of Belarus” for 2021–2025. within the frame of Event 8. The customer did not influence the choice of material for publication, analysis and interpretation of data.

Conflict of interest. The authors declare that there is no potential conflict of interest requiring disclosure in this article.

Authors' contribution. All authors made significant contributions to concept development, research and paper preparation, read and approved the final version before publication. The largest contribution is

distributed as follows: *O.L. Kandelinskaya* — the concept and design of the study, analysis of the results and their discussion, selection and review of literature, article writing, fundraising; *H.R. Grischenko* — conducting experiments, processing results and their analysis; *D.V. Grigorieva* — carrying out experiments, their processing and description, discussion of the results; *I.V. Gorudko* — selection of literature, discussion of results; *D.V. Goretsky* — conducting experiments; *E.V. Dashkevich* — literature selection, study design, analysis and discussion of results; *J.V. Peshnyak* — conducting experiments, processing results; *N.A. Bukhvald* — conducting experiments, processing results; *O.M. Maslovsky* — conducting field research, identifying Belarusian moss samples, assessing the resource potential of Belarusian mosses, discussing the results; *I.P. Sysoi* — conducting field research, assessing the resource potential, building a map, analyzing the results; *Yu.G. Hihiniak*, *E.V. Korzun* — collection of mosses in Antarctica photos, packaging; *V.A. Kostevich* — isolation and purification of thrombin; *M.P. Andreev* — the discussion of the results; *L.E. Kurbatova* — taxonomic analysis of the collected collection of mosses, photographs of mosses in Antarctica.

Consent for publication. The authors received written consent from donors for the publication of scientific research results

Список литературы

- Бондарев Г.А., Липатов В.А., Лазаренко С.В. и др. Исследование мнения врачей-хирургов об использовании гемостатических аппликационных материалов // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2020. № 8. С. 61–68. DOI: 10.17116/hirurgia202008161
- Чернявский А.М., Григорьев И.А., Морозов С.В. и др. Контроль локального гемостаза с помощью препаратов окисленной целлюлозы // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2014. № 8. С. 71–75.
- Липатов В.А., Северинов Д.А., Саакян А.Р. Локальные гемостатики в хирургии XXI века // Innova. 2019. № 1(14). С. 16–22. DOI: 10.21626/innova/2019.1/03
- Подтероб А.П., Зубец Е.В. История применения растений рода *Sphagnum* в медицине // Химико-фармацевтический журнал. 2002. Т. 36, № 4. С. 27–29. DOI: 10.30906/0023-1134-2002-36-4-27-29
- Бабешина Л.Г., Келус Н.В., Котляр М. История и перспективы применения сфагновых мхов в медицине // Врач. 2016. № 12. С. 31–33.
- Asakawa Y. Biologically active compounds from bryophytes // Pure Appl. Chem. 2007. Vol. 79, No. 4. P. 557–580. DOI: 10.1351/pac200779040557
- Klavina L., Springe G., Nikolajeva V. et al. Chemical composition analysis, antimicrobial activity and cytotoxicity screening of moss extracts (moss phytochemistry) // Molecules. 2015. Vol. 20, No. 9. P. 17221–17243. DOI: 10.3390/molecules200917221
- Drobnik J., Stebel A. Four centuries of medicinal mosses and liverworts in European ethnopharmacy and scientific pharmacy: a review // Plants (Basel). 2021. Vol. 10, No. 7. P. 1296. DOI: 10.3390/plants10071296
- Benek A., Canlı K., Altuner E.M. Traditional medicinal uses of mosses // Anatolian Bryol. 2022. Vol. 8, No. 1. P. 57–65. DOI: 10.26672/anatolianbryology.1061190
- Waterman M.J., Nugraha A.S., Hendra R. et al. Antarctic moss biflavonoids show high antioxidant and ultraviolet-screening activity // J. Nat. Prod. 2017. Vol. 80, No. 8. P. 2224–2231. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00085
- Adebiyi A.O., Oyediji A.A., Chikwendu E.E., Fatoke O.A. Phytochemical screening of two tropical moss plants: thidium gratum P. Beauv and Barbula indica brid grown in Southwestern ecological zone of Nigeria // Am. J. Anal. Chem. 2012. No. 3. P. 836–839. DOI: 10.4236/ajac.2012.312110
- Elkhateeb W.A., Daba G.M. Occurrence of terpenes, polyketides, and tannins in some Japanese lichens and green mosses // Egypt. Pharm. J. 2021. No. 26. P. 216–223. DOI: 10.4103/epj.epj_17_20
- Ebrahimi F., Torbati M., Mahmoudi F., Valizadeh H. Medicinal plants as potential hemostatic agents // J. Pharm. Pharm. Sci. 2020. Vol. 23. P. 10–23. DOI: 10.18433/jpps30446
- Marciniczyk N., Gromotowicz-Poptawska A., Tomczyk M., Chabińska E. Tannins as hemostasis modulators // Front. Pharmacol. 2022. Vol. 12. P. 806891. DOI: 10.3389/fphar.2021.806891
- Liu F., Li L., Tian X. et al. Chemical constituents and pharmacological activities of steroid saponins isolated from rhizoma paridis // J. Chem. 2021. Vol. 2021. P. 1–7. DOI: 10.1155/2021/1442906
- Ma W.Y., Xie J., Yu L.L. et al. Isolation and identification of hemostatic steroidal glycosides from *Ypsilandra thibetica* // Bioorg. Chem. 2023. Vol. 130. P. 106268. DOI: 10.1016/j.bioorg.2022.106268
- Van Damme E.J.M. 35 years in plant lectin research: a journey from basic science to applications in agriculture and medicine // Glycoconj. J. 2022. Vol. 39. P. 83–97. DOI: 10.1007/s10719-021-10015-x
- De Coninck T., Van Damme E.J.M. Review: The multiple roles of plant lectins // Plant Sci. 2021. Vol. 313. P. 111096. DOI: 10.1016/j.plantsci.2021.111096
- Gorudko I.V., Buko I.V., Cherenkevich S.N. et al. Lectin-induced aggregates of blood cells from patients with acute coronary syndromes // Arch. Med. Res. 2008. Vol. 39, No. 7. P. 674–681. DOI: 10.1016/j.arcmed.2008.06.002
- Shamova E.V., Gorudko I.V., Drozd E.S. et al. Redox regulation of morphology, cell stiffness, and lectin-induced aggregation of human platelets // Eur. Biophys. J. 2011. Vol. 40. P. 195–208. DOI: 10.1007/s00249-010-0639-2
- Signorello M.G., Leoncini G. The molecular mechanisms involved in lectin-induced human platelet aggregation // Biol. Chem. 2017. Vol. 398, No. 12. P. 1335–1346. DOI: 10.1515/hsz-2017-0115
- Горудко И.В., Локо Е.Н., Черенкевич С.Н., Тимошенко А.В. Формирование стабильных агрегатов тромбоцитов при действии лектина *Solatium tuberosum* // Биофизика. 2007. Т. 52, № 5. С. 882–887.
- Cannone N., Convey P., Guglielmin M. Diversity trends of bryophytes in continental Antarctica // Polar Biology. 2012. Vol. 36, No. 2. P. 259–271. DOI: 10.1007/s00300-012-1257-5

24. Deng L., Qi Y., Liu Z. et al. Effect of tannic acid on blood components and functions // *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 2019. Vol. 184. P. 110505. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110505
25. Ochyra R., Lewis Smith R.I., Bendarek-Ochyra H. Illustrated moss flora of Antarctica. Cambridge, 2008. 685 p.
26. Серия Европейских Договоров (СЕД) № 123. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург, 18.03.1986 г. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://tm.coe.int/168007a6a8>. Дата обращения: 02.08.2023.
27. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf. Дата обращения: 02.08.2023.
28. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem*. 1976. Vol. 7, No. 72. P. 248–254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999
29. Kotova Y.N., Podoplelova N.A., Obydeny S.I. et al. Binding of coagulation factor XIII zymogen to activated platelet subpopulations: Roles of Integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ and Fibrinogen // *Thromb. Haemost.* 2019. Vol. 119, No. 6. P. 906–915. DOI: 10.1055/s-0039-1683912
30. Масловский О.М., Левкович А.В., Сысой И.П. и др. Государственный кадастр растительного мира Республики Беларусь. Основы кадастра. Первичное обследование 2002–2017 гг. Минск: Беларуская навука, 2019.
9. Benek A, Canlı K, Altuner EM. Traditional medicinal uses of mosses. *Anatolian Bryol.* 2022;8(1):57–65. DOI: 10.26672/anatolianbryology.1061190
10. Waterman MJ, Nugraha AS, Hendra R, et al. Antarctic moss biflavonoids show high antioxidant and ultraviolet-screening activity. *J Nat Prod.* 2017;80(8):2224–2231. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00085
11. Adebisi AO, Oyedeji AA, Chikwendu EE, Fatoke OA. Phytochemical screening of two tropical moss plants: *Thidium gratum* P. beav and *Barbula indica* brid grown in Southwestern ecological zone of Nigeria. *Am J Anal Chem.* 2012;(3):836–839. DOI: 10.4236/ajac.2012.312110
12. Elkhateeb WA, Daba GM. Occurrence of terpenes, polyketides, and tannins in some Japanese lichens and green mosses. *Egypt Pharm J.* 2021;(26):216–223. DOI: 10.4103/epj.epj_17_20
13. Ebrahimi F, Torbati M, Mahmoudi F, Valizadeh H. Medicinal plants as potential hemostatic agents. *J Pharm Pharm Sci.* 2020;23(1):11–23. DOI: 10.18433/jpps30446
14. Marcińczyk N, Gromotowicz-Popławska A, Tomczyk M, Chabińska E. Tannins as hemostasis modulators. *Front Pharmacol.* 2022;12:806891. DOI: 10.3389/fphar.2021.806891
15. Liu F, Li L, Tian X, et al. Chemical constituents and pharmacological activities of steroid saponins isolated from *Rhizoma Paridis*. *J Chem.* 2021;2021:1–7. DOI: 10.1155/2021/1442906
16. Ma WY, Xie J, Yu LL, et al. Isolation and identification of hemostatic steroidal glycosides from *Ypsilandra thibetica*. *Bioorg Chem.* 2023;130:106268. DOI: 10.1016/j.bioorg.2022.106268
17. Van Damme EJM. 35 years in plant lectin research: a journey from basic science to applications in agriculture and medicine. *Glycoconj J.* 2022;39:83–97. DOI: 10.1007/s10719-021-10015-x
18. De Coninck T, Van Damme EJM. Review: The multiple roles of plant lectins. *Plant Sci.* 2021;313:111096. DOI: 10.1016/j.plantsci.2021.111096
19. Gorudko IV, Buko IV, Cherenkevich SN, et al. Lectin-induced aggregates of blood cells from patients with acute coronary syndromes. *Arch Med Res.* 2008;(39):674–681. DOI: 10.1016/j.archmed.2008.06.002
20. Shamova EV, Gorudko IV, Drozd ES, et al. Redox regulation of morphology, cell stiffness, and lectin-induced aggregation of human platelets. *Eur Biophys. J.* 2011;40:195–208. DOI: 10.1007/s00249-010-0639-2
21. Signorello MG, Leoncini G. The molecular mechanisms involved in lectin-induced human platelet aggregation. *Biol Chem.* 2017;398(12):1335–1346. DOI: 10.1515/hsz-2017-0115
22. Gorudko IV, Loiko EN, Cherenkevich SN, Timoshenko AV. Formation of stable platelet aggregates by lectin from *Solanum tuberosum*. *Biophysics.* 2007;52(5):476–480. DOI: 10.1134/S0006350907050041
23. Cannone N, Convey P, Guglielmin M. Diversity trends of bryophytes in continental Antarctica. *Polar Biology.* 2012;36(2):259–271. DOI: 10.1007/s00300-012-1257-5
24. Deng L, Qi Y, Liu Z, et al. Effect of tannic acid on blood components and functions. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2019;184:110505. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110505
25. Ochyra R, Lewis Smith RI, Bendarek-Ochyra H. Illustrated moss flora of Antarctica. Cambridge: Cambridge University Press; 2008. 685 p.

References

1. Bondarev GA, Lipatov VA, Lazarenko SV, et al. Analysis of opinion of surgeons on the role of topical hemostatic agents. *Pirogov Russian Journal of Surgery.* 2020;(8):61–68. (In Russ.) DOI: 10.17116/hirurgia202008161
2. Chernyavsky AM, Grigor'ev IA, Morozov SV, et al. Local hemostasis control by using of oxidized cellulose drugs. *Pirogov Russian Journal of Surgery.* 2014;(8):71–75. (In Russ.)
3. Lipatov VA, Severinov DA, Saakyan AR. Local applicational blood reestablishing instruments in surgery of the XXI century. *Innova.* 2019;(1):16–22. (In Russ.) DOI: 10.21626/innova/2019.1/03
4. Podterob AP, Zubets EV. A history of the medicinal use of plants of the genus *Sphagnum*. *Pharm Chem J.* 2002;36(4):192–194. DOI: 10.1023/A:1019884605441
5. Babeshina LG, Kelus NV, Kotlyar M. History and perspectives of *Sphagnum* mosses in medicine. *Vrach.* 2016;(12):31–33. (In Russ.)
6. Asakawa Y. Biologically active compounds from bryophytes. *Pure Appl Chem.* 2007;79(4):557–580. DOI: 10.1351/pac200779040557
7. Klavina L, Springe G, Nikolajeva V, et al. Chemical composition analysis, antimicrobial activity and cytotoxicity screening of moss extracts (moss phytochemistry). *Molecules.* 2015;20(9):17221–17243. DOI: 10.3390/molecules200917221
8. Drobnik J, Stebel A. Four centuries of medicinal mosses and liverworts in European ethnopharmacy and scien-

26. European Treaty Series (ETS) No 123. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasburg, 18.03.1986 [Internet]. Available from: <https://rm.coe.int/168007a6a8>. Accessed: 02.08.2023.
27. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes [Internet]. Available from: https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf. Accessed: 02.08.2023.
28. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;7(72):248–254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999
29. Kotova YN, Podoplelova NA, Obydeny SI, et al. Binding of coagulation factor XIII zymogen to activated platelet subpopulations: Roles of Integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ and Fibrinogen. *Thromb Haemost.* 2019;119(6):906–915. DOI: 10.1055/s-0039-1683912
30. Maslovsky OM, Levkovich AV, Sysoi IP, et al. The state plant cadastre of belarus. fundamentals of the cadastre. Primary survey 2002–2017 years. Minsk: Belorusskaya nauka; 2019. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

ГНУ «Институт экспериментальной ботаники Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь
Institute of Experimental Botany of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

Ольга Львовна Канделинская — канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник сектора метаболизма и функций белков растений.
 ORCID: 0000-0002-0364-9548;
 eLibrary SPIN: 2189-4733;
 e-mail: okandy@yandex.ru

Елена Рэмовна Грищенко — старший научный сотрудник сектора метаболизма и функций белков растений.
 ORCID: 0000-0002-2163-6759;
 e-mail: helegreen@yandex.ru

Дмитрий Вадимович Горецкий — младший научный сотрудник сектора метаболизма и функций белков растений.
 ORCID: 0009-0000-8279-5094;
 e-mail: goreckiydmitriy@yandex.by

Олег Мечиславович Масловский — канд. биол. наук, заведующий сектором кадастра растительного мира.
 ORCID: 0009-0003-4976-5215;
 eLibrary SPIN: 7756-0934;
 e-mail: oleg.maslovsky@tut.by

Ирина Петровна Сысой — канд. биол. наук, старший научный сотрудник сектора кадастра растительного мира.
 ORCID: 0009-0001-7777-9433;
 eLibrary SPIN: 1719-9379;
 e-mail: mastibrotskaya@gmail.com

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
Belarusian State University, Minsk, Belarus

Дарья Владимировна Григорьева — канд. биол. наук, доцент кафедры биофизики физического факультета.
 ORCID: 0000-0003-0210-5474;
 eLibrary SPIN: 2479-7785;
 e-mail: dargr@tut.by

Olga L. Kandelinskaya — Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor, Leading Researcher, Sector of Plant Protein Metabolism and Functions.
 ORCID: 0000-0002-0364-9548;
 eLibrary SPIN: 2189-4733;
 e-mail: okandy@yandex.ru

Helena R. Grischenko — Senior Research Associate of Sector of Plant Protein Metabolism and Functions.
 ORCID: 0000-0002-2163-6759;
 e-mail: helegreen@yandex.ru

Dmitry V. Goretsky — Junior Research Associate of Sector of Plant Protein Metabolism and Functions.
 ORCID: 0009-0000-8279-5094;
 e-mail: goreckiydmitriy@yandex.by

Oleg M. Maslovsky — Cand. Sci. (Biol.), Head of Sector of Plant Cadastre.
 ORCID: 0009-0003-4976-5215;
 eLibrary SPIN: 7756-0934;
 e-mail: oleg.maslovsky@tut.by

Irina P. Sysoi — Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate of Sector of Plant Cadastre.
 ORCID: 0009-0001-7777-9433;
 eLibrary SPIN: 1719-9379;
 e-mail: mastibrotskaya@gmail.com

Daria V. Grigorieva — Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor of the Department of Biophysics, Physics Faculty.
 ORCID: 0000-0003-0210-5474;
 eLibrary SPIN: 2479-7785;
 e-mail: dargr@tut.by

Ирина Владимировна Горудко — канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры биофизики физического факультета.
ORCID: 0000-0002-4737-470X;
eLibrary SPIN: 8968-3125;
e-mail: irinagorudko@gmail.com

Irina V. Gorudko — Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor, Assistant Professor of the Department of Biophysics, Physics Faculty.
ORCID: 0000-0002-4737-470X;
eLibrary SPIN: 8968-3125;
e-mail: irinagorudko@gmail.com

ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Минск, Беларусь
Republic Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Belarus

Элеонора Владимировна Дашкевич — заведующая лабораторией трансфузиологии.
ORCID: 0009-0000-9711-9371;
eLibrary SPIN: 1804-4804;
e-mail: eleonoravdoc@gmail.com

Eleonora V. Dashkevich — Head of the Laboratory of Transfusiology.
ORCID: 0009-0000-9711-9371;
eLibrary SPIN: 1804-4804;
e-mail: eleonoravdoc@gmail.com

Жанна Витальевна Пешняк — ведущий научный сотрудник лаборатории трансфузиологии.
ORCID: 0009-0001-3709-3947;
eLibrary SPIN: 2496-2585;
e-mail: peshnyak@gmail.com

Janna V. Peshnyak — Leading Research Associate of the Laboratory of Transfusiology.
ORCID: 0009-0001-3709-3947;
eLibrary SPIN: 2496-2585;
e-mail: peshnyak@gmail.com

Наталья Александровна Бухвальд — научный сотрудник лаборатории трансфузиологии.
ORCID: 0009-0003-4795-3271;
eLibrary SPIN: 8599-4504;
e-mail: morskayaz300@mail.ru

Natallia A. Bukhvald — Research Associate at the Laboratory of Transfusiology.
ORCID: 0009-0003-4795-3271;
eLibrary SPIN: 8599-4504;
e-mail: morskayaz300@mail.ru

ГНПО «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам», Минск, Беларусь
Scientific and Practical Centre of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources, Minsk, Belarus

Юрий Григорьевич Гигиняк — канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник сектора мониторинга и кадастра животного мира.
ORCID: 0000-0001-8376-3991;
e-mail: antarctida_2010@mail.ru

Yury G. Hihiniak — Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor, Leading Research Associate of the Sector for Monitoring and Cadastre of the Wildlife.
ORCID: 0000-0001-8376-3991;
e-mail: antarctida_2010@mail.ru

Егор Викторович Корзун — старший научный сотрудник сектора мониторинга и кадастра животного мира.
ORCID: 0009-0002-9318-9625;
eLibrary SPIN: 9108-1529;
e-mail: natrix109@gmail.com

Egor V. Korzun — Senior Research Associate of Sector of monitoring and wildlife cadastre.
ORCID: 0009-0002-9318-9625;
eLibrary SPIN: 9108-1529;
e-mail: natrix109@gmail.com

ФГБУН «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия
Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия
Academician Yu.M. Lopukhin Federal Scientific and Clinical Center for Physical and Chemical Medicine of the Federal Biomedical Agency, Moscow, Russia

Валерия Александровна Костевич — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела молекулярной генетики; научный сотрудник отдела биофизики.
ORCID: 0000-0002-1405-1322;
eLibrary SPIN: 2726-2921;
e-mail: hfa-2005@yandex.ru

Valeria A. Kostevich — Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate of the Department of Molecular Genetics; Research Associate fellow of Department of Biophysics.
ORCID: 0000-0002-1405-1322;
eLibrary SPIN: 2726-2921;
e-mail: hfa-2005@yandex.ru

ФГБУН науки «Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия
V.L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Михаил Петрович Андреев — заведующий лабораторией лишенологии и бриологии.
ORCID: 0000-0002-5688-0751;
eLibrary SPIN: 6075-6128;
e-mail: andreev@gmail.com

Mikhail P. Andreev — Head of the Laboratory of Lichenology and Bryology.
ORCID: 0000-0002-5688-0751;
eLibrary SPIN: 6075-6128;
e-mail: andreev@gmail.com

Информация об авторах / Information about the authors

Любовь Евгеньевна Курбатова — старший научный сотрудник лаборатории лишенологии и бриологии.
ORCID: 0000-0003-4695-5331;
eLibrary SPIN: 2032-8596;
e-mail: kurbatovae@binran.ru

Lyubov E. Kurbatova — Senior Research Associate of the Laboratory of Lichenology and Bryology.
ORCID: 0000-0003-4695-5331;
eLibrary SPIN: 2032-8596;
e-mail: kurbatovae@binran.ru

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Ольга Львовна Канделинская / Olga L. Kandelinskaya
Адрес: Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, д. 27
Address: 27 Akademicheskaya St., Minsk, 220072, Belarus
E-mail: okandy@yandex.ru