

Е. Кирьяченко, студ., Т. Галенова, канд. биол. наук, О. Савчук, д-р биол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### АНАЛИЗ СЛИЗИ САДОВОЙ УЛИТКИ (*Helix aspersa Muller*) НА ПРИСУТСТВИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЭФФЕКТОРОВ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗА

На сегодняшний день существует много подходов к созданию новых лекарственных препаратов, однако ни один из них не может заменить важную роль природных продуктов в открытии и разработке лекарств. Природное сырье остается чрезвычайно важным источником лекарственных средств. Ряд биологически активных молекул природного происхождения уже нашли непосредственное лекарственное применение, многие другие могут служить химическими моделями или шаблонами для проектирования и синтеза новых фармацевтических агентов. Слизь улиток уже много лет привлекает внимание ученых как источник природных биологически активных веществ. Компоненты слизи улиток были неоднократно исследованы на антимикробную, антиоксидантную, противовоспалительную и противораковую активности. В данной работе были исследованы биологические эффекты компонентов слизи садовой улитки *Helix aspersa*, распространенной на территории Украины. Результаты исследований показали присутствие белковых молекул, среди которых часть имела выраженный протеолитический потенциал со специфичностью к желатину, коллагену и фибриногену. При добавлении слизи к плазме крови ее составляющие инициировали образования активного тромбина, а также продлевали время свертывания плазмы в коагуляционном тесте АЧТВ. Кроме того, компоненты слизи *H. aspersa* усиливали эффект индуктора агрегации тромбоцитов и ингибировали их дезагрегацию. Доказано, что компоненты слизи *H. aspersa* не имели цитотоксического эффекта. Полученные результаты указывают на перспективность и важность дальнейших экспериментов по изучению отдельных белковых фракций слизи с целью идентификации отдельных биологически активных молекул, отвечающих за проявление показанных эффектов. Детальный анализ состава и изучение свойств слизи улиток служит основой для получения потенциально новых веществ с целевыми активностями и их дальнейшего применения в различных сферах промышленности, включая фармацевтическую.

Ключевые слова: улитка, слизь, протеолитическая активность, система гемостаза, хронометрические тесты, гемолитическая активность.

Y. Kyriachenko, Student, T. Halenova, PhD, O. Savchuk, Dr Hab.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### ANALYSIS OF GARDEN SNAIL (*Helix aspersa Muller*) MUCUS FOR THE PRESENCE OF POTENTIAL EFFECTORS OF HEMOSTASIS SYSTEM

Today, there are many approaches to new drugs development, but none of them can replace the important role of natural products in the discovery and development of drugs. Natural raw materials remain an extremely important source of medicines. A number of biologically active molecules of natural origin have already found a direct medicinal use, while many others can serve as chemical models or templates for the design and synthesis of new pharmaceutical agents. Snail mucus has been attracting the attention of scientists for many years as a source of natural biologically active substances. The components of snail mucus have been repeatedly tested for antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activities. In this work, the biological effects of components of the mucus of the garden snail *Helix aspersa*, distributed in Ukraine, were studied. The research results proved the presence of protein molecules, some of which had a pronounced proteolytic potential with specificity for gelatin, collagen and fibrinogen. When mucus was added to blood plasma, its components initiated the formation of active thrombin, and also prolonged the clotting time of plasma in the coagulation test APTT. In addition, the components of *H. aspersa* mucus enhanced the effect of platelet aggregation inducer and inhibited their disaggregation. It was proved that the components of *H. aspersa* mucus had no cytotoxic effect. The obtained results indicate the prospects and importance of further experiments on the study of mucus protein fractions in order to identify individual biologically active molecules responsible for the manifestation of these effects. A detailed analysis of the composition and study of the properties of snail mucus will serve as a basis for obtaining potentially new substances with targeted activities and their further use in various industries, including pharmaceutical.

Keywords: snail, mucus, proteolytic activity, hemostasis system, plasma coagulation tests, hemolytic activity.

УДК 577.112.8  
DOI 10.17721/1728\_2748.2021.84.24–27

A. Beliyeva, trainee, L. Garmanchuk, Dr Hab.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### ANALYSIS OF FUNCTIONAL CHANGES UNDER USING OF CANDESARTAN CILEXETIL WITH RESVERATROL IN ANIMALS

Cardiovascular diseases are widespread throughout the world. The incidence of diseases of the cardiovascular system has increased several times. Cardiovascular diseases have become the leading cause of death in many countries. Currently, the efforts of many researchers are aimed at studying and creating new, more effective and safe drugs and their combinations for the treatment of pathology of the cardiovascular system. Candesartan cilexetil is an angiotensin II receptor antagonist. It is used medicinally as a long-acting antihypertensive agent. However, this drug has a number of side effects. Resveratrol is a natural antioxidant. This substance exhibits pleiotropic effects, including antioxidant, anti-inflammatory, anti-aging, cardioprotective, and neuroprotective activities. The aim is investigation of acute toxicity of candesartan cilexetil and resveratrol in combination in vivo. Male and female ICR mice were used for the experiment. Animals received candesartan cilexetil and resveratrol intragastrically once. Evaluation of the effects of substances on internal organs (heart, spleen, kidneys, lungs, liver and brain) was carried out in 2 weeks after the introduction of the substances. It was shown that candesartan cilexetil with natural resveratrol did not lead to functional changes. There were no changes of behavior during the observation period. The combination of candesartan cilexetil with resveratrol did not lead to the death of mice, therefore the mean lethal dose (LD50) was not determined. The new combination of substances was safe. No side effects have been reported. The combination of candesartan cilexetil with resveratrol is non-toxic, and the use of these substances is safe for animals.

Keywords: Cardiovascular diseases, candesartan cilexetil, resveratrol, acute toxicity.

**Introduction.** Cardiovascular diseases are widespread in the world. The incidence of diseases of cardiovascular system has increased several times in many countries. Cardiovascular diseases have become the leading mortality reason in many countries. At present many scientists and doctors try to study and create new more effective and safe drugs and their combinations to treat this pathology. It's necessary to investigate new methods of treatment of cardiovascular diseases.

Candesartan cilexetil is an angiotensin II receptor antagonist. Now it is used as a long-term antihypertensive agent [1]. Candesartan cilexetil increases resistance to stress and endurance during exercise in people with hypertension [2]. However, it is shown that candesartan has also a number of side effects, such as dizziness, weakness, headache. High doses of candesartan cilexetil influence the formation of separate subpopulations of cells in bone

marrow [3]. Resveratrol, a naturally occurring polyphenol, shows pleiotropic health beneficial effects, including antioxidant, anti-inflammatory, anti-aging, cardioprotective and neuroprotective activities [4-6]. It's known that this substance decreases the synthesis of lipids in liver and eicosanoids in leukocytes in animals, inhibits platelet activation/aggregation, decreases the activity of protein kinases, inhibits formation of reactive oxygen species [7].

The aim of this study is investigation of acute toxicity of the combination of candesartan cilexetil and resveratrol *in vivo* using mice.

**Materials and methods.** Male and female ICR mice were taken for the experiment. Animals were divided into 4 groups: control 1 (male), experimental group 1 (male), control 2 (female), experimental group 2 (female).

Mice of the experimental groups received once intragastrically studied substances containing candesartan cilexetil and resveratrol: 1.5 mg per 1 kg (average therapeutic dose for treatment of hypertension according to the instruction) and 50 mg per 1 kg of animal body weight [8], respectively. Animals of the control groups received 1% starch solution once intragastrically. The administered doses of the studied substances were calculated using the interspecific conversion formula: [8]:

$$A = \frac{B \times \kappa(B)}{\kappa(A)},$$

$A$  – required dose;  $B$  – known dose;  $\kappa(B)$  – conversion factor for weight  $B$ ;  $\kappa(A)$  – conversion factor for weight  $A$ .

Evaluation of the effects of substances on internal organs (heart, spleen, kidneys, lungs, liver and brain) were carried out in 2 weeks after administration of candesartan cilexetil and resveratrol. The following indicators were further evaluated: body weight of animals, weight of internal organs and relative weight coefficient of internal organs (RMC).

$$RMC = \frac{A}{B} \times 1000,$$

RMC – relative weight coefficient of internal organ;  $A$  – weight of internal organ;  $B$  – body weight.

**Results and discussion.** Creating drugs consists of investigation of efficiency and safety of new medicines [9]. Acute toxicity of candesartan cilexetil and resveratrol in ICR mice was studied. The results of the experiment are shown in Fig. 1 and Fig. 2. Using candesartan cilexetil at 1.5 mg/kg dose and resveratrol at 50 mg/kg dose did not cause the death of mice, so the median lethal dose (LD50) was not determined. Behaviour changes in the control 1, 2 and experimental groups 1, 2 of mice during the observation period were not detected. There were no visible changes in the macroscopic picture during the autopsy. There were no significant differences between RMC of internal organs (heart, spleen, kidneys, lungs, liver, and brain) of the control and experimental groups of male and female ICR mice (Fig. 1 and Fig. 2).

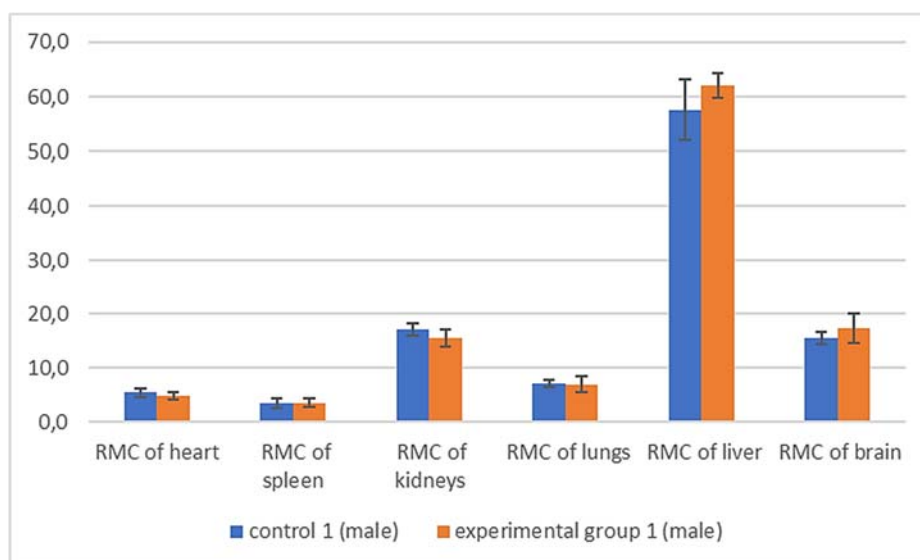


Fig. 1. RMC of internal organs under using combination of candesartan cilexetil and natural resveratrol in male ICR mice

Thus, it was established that the effect of the selected substances in the combination is not toxic. The first evidence was recorded that the combination of candesartan cilexetil with natural resveratrol is safe for animals.

**Conclusions.** It was found in the experiment of investigation of acute toxicity that new combination of

candesartan cilexetil and resveratrol didn't lead to death of animals in the experiment. There were no functional changes after using candesartan cilexetil with resveratrol. These results can be used in further studies aimed at elaboration of novel complex drug for treatment of diseases of cardiovascular system.

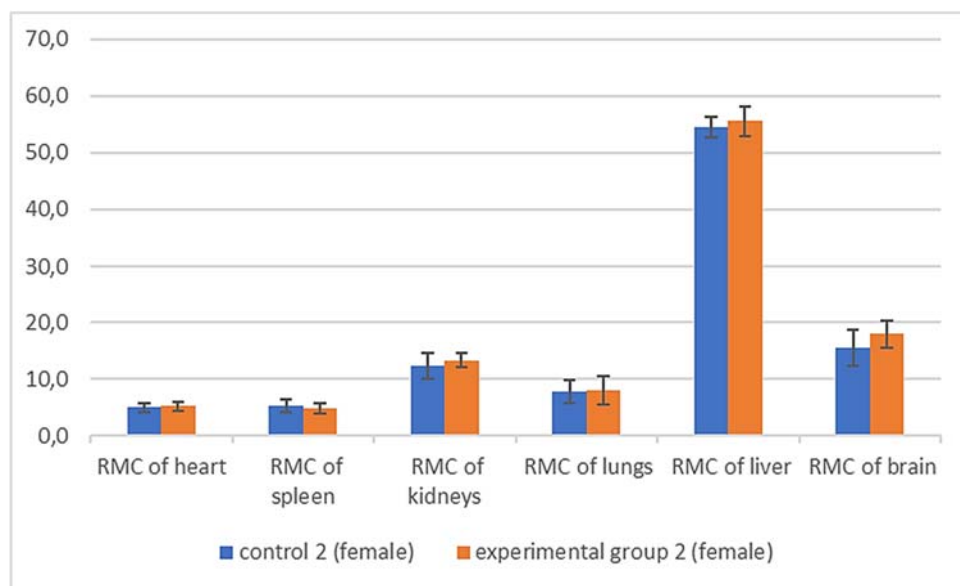


Fig. 2. RMC of internal organs under using combination of candesartan cilexetil and natural resveratrol in female ICR mice

#### Список використаної літератури

- Zhao D. A Meta-analysis of antihypertensive effect of telmisartan versus candesartan in patients with essential hypertension. / D. Zhao, H. Liu, P. Dong // Clin Exp Hypertens. – 2019; 41(1): 75–79.
- De Rosa M. Candesartan improves maximal exercise capacity in hypertensives results of a randomized placebo-controlled crossover trial / M. De Rosa, M. Chiariello // J. Clin Hypertens. – 2009; 11 (4): 192–200.
- Possible mechanism for the anemia induced by candesartan cilexetil (TCV-116), an angiotensin II receptor antagonist, in rats / I. Naeshiro, K. Sato, F. Chatani, S. Sato // Europ J of Pharmacology. – 1998; 354 (2/3): 179–187.
- Adi Y. Berman. The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials / Adi Y. Berman, A. Rachel et al. // NPJ Precis Oncol. – 2017; 1: 35.
- Brisdelli F. Resveratrol: a natural polyphenol with multiple chemopreventive properties. / F. Brisdelli, G. D'Andrea, A. Bozzi // Curr Drug Metab. – 2009 Jul; 10(6): 530–46.
- Riba A. Cardioprotective effect of resveratrol in a postinfarction heart failure model. / A. Riba, L. Deres, B. Sumegi et al. // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2017; 2017:6819281, doi: 10.1155/2017/6819281.
- Zhigang Zhang. Resveratrol, a Natural Antioxidant, Has a Protective Effect on Liver Injury Induced by Inorganic Arsenic Exposure / Zhang Zhigang, Li Gao, Yanyan Cheng et al. // BioMed Research International. – Vol. 2014, Article ID 617202. – 7 p., <http://dx.doi.org/10.1155/2014/617202>.
- Beliayeva A. Changing in the number of CD117+ stem cells, cytogenetic and cytokinetic parameters under the using of candesartan, candesartan cilexetil and resveratrol in vitro / A. Beliayeva, L. Garmanchuk // Visnyk Taras Shevchenko National University of Kyiv. – 2019; 3(79): 54–57.
- Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Р. У. Хабриев. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
- Шилов Г. Н. Основы разработки новых лекарственных средств / Г. Н. Шилов, А. И. Хоменко, В. В. Евстигнеев. – Мед. новости. – 2009. – № 2. – С. 23–28.

#### Reference

- Zhao D, Liu H, Dong P. A Meta-analysis of antihypertensive effect of telmisartan versus candesartan in patients with essential hypertension. Clin Exp Hypertens 2019;41(1):75-79.

А. Беляєва, стажер, Л. Гарманчук, д-р біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### АНАЛІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН ПІД ЧАС ЗАСТОСУВАННЯ КАНДЕСАРТАНУ ЦИЛЕКСЕТИЛУ З РЕСВЕРАТРОЛОМ У ТВАРИН

Нині серцево-судинні захворювання широко поширені у світі. Випадки захворювань серцево-судинної системи збільшилися в кілька разів за останні роки. Ці захворювання стали причинами смертності, що лідирують у багатьох країнах світу. Сьогодні зусилля багатьох дослідників і лікарів спрямовані на вивчення і створення нових ефективніших і безпечніших препаратів та їхніх комбінацій для профілактики і лікування патології серцево-судинної системи. Кандесартан цилексетил є антагоністом рецепторів ангіотензину II. Нині він використовується в медицині як антигіпертензивний засіб тривалої дії. Однак відомо, що цей препарат має багато побічних ефектів. Ресвератрол – природний антиоксидант. Ця речовина виявляє плейотропні ефекти, включаючи антиоксидантну, протизапальну, омолоджувальну, кардіопротекторну і нейропротекторну активності. Мета проведеної роботи: дослідження гострої токсичності кандесартану цилексетилу і ресвератролу в комбінації *in vivo*. Для експерименту використовували самців і самок мишей ICR. Тварини отримували одноразово внутрішньошлунково кандесартан цилексетил і ресвератрол. Оцінювання впливу речовин на внутрішні органи (серце, селезінку, нирки, легені, печінку і мозок) проводили через 2 тижні після введення речовин. Було показано, що кандесартан цилексетил із природним ресвератролом не привів до функціональних змін. Змін у поведінці за період спостереження не виявлено. Комбінація кандесартану цилексетилу з ресвератролом не призвела до загибелі мишей, тому середньосмертельна доза (ЛД50) не визначалася. Нова комбінація речовин була безпечною. Побічні ефекти не зареєстровані. Під час проведення дослідження встановлено, що поєднання кандесартану цилексетилу з ресвератролом не токсичне, і використання цих речовин безпечно для тварин.

Ключові слова: серцево-судинні захворювання, кандесартан цилексетил, ресвератрол, гостра токсичність.

- De Rosa ML, Chiariello M. Candesartan improves maximal exercise capacity in hypertensives results of a randomized placebo-controlled crossover trial. J. Clin Hypertens. 2009; 11 (4): 192–200.
- Naeshiro I, Sato K, Chatani F, Sato S. Possible mechanism for the anemia induced by candesartan cilexetil (TCV-116), an angiotensin II receptor antagonist, in rats. Europ J of Pharmacology. 1998; 354 (2/3): 179–187.
- Adi Y. Berman, Rachel A. Motechin, Maia Y. Wiesenfeld, Marina K. Holz. The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials. NPJ Precis Oncol. 2017; 1: 35.
- Brisdelli F, D'Andrea G, Bozzi A. Resveratrol: a natural polyphenol with multiple chemopreventive properties. Curr Drug Metab. 2009 Jul; 10(6): 530–46.
- Riba A., Deres L., Sumegi B., Toth K., Szabados E., Halmosi R. Cardioprotective effect of resveratrol in a postinfarction heart failure model. Oxid. Med. Cell. Longev. 2017;2017:6819281. doi: 10.1155/2017/6819281.
- Zhigang Zhang, Li Gao, Yanyan Cheng, Jing Jiang, Yan Chen, Huijie Jiang, Hongxiang Yu, Anshan Shan, Baojing Cheng. Resveratrol, a Natural Antioxidant, Has a Protective Effect on Liver Injury Induced by Inorganic Arsenic Exposure. BioMed Research International. Volume 2014, Article ID 617202, 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/617202>.
- Beliayeva A., Garmanchuk L. Changing in the number of CD117+ stem cells, cytogenetic and cytokinetic parameters under the using of candesartan, candesartan cilexetil and resveratrol in vitro. Visnyk Taras Shevchenko National University of Kyiv. 2019; 3(79): 54 – 57.
- Р. У. Хабриев. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд., перераб. и доп. Медицина, 2005; 832 с.
- Г. Н. Шилов, А. И. Хоменко, В. В. Евстигнеев. Основы разработки новых лекарственных средств. Мед. новости. 2009; № 2: 23–28.

Надійшла до редколегії 05.01.2021  
Отримано виправлений варіант 01.01.2021  
Підписано до друку 01.01.2021

Received in the editorial 05.01.2021  
Received a revised version on 01.01.2021  
Signed in the press on 01.01.2021

А. Беляева, стажер, Л. Гарманчук, д-р биол. наук  
Киевський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### АНАЛІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІНЕНИЙ ПРИ ПРИМЕНЕННІ КАНДЕСАРТАН ЦИЛЕКСЕТИЛА С РЕСВЕРАТРОЛОМ У ЖИВОТНИХ

На сьогоднішній день серцево-судинні захворювання широко розповсюджені в світі. Случаї захворювань серцево-судинної системи збільшилися в декілька разів за останні роки. Зазначені захворювання стали лідируючими причинами смертності во многих странах мира. В настоящее время усилия многих исследователей и врачей направлены на изучение и создание новых более эффективных и безопасных препаратов и их комбинаций для профилактики и лечения патологии сердечно-сосудистой системы. Кандесартан цилексетил является антагонистом рецепторов ангиотензина II. Сегодня он используется в медицине в качестве антигипертензивного средства длительного действия. Однако известно, что этот препарат имеет ряд побочных эффектов. Ресвератрол – природный антиоксидант. Это вещество проявляет плейотропные эффекты, включая антиоксидантную, противовоспалительную, омолаживающую, кардиопротекторную и нейропротекторную активности. Цель проводимой работы: исследование острой токсичности кандесартана цилексетила и ресвератрола в комбинации *in vivo*. Для эксперимента использовали самцов и самок мышей ICR. Животные получали однократно внутривенно кандесартан цилексетил и ресвератрол. Оценку влияния веществ на внутренние органы (сердце, селезенку, почки, легкие, печень и мозг) проводили через 2 недели после введения веществ. Было показано, что кандесартан цилексетил с природным ресвератролом не привел к функциональным изменениям. Изменений в поведении за период наблюдения обнаружено не было. Комбинация кандесартана цилексетила с ресвератролом не привела к гибели мышей, поэтому среднесмертельная доза (ЛД50) не определялась. Новая комбинация веществ была безопасной. Побочные эффекты не зарегистрированы. В ходе проведения исследования было установлено, что сочетание кандесартана цилексетила с ресвератролом не токсично, и использование этих веществ безопасно для животных.

Ключевые слова: серцево-судинні захворювання, кандесартан цилексетил, ресвератрол, остра токсичність.

УДК 581.526.13 (477:292.452)  
DOI 10.17721/1728\_2748.2021.84.27–34

Л. Мацап'як, пров. наук. співроб.  
Національний природний парк "Верховинський", с. Верхній Ясенів, Україна

### РАРИТЕТНИЙ ФІТОГЕНОФОНД НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ "ВЕРХОВИНСЬКИЙ" І ЙОГО АНАЛІЗ

Про важливість збереження біотичного різноманіття зазначено у багатьох міжнародних документах, зокрема у "Конвенції з біологічного різноманіття" (Ріо-де-Жанейро, 1992). У цьому контексті на особливу увагу заслуговують рідкісні види, які є найвразливішими, оскільки раритетність передусім виміряно (Darwin, 1859). Особливо актуальними є дослідження рідкісних видів в Українських Карпатах, що є найменш антропогенно зміненою територією України. Збереження біотичного різноманіття у цьому регіоні має загальноєвропейське значення, що відображено у міжнародній "Рамковій конвенції про охорону і сталий розвиток Карпат" (Київ, 2003). Кількісна і якісна характеристики раритетного фітогенотипу дозволяють охарактеризувати рівень унікальності флори, служать основою для формування Регіональних Червоних списків і дозволяють організувати адекватні природоохоронні заходи. Солологічна характеристика флор різного рівня передбачає, перш за все, аналіз представленості таксонів, що є в її складі і занесені до червоних списків різного рівня – міжнародних, національних, регіональних. Раритетний компонент флори Національного природного парку "Верховинський" містить 125 видів судинних рослин, які мають міжнародний, національний і регіональний соціологічний статуси. З них 64 види рослин занесені до Червоної книги України, 3 види – до Червоного списку МСОП, 7 видів занесені до Європейського Червоного списку, 2 види – до Додатку I Бернської конвенції, 2 види – до Додатку IIb і IVb Директиви ЄС про збереження типів оселищ і видів природної фауни і флори. 21 вид занесений до Додатку II CITES, 26 видів – до Регіонального Червоного списку. Таким чином на території Парку охороняється третина (32,3 %) "червонокнижних" видів судинних рослин Івано-Франківської області, а це складає 29,9 % "червонокнижних" видів рослин Українських Карпат. Провідні родини раритетного компонента флори Парку "Верховинський" – Orchidaceae. Другу і третю позиції займають родини Ranunculaceae і Asteraceae. Загалом на частку перших трьох родин припадає 39,6 % видового складу списку. Загалом перші дев'ять таксонів охоплюють більше двох третин (64,9 %) видового складу списку. За результатами хорологічного аналізу встановлено, що найбільша кількість рідкісних видів та їхніх локалітетів зосереджена на гірських масивах: Гнетеса-Фатія Банулуї, Прелуки-Хитанка, Лостун-Глистувата, Палениця-Команова, найраритетніші види приурочено до середньогірського поясу.

Ключові слова: поширення, рідкісні види, збереження, флора, раритетний компонент, НПП "Верховинський", Чивчино-Гринявські гори.

**Вступ.** Національний природний парк "Верховинський" (далі – НППВ) створено Указом Президента України від 22 січня 2010 р. (№ 58/2010) в адміністративних межах Верховинського району Івано-Франківської області, загальною площею 12022,9 га.

Унікальні природні флористичні комплекси регіону є резерватами багатьох раритетних видів, що охороняються на міжнародному, державному та регіональному рівнях. Це зумовлено насамперед особливостями геологічної будови – порівняно значною присутністю тут вапняків, які є вкрай рідкісними в українській частині Східних Карпат. Чивчинські гори розташовані на прикордонні з Румунією. Майже вся українська частина Чивчинських гір приурочена до помірних висот, які відповідають лісовому поясові, і лише окремі вершини (масиви гір Команова-Палениця-Гнетеса на його південно-східному краї) належать до високогір'я. З огляду на певні кліматичні особливості первинний лісовий покрив тут представлено майже винятково хвойними лісами з домінуванням смереки і ялиці за відсутності смуги букових лісів. У Чивчинських горах чітко

виражено поясний розподіл рослинності. Специфічним є те, що у зв'язку із загальним підняттям цього району передгірний пояс, який ми спостерігаємо в інших районах Українських Карпат, тут відсутній. Ця обставина зумовлює виокремлення тут двох поясів – гірський лісовий (монтанний) і субальпійський пояси. Хоча на окремих вершинах Гнетеса (1769 м), Команова (1734 м) зустрічаються характерні види рослин, що приурочені до альпійського поясу [10, 13].

Унаслідок багатолітнього випасання і супутньої антропогенної діяльності лісову рослинність на значних площах, переважно на верхівках гірських хребтів, перетворено на вторинні полонини, які заселили високогірні лучні види. Нині антропогенну діяльність тут практично припинено, а рослинність і флора регіону зазнають досить помітних мутаційних змін. Причому чисельність одних видів зростає, натомість інші – зменшуються. Тому обґрунтування і розроблення заходів охорони раритетних видів рослин НППВ на підставі всебічного дослідження їхніх біоекологічних особливостей, інвентаризації всіх локалітетів та оцінювання реального стану регіональних популяцій є актуальними.