

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 576.08:576.53+615.017

БЕЛЯЕВА
Александра Викторовна

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ
МОБИЛИЗАЦИИ ЭНДОГЕННЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ
КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИЯ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Минск 2016

Научная работа выполнена в государственном научном учреждении «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси»

Научный руководитель **Афонин Виктор Юрьевич**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией фармакогенетики государственного научного учреждения «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси»

Официальные оппоненты: **Дубовик Борис Валентинович**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Кравченко Елена Валерьевна, кандидат биологических наук, ведущий фармаколог Республиканского производственного унитарного предприятия «Академфарм»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 21 июня в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.10 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел. (017) 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «_____» мая 2016 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент



А. В. Волчек

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) – одни из самых распространенных патологий во всем мире, которые являются причиной около 30 % смертельных случаев ежегодно [Бочков, 2010]. В связи с этим исследования, направленные на разработку инновационных эффективных и безопасных методов профилактики, диагностики и лечения ССЗ, создание новых лекарств и их комбинаций, являются актуальными во всём мире, в том числе и в нашей стране. В последнее время для лечения различных заболеваний, включая ССЗ, широко используются клеточные технологии, которые можно разделить в основном на два вида. Первый тип состоит в получении стволовых клеток и предшественников тканей направленной терапии в системе *in vitro* с последующим введением их в кровоток и/или имплантацией в поврежденные ткани и органы, предназначенные для лечения [Бокерия, 2004; Бокерия, 2006; Ахмедов, 2011]. Второй способ заключается в индукции образования стволовых клеток и клеток-предшественников в организме с целью активации репарации путем приёма ряда веществ, в том числе регуляторов рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPARs), а также ингибиторов деацетилаз гистонов (HDACs) [Shinohara, 2002; Yao, 2007; Yu, 2008; Vurba, 2011; Mahapatra, 2010]. Данные вещества используются для мобилизации и получения стволовых клеток, которые в последующем выделяются из крови для манипуляций *in vitro* (первый способ). На животных показано, что мобилизованные стволовые клетки и клетки-предшественники эндотелия способны мигрировать в сердечную мышцу и эндотелий с последующим положительным терапевтическим эффектом [Orlic, 2001; Orlic, 2002]. Таким образом, исследование возможности применения различных лекарственных средств, в том числе гипотензивного средства кандесартана цилексетила (регулятор PPARs), а также природных соединений, в том числе антиоксиданта ресвератрола (регулятор PPARs и HDACs), которые обладают потенциальным эффектом стимуляции образования эндотелиальных прогениторных клеток, по новому назначению, а именно для мобилизации стволовых клеток и клеток-предшественников эндотелия в костном мозге и увеличения их количества в крови, является актуальным для лечения ССЗ.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами. Диссертационная работа выполнена в рамках задания Ф 28 «Разработать и освоить технологию производства отечественного комплексного препарата, стимулирующего неоангиогенез у больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН)» ГП «Импортозамещающая фармпродукция». Подпрограмма «Фармсубстанции и готовые лекарственные средства» на 2010–2012 гг., № госрегистрации 20113775; в рамках задания 2.03 «Разработать

систему тестов для экспресс-оценки ДНК повреждающего действия потенциально опасных химических веществ» ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация». Подпрограмма «Фармакология и фармация» на 2012–2014 гг., № госрегистрации 20122290; в рамках задания 1.2.06 «Изучить терапевтический потенциал различных линий клеток человека при моделировании хронической сердечной недостаточности в эксперименте» ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация». Подпрограмма «Новые технологии профилактики, диагностики, лечения и реабилитации» на 2011–2013 гг., № госрегистрации 20114868.

Тема исследования соответствует пунктам Перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2011–2015 годы (2.7. Новые лекарственные средства и биокорректоры различных заболеваний, фармацевтические субстанции, современные диагностические тест-системы, технологии их производства, оценки качества и безопасности).

Цель и задачи исследования. Цель работы – изучение комплексного действия кандесартана цилексетила и ресвератрола на мобилизацию эндогенных предшественников клеток эндотелия в эксперименте при нарушениях работы сердечно-сосудистой системы, а также оценка возможности использования данных клеток в прогнозировании течения некоторых форм патологических состояний сердечно-сосудистой системы.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

– исследовать *in vitro* влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола в различных дозировках и соотношениях на число эндотелиальных прогениторных клеток, апоптотических клеток, клеток с микроядрами и распределение клеток по фазам клеточного цикла;

– изучить *in vivo* на моделях экспериментальных животных уровень эндотелиальных прогениторных клеток, апоптотических клеток, клеток с микроядрами и распределение клеток по фазам клеточного цикла в костном мозге и крови при использовании кандесартана цилексетила и ресвератрола в различных дозировках и соотношениях;

– изучить количество эндотелиальных прогениторных клеток, апоптотических клеток, клеток с микроядрами и распределение клеток по фазам клеточного цикла в крови пациентов с клинически подтвержденным ремоделированием миокарда.

Объекты и предмет исследования. Основными объектами исследования служили культуры клеток костного мозга мышей линии C57Bl/6, жировой ткани человека, мышцы линий Balb/C, C57Bl/6, мыши ICR, крысы линий WKY и SHR, кровь пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Предмет

исследования – эндотелиальные прогениторные клетки, апоптотические клетки, клетки с микроядрами, клеточный цикл, масса внутренних органов.

Научная новизна. Впервые установлено, что антагонист рецепторов ангиотензина II кандесартан цилексетил увеличивает количество эндотелиальных прогениторных клеток *in vivo* (эксперименты на мышах линий C57Bl/6 и Balb/C). Впервые выявлено, что совместное применение кандесартана цилексетила и природного антиоксиданта ресвератрола приводит к увеличению количества клеток-предшественников эндотелия *in vitro* (исследования на культурах клеток костного мозга мышей линии C57Bl/6 и жировой ткани человека) и *in vivo* (эксперименты на мышах линий C57Bl/6 и Balb/C) и является более безопасным по сравнению с использованием только кандесартана цилексетила, поскольку позволяет снизить дозу последнего в 2 раза без потери эффекта стимуляции образования эндотелиальных прогениторных клеток.

Предложен новый дополнительный критерий для диагностики особенностей течения сердечно-сосудистых заболеваний у людей, который включает анализ числа циркулирующих предшественников клеток эндотелия, распределения клеток по фазам клеточного цикла, количества апоптотических клеток и клеток с микроядрами.

Полученные данные вносят существенный вклад в развитие представлений о мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток посредством использования веществ, являющихся регуляторами PPARs и ингибиторами HDACs; методах оценки регенерационных процессов, происходящих в сердечно-сосудистой системе, необходимых для формирования групп риска пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и контроля эффективности терапии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Антагонист рецепторов ангиотензина II кандесартан цилексетил, который является регулятором рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPARs), приводит к увеличению количества эндотелиальных прогениторных клеток у животных *in vivo* и снижению числа данных клеток *in vitro*.

2. Совместное использование кандесартана цилексетила и природного антиоксиданта ресвератрола, который является регулятором рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPARs), и ингибитором деацетилаз гистонов (HDACs), увеличивает число клеток-предшественников эндотелия *in vitro* и *in vivo*, причем применение кандесартана цилексетила с ресвератролом позволяет снизить дозировки кандесартана цилексетила в 2 раза, уменьшив его побочное действие без потери эффективности мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток.

3. Новый интегральный диагностический критерий оценки показателей крови людей, заключающийся в одновременном анализе по разработанной

автором методике количества циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток, апоптотических клеток, клеток с микроядрами и распределения клеток по фазам клеточного цикла, может использоваться в качестве дополнительного критерия как при диагностике сердечно-сосудистых заболеваний, а именно при формировании групп риска пациентов с сердечно-сосудистыми патологиями, так и при оценке эффективности терапии, что является основой для разработки нового подхода к лечению сердечно-сосудистых заболеваний.

Личный вклад соискателя ученой степени. Автором лично осуществлена постановка целей и задач, выбраны модели экспериментальных исследований, изучены влияния веществ (кандесартана цилексетила, ресвератрола) на изменения числа эндотелиальных прогениторных клеток, апоптотических клеток, клеток с микроядрами и распределение клеток по фазам клеточного цикла *in vitro* и *in vivo*; экспериментально определена эффективность комбинации кандесартана цилексетила и ресвератрола в повышении числа эндотелиальных прогениторных клеток. Самостоятельно разработана новая модель исследования показателей крови, включающая количественный анализ циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток, проведение исследований содержания апоптотических клеток, клеток с микроядрами и распределения клеток по фазам клеточного цикла. Автором осуществлены внедрения в учебные процессы кафедры генетики биологического факультета Белорусского государственного университета и кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет». Анализ результатов исследований, формулировка выводов, статистическая обработка полученных данных, написание диссертации, подготовка и опубликование статей в рецензируемых изданиях, в материалах конференций и тезисов докладов осуществлены соискателем самостоятельно. Планирование исследований и обсуждение результатов проводились совместно с научным руководителем к.б.н. В. Ю. Афониним.

По результатам диссертации опубликованы статьи [2–5, 7], материалы конференций [11, 12, 16] и тезисы докладов [19–25, 27], в которых изложены данные о влиянии кандесартана цилексетила на изменение количества эндотелиальных прогениторных клеток *in vivo* и *in vitro* – вклад соискателя 90 %. Результаты исследования влияния кандесартана цилексетила в сочетании с ресвератролом на количество клеток-предшественников эндотелия, число клеток с признаками апоптоза и с микроядрами, распределение клеток по фазам клеточного цикла *in vitro* и *in vivo* отражены в статьях [1–5, 7], материалах конференций [9–13, 15, 16, 31] и тезисах докладов [19–25, 27–30] – вклад диссертанта 90 %. Результаты изучения показателей крови людей, которое заключается в одновременном анализе количества циркулирующих

эндотелиальных прогениторных клеток, апоптотических клеток, клеток с микроядрами и распределения клеток по фазам клеточного цикла изложены в статье [6], материалах конференции [14] и тезисах доклада [26] – вклад соискателя 90 %.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов. Основные результаты работы были доложены на научной конференции, посвященной 20-летию кафедры белорусской логі «Белорусская логі ў сучаснай логіцы і мастацтве» (Минск, 2012); IV Международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика А. А. Ахрема «Химия, структура и функция биомолекул» (Минск, 2012); III Международной молодежной научно-практической конференции «Научные стремления – 2012» (Минск, 2012); the International conference of young scientists, graduates, master and PhD students «Actual environmental problems» (Minsk, 2012); XX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2013» (Москва, 2013); конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора М. В. Кораблева (Гродно, 2013); 17-й Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2013); the I International Scientific Conference of Students and PhD Students «Cell Technology Week 2013» (Kiev, 2013); 13-й Международной научной конференции «Сахаровские чтения 2013 года: экологические проблемы XXI века» (Минск, 2013); Международной научной конференции «Биологически активные вещества растений – изучение и использование» (Минск, 2013); Международном форуме врачей «Новая волна в медицине» (Рига-Юрмала, 2013); Всероссийской научной конференции молодых ученых «Медико-биологические аспекты химической безопасности» (Санкт-Петербург, 2013); I Международном симпозиуме «Метаболический синдром: эксперимент, клиника, терапия» (Гродно, 2013); XXI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2014» (Москва, 2014); II Международном форуме русскоговорящих врачей «Новая волна в медицине» (Юрмала, 2014); fifth International medical congress (Ohrid, 2014); Международной научно-практической конференции «Белорусские лекарства» (Минск, 2014); XXII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2015» (Москва, 2015); 19-й Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2015), Международном форуме врачей «Новая волна в медицине» (Рига-Юрмала, 2015), X Международной научной конференции молодых ученых «Молодежь в науке – 2015» (Минск, 2015).

Автором сделаны два внедрения в учебные процессы кафедры генетики биологического факультета Белорусского государственного университета

и кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Опубликование результатов диссертации. По материалам диссертации опубликована 31 работа, из них 7 статей в рецензируемых научных изданиях, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (общим объемом 3,16 авторских листа), 24 работы – материалы конференций и тезисы докладов (общим объемом 2,88 авторских листа). Общий объем опубликованных материалов составляет 6,04 авторских листа. Без соавторов опубликовано 6 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, 7 глав, заключения, списка использованных источников (264 наименования на 22 страницах), списка публикаций соискателя ученой степени (31 наименование на 5 страницах) и приложения. Работа изложена на 173 страницах машинописного текста и содержит 20 таблиц на 20,5 страницах и 10 рисунков на 6,5 страницах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследований

В экспериментах *in vitro* использовали клетки костного мозга мышей линии C57Bl/6 и жировой ткани человека. Изучали влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола в различных дозировках и соотношениях на число эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) с фенотипами CD117+, CD34+, CD117+/CD34+, CD31+, количество апоптотических клеток, клеток с микроядрами, распределение клеток по фазам клеточного цикла с помощью проточной цитофлуориметрии («Cytomics FC 500» («Beckman Coulter», США)). Для определения ингибирующих концентраций кандесартана цилексетила и ресвератрола *in vitro* использовали метилтетразолиевый тест («Stat Fax 3200» («Awareness Technology», США)).

На здоровых половозрелых мышцах линии C57Bl/6 (самцы, 60 особей) изучали влияние ежедневного введения в течение 7 недель кандесартана цилексетила и ресвератрола в различных дозировках и соотношениях на изменение числа клеток с фенотипом CD117+, апоптотических клеток, клеток с микроядрами, на распределение клеток по фазам клеточного цикла в костном мозге и крови с помощью метода проточной цитофлуориметрии («Cytomics FC 500» («Beckman Coulter», США)). Также исследовали двигательную активность мышей линии C57Bl/6 после кратковременного (7 дней) и длительного (7 недель) введений выбранных веществ с помощью актометра «Opto-Varimex» («Columbus Instrum», США). Изучали массу тела, абсолютную и относительную массы сердца. Массовые индексы внутренних органов рассчитывали по формуле 1. Расчет ежедневных вводимых доз исследуемых веществ проводили по формуле межвидового пересчета (формула 2) [Хабриев, 2005].

На здоровых половозрелых мышах линии Balb/C (самцы, 80 особей) изучали влияние физических нагрузок (плавание с 2%-ным грузом от массы тела на выносливость ежедневно в течение 2 месяцев) и последующего применения в течение 4 недель кандесартана цилексетила и ресвератрола в различных дозировках и соотношениях на число клеток с фенотипом CD117+, апоптотических клеток, клеток с микроядрами, на распределение клеток по фазам клеточного цикла в костном мозге и крови с помощью метода проточной цитофлуориметрии («Cytomics FC 500» («Beckman Coulter», США)), также проводили анализ изменения массы сердца животных (формула 1).

$$\text{ОКМ} = \frac{A}{B} \times 1000, \quad (1)$$

где ОКМ – относительный коэффициент массы органа;

A – масса органа;

B – масса тела.

$$A = \frac{B \times \kappa(B)}{\kappa(A)}, \quad (2)$$

где A – искомая доза;

B – известная доза;

$\kappa(B)$ – коэффициент пересчета для веса B ;

$\kappa(A)$ – коэффициент пересчета для веса A .

На здоровых половозрелых мышах ICR (самцы и самки, 40 особей) изучена токсичность комплексного применения кандесартана цилексетила и ресвератрола.

У детей (12–18 лет обоего пола (22 человека)), страдающих правожелудочковыми нарушениями ритма сердца, с помощью метода проточной цитофлуориметрии («Cytomics FC 500» («Beckman Coulter», США)) исследованы количества клеток с CD117+, CD34+ и CD117+/CD34+, число апоптотических клеток, клеток с микроядрами, распределение клеток по стадиям клеточного цикла в крови. В контрольную группу включены здоровые дети (12 человек). Проведено изучение числа апоптотических клеток, клеток с микроядрами, распределения клеток по стадиям клеточного цикла в крови людей обоего пола в возрасте 44–80 лет, страдающих ишемической болезнью сердца (10 человек), которые в дальнейшем подвергались оперативным вмешательствам (маммарно-коронарное шунтирование, аортокоронарное шунтирование, пластика митрального клапана и др.). В контрольные группы включены доноры без сердечно-сосудистых патологий из двух областей Беларуси: Минской (доноры 1) (10 человек) и Гомельской (доноры 2) (40 человек). Материал (венозная кровь) был предоставлен сотрудниками РНПЦ «Кардиология».

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистических пакетов прикладных программ «Microsoft Excel» и «Statistica 6.0». В качестве характеристик полученных выборок использовали среднее, стандартную ошибку среднего, объем выборки. Статистическую достоверность различий между группами данных оценивали при помощи ANOVA, Student's t-test (при нормальном распределении), Kruskal–Wallis, Mann–Whitney U-test (при ненормальном распределении). Статистически значимые различия между группами фиксировали при уровне $p < 0,05$.

Влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола на число клеток с фенотипом CD117+, цитогенетические показатели и параметры клеточной кинетики в культуре клеток костного мозга мышей линии C57Bl/6

Отмечено увеличение числа клеток с фенотипом CD117+ при повышении концентрации ресвератрола как при моновоздействии, так и в сочетании с кандесартаном цилексетилом. Эффект стимуляции образования клеток с фенотипом CD117+ при комбинированном действии кандесартана цилексетила и ресвератрола достигается за счет последнего (таблица 1).

Таблица 1. – Число клеток с фенотипом CD117+ в культуре клеток костного мозга мышей линии C57Bl/6 при использовании кандесартана цилексетила и ресвератрола

Группа	Количество клеток с CD117+, %
1. Контроль	100,00±2,73
2. Кандесартан 3 мкг/мл	56,66±2,25
3. Кандесартан 1,5 мкг/мл	62,60±1,77
4. Ресвератрол 1 мкг/мл	99,52±2,41
5. Ресвератрол 5 мкг/мл	102,73±1,77
6. Ресвератрол 10 мкг/мл	105,46±2,25
7. Ресвератрол 30 мкг/мл	126,81±2,41
8. Ресвератрол 50 мкг/мл	142,21±2,89
9. Кандесартан 1,5 мкг/мл и ресвератрол 1 мкг/мл	69,02±2,73
10. Кандесартан 1,5 мкг/мл и ресвератрол 5 мкг/мл	71,11±2,89
11. Кандесартан 1,5 мкг/мл и ресвератрол 10 мкг/мл	100,64±3,85
12. Кандесартан 1,5 мкг/мл и ресвератрол 30 мкг/мл	128,89±2,89
13. Кандесартан 1,5 мкг/мл и ресвератрол 50 мкг/мл	139,65±1,77
$p_{1-2} < 0,05$; $p_{1-3} < 0,05$; $p_{1-7} < 0,05$; $p_{1-8} < 0,05$; $p_{1-9} < 0,05$; $p_{1-10} < 0,05$; $p_{1-12} < 0,05$; $p_{1-13} < 0,05$; $p_{2-4} < 0,05$; $p_{2-5} < 0,05$; $p_{2-6} < 0,05$; $p_{2-7} < 0,05$; $p_{2-8} < 0,05$; $p_{2-9} < 0,05$; $p_{2-10} < 0,05$; $p_{2-11} < 0,05$; $p_{2-12} < 0,05$; $p_{2-13} < 0,05$; $p_{3-4} < 0,05$; $p_{3-5} < 0,05$; $p_{3-6} < 0,05$; $p_{3-7} < 0,05$; $p_{3-8} < 0,05$; $p_{3-10} < 0,05$; $p_{3-11} < 0,05$; $p_{3-12} < 0,05$; $p_{3-13} < 0,05$; $p_{4-7} < 0,05$; $p_{4-8} < 0,05$; $p_{4-9} < 0,05$; $p_{4-10} < 0,05$; $p_{4-12} < 0,05$; $p_{4-13} < 0,05$; $p_{5-7} < 0,05$; $p_{5-8} < 0,05$; $p_{5-9} < 0,05$; $p_{5-10} < 0,05$; $p_{5-12} < 0,05$; $p_{5-13} < 0,05$; $p_{6-7} < 0,05$; $p_{6-8} < 0,05$; $p_{6-9} < 0,05$; $p_{6-10} < 0,05$; $p_{6-12} < 0,05$; $p_{6-13} < 0,05$; $p_{7-8} < 0,05$; $p_{7-9} < 0,05$; $p_{7-10} < 0,05$; $p_{7-11} < 0,05$; $p_{7-13} < 0,05$; $p_{8-9} < 0,05$; $p_{8-10} < 0,05$; $p_{8-11} < 0,05$; $p_{8-12} < 0,05$; $p_{9-11} < 0,05$; $p_{9-12} < 0,05$; $p_{9-13} < 0,05$; $p_{10-11} < 0,05$; $p_{10-12} < 0,05$; $p_{10-13} < 0,05$; $p_{11-12} < 0,05$; $p_{11-13} < 0,05$	

Примечание – Кандесартан – кандесартан цилексетил; за 100 % принимались значения контроля.

Впервые установлено, что использование кандесартана цилексетила в концентрации 1,5 мкг/мл с ресвератролом в концентрациях 10 мкг/мл

и 50 мкг/мл снижает долю клеток с повреждениями дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) ($5,31 \pm 0,62$ % и $5,35 \pm 0,42$ % соответственно) по сравнению с контролем ($7,56 \pm 0,26$ %) и применением кандесартана цилексетила в концентрации 3 мкг/мл ($8,76 \pm 0,83$ %) ($p < 0,05$). Впервые показано, что совместное использование кандесартана цилексетила и ресвератрола также оказывает стимулирующее влияние на пролиферативные процессы, протекающие в культуре клеток.

**Влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола
на число клеток с CD117+, CD34+, CD117+/CD34+ и CD31+
в культуре жировой ткани человека**

При совместном использовании кандесартана цилексетила с ресвератролом, когда снижена доза первого в 2 раза, впервые выявлен стимулирующий дифференцировку клеток потенциал ресвератрола в культуре жировой ткани человека. Использование клеточного маркера CD117 эффективно для регистрации прямой мобилизации клеток, что позволяет применять его для дальнейшего проведения экспериментов *in vivo* (таблица 2).

Таблица 2. – Влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола на число клеток с CD117+, CD34+, CD117+/CD34+ и CD31+ в культуре жировой ткани человека

Группа	Число клеток с CD117+, %	Число клеток с CD34+, %	Число клеток с CD117+/CD34+, %	Число клеток с CD31+, %
1. Контроль	$100,00 \pm 20,00$	$100,00 \pm 7,53$	$100,00 \pm 2,40$	$100,00 \pm 3,85$
2. Кандесартан 1,5 мкг/мл	$83,33 \pm 10,00$	$100,65 \pm 15,32$	$84,00 \pm 7,20$	$78,49 \pm 1,45$
3. Кандесартан 1,5 мкг/мл и ресвератрол 50 мкг/мл	$200,00 \pm 40,00$	$92,21 \pm 5,19$	$172,00 \pm 30,40$	$106,42 \pm 8,88$
	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$		$p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$

Примечание – Кандесартан – кандесартан цилексетил; за 100 % принимались значения контроля.

**Влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола
на цитогенетические показатели и параметры клеточной кинетики
в культуре клеток жировой ткани человека**

Ресвератрол в концентрации 50 мкг/мл не оказывает цитотоксический эффект на клетки жировой ткани человека *in vitro*, тогда как в концентрации 100 мкг/мл усиливает гибель клеток на 14,37 % по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Кандесартан цилексетил в концентрации 1,5 мкг/мл с ресвератролом в концентрации 50 мкг/мл снижает число клеток с повреждениями ДНК ($p < 0,05$).

Данные, впервые полученные *in vitro*, служат основанием для использования указанной комбинации веществ в экспериментах *in vivo* с целью изучения изменения количества ЭПК, доли апоптотических клеток, числа

клеток с микроядрами, распределения клеток по фазам клеточного цикла в костном мозге и в крови животных.

Влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола на число клеток с фенотипом CD117+ в костном мозге и в крови мышей линии C57Bl/6

Впервые показано, что кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг значительно увеличивает число ЭПК в крови животных, тогда как в дозе 3 мг/кг стимулирует образование клеток с фенотипом CD117+ в костном мозге и в крови. Впервые выявлено, что кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозе 1 мг/кг увеличивают число ЭПК в крови. Полученные результаты могут объясняться тем, что клетки быстро покидают костный мозг и дозревают в крови, поэтому маркер CD117 детектируется только в крови. Впервые установлено, что кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозах 10 мг/кг и 50 мг/кг приводят к значительному увеличению числа ЭПК и в костном мозге, и в крови мышей линии C57Bl/6, причем изучаемые показатели соответствуют таковым группы животных, которая получала кандесартан цилексетил в дозе 3 мг/кг (таблица 3).

Таблица 3. – Количество клеток с фенотипом CD117+ в костном мозге и в крови мышей линии C57Bl/6, получавших кандесартан цилексетил и ресвератрол

Группа	Число клеток с CD117+ в костном мозге, %	Число клеток с CD117+ в крови, %
1. Контрольная группа	100,00±7,21	100,00±2,71
2. Группа 1 (кандесартан 3 мг/кг)	200,25±5,03	234,36±8,50
3. Группа 2 (кандесартан 1,5 мг/кг)	91,76±10,28	136,93±9,36
4. Группа 3 (кандесартан 1,5 мг/кг и ресвератрол 1 мг/кг)	102,57±11,60	151,36±12,14
5. Группа 4 (кандесартан 1,5 мг/кг и ресвератрол 10 мг/кг)	208,78±3,46	245,64±12,07
6. Группа 5 (кандесартан 1,5 мг/кг и ресвератрол 50 мг/кг)	219,77±7,14	287,79±18,14
	p ₁₋₂ <0,05; p ₂₋₆ <0,05 p ₁₋₅ <0,05; p ₃₋₅ <0,05 p ₁₋₆ <0,05; p ₃₋₆ <0,05 p ₂₋₃ <0,05; p ₄₋₅ <0,05 p ₂₋₄ <0,05; p ₄₋₆ <0,05	p ₁₋₂ <0,05; p ₂₋₅ <0,05 p ₁₋₃ <0,05; p ₂₋₆ <0,05 p ₁₋₄ <0,05; p ₃₋₅ <0,05 p ₁₋₅ <0,05; p ₃₋₆ <0,05 p ₁₋₆ <0,05; p ₄₋₅ <0,05 p ₂₋₃ <0,05; p ₄₋₆ <0,05 p ₂₋₄ <0,05

Примечание – Кандесартан – кандесартан цилексетил; за 100 % принимались значения контроля.

Влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола на цитогенетические показатели и параметры клеточной кинетики костного мозга и крови мышей линии C57Bl/6

Кандесартан цилексетил в дозе 3 мг/кг увеличивает число апоптотических клеток в костном мозге по сравнению со значениями контрольной группы

($p < 0,05$); в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозе 1 мг/кг снижает число апоптотических клеток в костном мозге животных ($p < 0,05$) по сравнению с действием кандесартана цилексетила в дозе 3 мг/кг. Количество клеток с микроядрами при применении кандесартана цилексетила в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрола в дозе 1 мг/кг было ниже, чем при действии кандесартана цилексетила в дозе 3 мг/кг ($p < 0,05$).

Кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг увеличивает число апоптотических клеток в крови мышей линии C57Bl/6 по сравнению со значениями в контроле ($p < 0,05$). Наблюдается усиление процессов клеточной гибели, что, возможно, является следствием протекторных свойств ресвератрола, которые проявляются в элиминации клеток с повреждениями ДНК, индуцированными антигипертензивным лекарственным средством. Можно предположить, что ресвератрол оказывает влияние на отдаленную клеточную гибель в крови, которая не наблюдается в костном мозге при комбинировании изучаемых веществ. Отмечено восстановление параметров клеточного цикла до значений контроля. Также изучаемые вещества в различных дозировках и соотношениях не изменяют массу сердца животных.

Двигательная активность животных при действии кандесартана цилексетила и ресвератрола

При использовании кандесартана цилексетила в дозах 3 мг/кг и 1,5 мг/кг наблюдается тенденция к снижению двигательной активности у мышей линии C57Bl/6. Кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозах 1 мг/кг и 50 мг/кг восстанавливает основные параметры двигательной активности, что позволяет говорить о защитных свойствах ресвератрола на нервную систему, проявляющихся в восстановлении поведенческой активности животных.

На основе результатов, полученных впервые при изучении мобилизации ЭПК, числа клеток с повреждениями генетического материала, параметров клеточного цикла костного мозга и крови, изменений ОКМ сердца мышей линии C57Bl/6, анализе двигательной активности животных, можно сделать вывод, что при применении кандесартана цилексетила в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозах 10 мг/кг и 50 мг/кг происходят мобилизация клеток с фенотипом CD117+ в костном мозге и увеличение количества ЭПК в крови мышей, а также уменьшается цитотоксическое воздействие кандесартана цилексетила на клеточные процессы в костном мозге и в крови животных за счет действия ресвератрола.

Влияние физических нагрузок и последующего применения кандесартана цилексетила и ресвератрола на число клеток с фенотипом CD117+ в костном мозге и в крови мышей линии Balb/C

Кандесартан цилексетил в дозе 3 мг/кг, а также кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг и 50 мг/кг после

цикла физических нагрузок приводят к значительному увеличению числа ЭПК в костном мозге и крови животных (таблица 4).

Таблица 4. – Количество клеток с фенотипом CD117+ в костном мозге и в крови мышей линии Valb/C после физических нагрузок и последующего введения кандесартана цилексетила и ресвератрола

Группа	Число клеток с CD117+ в костном мозге, %	Число клеток с CD117+ в крови, %
1. Контрольная группа 1 (интактная)	93,71±4,43	79,95±17,28
2. Контрольная группа 2 (ФН)	100,00±7,57	100,00±12,48
3. Группа 1 (ФН, кандесартан 3 мг/кг)	140,77±13,70	185,88±14,63
4. Группа 2 (ФН, кандесартан 1,5 мг/кг)	88,88±6,45	118,91±16,14
5. Группа 3 (ФН, кандесартан 1,5 мг/кг и ресвератрол 10 мг/кг)	153,75±14,02	219,42±26,86
6. Группа 4 (ФН, кандесартан 1,5 мг/кг и ресвератрол 30 мг/кг)	155,68±17,08	247,16±35,31
7. Группа 5 (ФН, кандесартан 1,5 мг/кг и ресвератрол 50 мг/кг)	217,40±10,39	322,19±64,82
	p ₁₋₃ <0,05; p ₃₋₄ <0,05 p ₁₋₅ <0,05; p ₃₋₇ <0,05 p ₁₋₆ <0,05; p ₄₋₅ <0,05 p ₁₋₇ <0,05; p ₄₋₆ <0,0 p ₂₋₃ <0,05; p ₄₋₇ <0,05 p ₂₋₅ <0,05; p ₅₋₇ <0,05 p ₂₋₆ <0,05; p ₆₋₇ <0,05 p ₂₋₇ <0,05	p ₁₋₃ <0,05; p ₂₋₆ <0,05 p ₁₋₅ <0,05; p ₂₋₇ <0,05 p ₁₋₆ <0,05; p ₃₋₄ <0,05 p ₁₋₇ <0,05; p ₄₋₅ <0,05 p ₂₋₃ <0,05; p ₄₋₆ <0,05 p ₂₋₅ <0,05; p ₄₋₇ <0,05

Примечание – ФН – физические нагрузки; за 100 % принимались значения контрольной группы 2.

Влияние физических нагрузок и последующего применения кандесартана цилексетила и ресвератрола на цитогенетические параметры и показатели клеточной кинетики костного мозга и крови мышей линии Valb/C

Длительные физические нагрузки приводят к увеличению количества апоптотических клеток в костном мозге. Впервые установлено, что кандесартан цилексетил в дозах 3 мг/кг и 1,5 мг/кг после цикла физических нагрузок приводит к селекционным процессам в гетерогенных клеточных популяциях костного мозга, которые выражаются в накоплении апоптотических клеток и клеток с микроядрами, характеризующие наличие повреждений ДНК. Впервые выявлено, что кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг и 50 мг/кг после физических нагрузок увеличивают число апоптотических клеток и клеток с микроядрами в костном мозге мышей линии Valb/C ($p < 0,05$). Данные вещества усиливают процессы клеточной гибели в костном мозге, что является следствием протекторных свойств ресвератрола, проявляющиеся в элиминации клеток с повреждениями ДНК, появлению которых способствовали длительные физические нагрузки. Установлено, что интенсивные физические нагрузки ведут к угнетению процессов пролиферации

и накоплению клеток с повреждениями ДНК в крови. Кандесартан цилексетил в дозе 3 мг/кг, а также кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг и 50 мг/кг восстанавливают исследуемые параметры, что свидетельствует о протекторных свойствах выбранных веществ.

У мышей, которым вводили кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозе 50 мг/кг, ОКМ сердца был достоверно выше по сравнению с контрольными группами. В основе такого изменения значений ОКМ сердца лежат длительные физические нагрузки [Evangelista, 2003; Sharma, 1999].

Впервые установлено, что действие кандесартана цилексетила и ресвератрола в комбинации соответствует действию веществ IV класса токсичности, то есть является малотоксичным.

Учитывая результаты проведенных исследований на мышах линий C57Bl/6 и Balb/C, можно заключить, что применение кандесартана цилексетила с ресвератролом эффективно при восстановлении параметров клеточного цикла, цитогенетических показателей костного мозга и крови животных.

Число клеток с CD117+, CD34+ и CD117+/CD34+ в крови детей с правожелудочковыми нарушениями ритма сердца

У пациентов с заболеваниями число клеток с CD117+, CD34+ и CD117+/CD34+ больше в 1,60, 1,68 и 1,96 раз соответственно по сравнению с таковыми показателями у здоровых детей ($p < 0,05$), что является результатом мобилизации ЭПК в ответ на развитие повреждений и нарушений работы сердечно-сосудистой системы. Известно, что у людей с ССЗ наблюдается увеличение числа ЭПК в крови [Wojakowski, 2008; Massa, 2005], что подтверждает полученные данные.

Цитогенетические параметры и показатели клеточной кинетики крови детей с правожелудочковыми нарушениями ритма сердца

Число апоптотических клеток и клеток с микроядрами у детей с ССЗ меньше по сравнению с таковыми показателями у здоровых детей ($p < 0,05$). Возможно, это объясняется влиянием на клеточные процессы проводимой пациентам фармакотерапии. Различий в распределении клеток по стадиям клеточного цикла у пациентов 2-х групп не выявлено.

Цитогенетические параметры и показатели клеточной кинетики крови людей с различной степенью тяжести развития сердечно-сосудистых заболеваний

Выявлено, что существует зависимость между количеством клеток с повреждениями ДНК и степенью прогрессирования патологии. Имеются данные о том, что у людей с ССЗ доля клеток с повреждениями ДНК выше по сравнению со здоровыми [Botto, 2001; Martinet, 2002; Corral-Debrinski, 1992]. При анализе числа клеток с повреждениями генетического материала в зависимости от степени развития ССЗ установлено, что у пациентов

с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) первой степени по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA) количество апоптотических клеток и доля клеток с микроядрами были достоверно ниже по сравнению с показателями людей с ХСН второй и третьей степенями по NYHA. Более низкий уровень клеток с повреждениями ДНК у пациентов с ССЗ по сравнению со здоровыми донорами, с одной стороны, и увеличение числа клеток с нарушениями генетического материала в зависимости от степени развития ХСН по NYHA, с другой стороны, говорят о том, что у людей с заболеваниями происходит более быстрое или частое обновление пула клеток крови и/или его истощение, что приводит к формированию «клеточного фенотипа» у пациентов с ССЗ, который выражается не в меньшем уровне повреждения ДНК, а в более низком количестве клеток, несущих выбранные в данном исследовании маркеры повреждения ДНК. Данное предположение подтверждается и тем, что после операции наблюдается достоверное увеличение числа клеток с маркерами повреждения генетического материала только в группе больных с ХСН первой степени по NYHA и недостоверное увеличение описываемого показателя в группе людей с ХСН второй степени по NYHA. Подтверждением также является процесс увеличения числа клеток в S фазе клеточного цикла у пациентов с ХСН первой степени после операции, что указывает на пул клеток, который способен к быстрому вступлению в клеточный цикл, делению и клеточно-замещающей репарации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Впервые установлено, что кандесартан цилексетил *in vitro* в концентрациях 1,5 мкг/мл и 3 мкг/мл снижает число эндотелиальных прогениторных клеток с фенотипом CD117+ в культурах клеток костного мозга мышей линии C57Bl/6 и жировой ткани человека; ресвератрол в концентрациях 30 мкг/мл и 50 мкг/мл стимулирует образование клеток с CD117+ в культуре клеток костного мозга мышей линии C57Bl/6. Использование кандесартана цилексетила в концентрации 1,5 мкг/мл с ресвератролом в концентрациях 30 мкг/мл и 50 мкг/мл увеличивает число указанных клеток в культуре клеток костного мозга мышей линии C57Bl/6. Кандесартан цилексетил в концентрации 1,5 мкг/мл с ресвератролом в концентрации 50 мкг/мл стимулирует образование клеток с CD117+ в культуре жировой ткани человека. Также впервые выявлено *in vitro*, что использование кандесартана цилексетила и ресвератрола в данных соотношениях уменьшает число клеток с повреждениями генетического материала [5, 7, 12, 13, 16, 27–31].

2. Впервые показано, что кандесартан цилексетил *in vivo* в дозе 3 мг/кг стимулирует образование в костном мозге мышей линии C57Bl/6 клеток с фенотипом CD117+, а в дозах 1,5 мг/кг и 3 мг/кг приводит к увеличению

количества последних в крови животных. Впервые установлено, что кандесартан цилексетил в дозах 1,5 мг/кг и 3 мг/кг обладает цитотоксическими свойствами, выражающимися в индукции апоптоза и накоплении клеток с микроядрами в костном мозге животных [2–5, 11, 12, 19–25].

3. Впервые установлено, что совместное использование кандесартана цилексетила в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрола в дозе 1 мг/кг приводит к увеличению количества клеток с фенотипом CD117+ в крови мышей линии C57Bl/6, а применение кандесартана цилексетила в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозах 10 мг/кг и 50 мг/кг – к увеличению количества указанных клеток в костном мозге и в крови животных. Эффективность увеличения количества изучаемых клеток в костном мозге и в крови существенно выше при совместном использовании кандесартана цилексетила в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозах 10 мг/кг и 50 мг/кг по сравнению с применением моно вещества кандесартан цилексетил в дозе 1,5 мг/кг и сопоставима с эффективностью кандесартана цилексетила в дозе 3 мг/кг. Ресвератрол в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг при совместном использовании с кандесартаном цилексетилом в дозе 1,5 мг/кг нивелирует цитотоксический эффект последнего (костный мозг) или усиливает этот эффект (кровь), что выражается в соответствующем изменении количества клеток с повреждениями генетического материала [2–5, 11, 12, 19–25].

4. Впервые обнаружено, что совместное использование кандесартана цилексетила в дозе 1,5 мг/кг с ресвератролом в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг и 50 мг/кг после курса физических нагрузок приводит к увеличению количества клеток с фенотипом CD117+ в костном мозге и в крови мышей линии Balb/C, сопоставимому с эффектом, наблюдаемым при применении моно вещества кандесартан цилексетил в дозе 3 мг/кг. Таким образом, использование кандесартана цилексетила с ресвератролом позволяет вдвое снизить дозу и уменьшить побочный цитотоксический эффект первого без потери эффекта стимуляции образования эндотелиальных прогениторных клеток.

Установлено, что длительные и интенсивные физические нагрузки увеличивают число клеток с повреждениями генетического материала, оказывают негативное влияние на распределение клеток по фазам клеточного цикла в крови и костном мозге мышей линии Balb/C, а эффект последующего применения кандесартана цилексетила как моно вещества или в сочетании с ресвератролом в указанных тканях позволяет считать костный мозг более чувствительной мишенью по сравнению с кровью к действию указанных веществ. Так, при применении после курса физических нагрузок кандесартана цилексетила в дозах 1,5 мг/кг и 3 мг/кг наблюдается дополнительное увеличение числа клеток с признаками апоптоза и микроядрами в костном мозге и снижение значений указанных показателей в крови мышей линии

Valb/C. Впервые выявлено, что ресвератрол в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг и 50 мг/кг, используемый совместно с кандесартаном цилексетилом в дозе 1,5 мг/кг, еще в большей степени нивелирует негативный эффект физических нагрузок, снижая количество апоптотических клеток и клеток с микроядрами в крови мышей линии Valb/C. Напротив, ресвератрол в дозах 30 мг/кг и 50 мг/кг, используемый совместно с кандесартаном цилексетилом в дозе 1,5 мг/кг, приводит к более выраженному усилению процессов элиминации клеток с повреждениями генетического материала, что, возможно, является проявлением адаптивных процессов [1, 3, 7, 9, 10, 15, 16, 27].

5. Установлено, что пациенты с клинически подтвержденными правожелудочковыми нарушениями ритма сердца имеют клеточный фенотип крови, отличающийся от такового здоровых доноров повышенным содержанием клеток с CD117+, CD34+ и CD117+/CD34+ и пониженным содержанием клеток с признаками повреждения генетического материала. Комплексное изучение показателей клеточной кинетики и цитогенетических параметров крови, включающих количество циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток, распределение клеток по стадиям клеточного цикла, число клеток с признаками апоптоза и с микроядрами, является перспективным для диагностики заболеваний сердечно-сосудистой системы и оценки эффективности их лечения [6, 14, 26].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Разработанная методика стимуляции дифференцировки стволовых клеток *in vitro* и *in vivo* используется в учебном процессе кафедры генетики биологического факультета Белорусского государственного университета (акт внедрения от 31.01.2014).

Разработанный новый метод исследования показателей крови, включающий количественный анализ циркулирующих предшественников клеток эндотелия, распределения клеток по фазам клеточного цикла, количества клеток с признаками апоптоза и с микроядрами с целью диагностики заболеваний сердечно-сосудистой системы, а также для оценки эффективности лечения сердечно-сосудистых патологий, используется в учебном процессе кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (акт внедрения от 10.09.2015).

Разработанная композиция веществ, в состав которой входят кандесартан цилексетил и ресвератрол, может быть предложена в качестве комплексного средства для стимуляции ангиогенеза при комбинированной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Статьи в рецензируемых изданиях

1. Оценка цитостатических и цитопротекторных свойств природных антиоксидантов / С. Э. Огурцова, **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеевко, В. Ю. Афонин, М. В. Анисович // Вестн. Фонда фундам. исслед. – 2013. – № 1. – С. 60–66.
2. Фармакологические эффекты комбинации кандесартана и ресвератрола / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеевко, А. К. Власенко, В. Б. Сазанов, В. Ю. Афонин // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – № 1. – С. 75–79.
3. Молекулярно-биологические эффекты композиции кандесартана с ресвератролом / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеевко, М. В. Анисович, А. К. Власенко, В. Б. Сазанов, В. Ю. Афонин // Вес. БДПУ. Сер. 3, Фізика. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія. – 2013. – № 1. – С. 15–18.
4. **Беляева, А. В.** Влияние ресвератрола и кандесартана на клеточный цикл, апоптоз и мобилизацию клеток CD117 / **А. В. Беляева** // Новости мед.-биол. наук. – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 64–68.
5. Цитогенетические эффекты ресвератрола и кандесартана *in vivo* и *in vitro* / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеевко, М. В. Анисович, А. К. Власенко, В. Б. Сазанов, В. Ю. Афонин, В. В. Шилов // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – № 4. – С. 100–104.
6. Цитогенетика крови при сердечно-сосудистых патологиях / **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонин, М. В. Анисович, Е. Ю. Проценко // Наука и инновации. – 2014. – № 12. – С. 64–66.
7. **Беляева, А. В.** Исследование влияния кандесартана цилексетила и ресвератрола на молекулярно-биологические показатели *in vitro* и *in vivo* / **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонин, М. В. Анисович // Проблемы здоровья и экологии. – 2014. – № 4. – С. 106–111.

Материалы конференций

8. **Беляева, А. В.** Камбінаванне лекавых сродкаў як альтэрнатыва сінтэзу новых молекул / **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонін, В. В. Шылаў // Беларуская мова ў сучаснай навуцы і мастацтве : матэрыялы навук. канф., прысвеч. 20-годдзю каф. беларус. мовы, Мінск, 14 чэрв. 2012 г. / НАН Беларусі, Ін-т падрыхт. навук. кадрў ; рэдкал.: У. В. Шкурко, Г. Ф. Вештарт, В. Д. Астрэйка. – Мінск, 2013. – С. 21–24.
9. **Беляева, А. В.** Анализ влияния физических нагрузок и кандесартана цилексетила на клетки костного мозга мышей линии Balb/C с помощью проточной цитометрии / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеевко, В. Ю. Афонин // Химия, структура и функция биомолекул : сб. материалов IV междунар. науч.

конф., посвящ. 100-летию со дня рождения акад. А. А. Ахрема, Минск, 17–19 окт. 2012 г. / НАН Беларуси, Отд-ние химии и наук о земле. – Минск, 2012. – С. 17–18.

10. Цитогенетический эффект кандесартана цилексетила в костном мозге мышей линии Valb/C при физических нагрузках / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеев, М. В. Анисович // Научные стремления – 2012 : сб. материалов III Междунар. молодеж. науч.-практ. конф., Минск, 6–9 нояб. 2012 г. : в 2 т. / НАН Беларуси, Совет молодых ученых ; ред. группа: В. В. Казбанов, С. В. Карпейчик. – Минск, 2012. – Т. 1. – С. 222–224.

11. Изучение молекулярно-биологических параметров костного мозга мышей под влиянием ресвератрола и кандесартана / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеев, М. В. Анисович, А. К. Власенко, В. Б. Сазанов, В. Ю. Афонин // Медико-биологические аспекты химической безопасности : сб. тр. Всерос. науч. конф. молодых ученых, Санкт-Петербург, 18–20 сент. 2013 г. / Науч.-исслед. ин-т гигиены, профпатологии и экологии человека ; под общ. ред. В. Р. Рембовского, А. С. Радилова. – СПб., 2013. – С. 29–30.

12. Оценка влияния кандесартана и ресвератрола на костный мозг мышей *in vivo* и *in vitro* / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеев, А. К. Власенко, М. В. Анисович, В. Ю. Афонин, В. В. Шилов // Метаболический синдром: эксперимент, клиника, терапия : материалы I Междунар. симп., Гродно, 23–25 окт. 2013 г. / НАН Беларуси, Отд-ние химии и наук о земле ; редкол.: П. С. Пронько [и др.]. – Гродно, 2013. – С. 172–175.

13. **Беляева, А. В.** Эффекты кандесартана и его комбинаций с ресвератролом на процессы пролиферации и дифференцировки клеток костного мозга мышей *in vitro* / **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонин, М. В. Анисович // Белорусские лекарства : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 27–28 нояб. 2014 г. / НАН Беларуси, Ин-т биоорг. химии. – Минск, 2014. – С. 10–12.

14. Результаты исследования цитогенетических показателей крови людей с сердечно-сосудистыми заболеваниями / **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонин, М. В. Анисович, Е. Ю. Проценко // Белорусские лекарства : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 27–28 нояб. 2014 г. / НАН Беларуси, Ин-т биоорг. химии. – Минск, 2014. – С. 17–20.

15. Цитопротекторные свойства кандесартана и ресвератрола в условиях интенсивных физических нагрузок в эксперименте / **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонин, М. В. Анисович, А. К. Власенко // Белорусские лекарства : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 27–28 нояб. 2014 г. / НАН Беларуси, Ин-т биоорг. химии. – Минск, 2014. – С. 21–23.

16. **Беляева, А. В.** Мобилизация стволовых клеток *in vivo* и *in vitro* (в эксперименте) // **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонин, М. В. Анисович // Белорусские лекарства : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 27–28 нояб. 2014 г. / НАН Беларуси, Ин-т биоорг. химии. – Минск, 2014. – С. 24–27.

Тезисы докладов

17. **Beliajeva, A. V.** The influence of the combination of candesartan cilexetil and resveratrol on motor activity in mice / **A. V. Beliajeva**, I. S. Darafeyenka, V. Y. Afonin // Actual environmental problems : proc. of the Intern. conf. of young scientists, graduates, master a. PhD students, Minsk, 22–23 Nov. 2012 / Intern. Sakharov Environmental Univ. ; под общ. ред. С. С. Позняка. – Minsk, 2012. – P. 34–35.

18. **Беляева, А. В.** Изучение влияния кандесартана и ресвератрола на двигательную активность мышечной линии C57Bl/6 / **А. В. Беляева** // Ломоносов – 2013. Секция «Биология» : тез. докл. XX Междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Москва, 8–13 апр. 2013 г. / Моск. гос. ун-т ; сост. Г. В. Кочетова ; отв. ред. Е. Н. Темерова. – М., 2013. – С. 318–319.

19. Анализ влияния кандесартана цилексетила на мобилизацию стволовых клеток у мышечной линии C57Bl/6 / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеев, В. Б. Сазанов, В. Ю. Афонин // Материалы конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора М. В. Кораблева, Гродно, 18–19 апреля 2013 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2013. – С. 44.

20. Изучение мобилизации стволовых клеток CD117 под действием кандесартана и ресвератрола / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеев, А. К. Власенко, В. Б. Сазанов, В. Ю. Афонин // Биология – наука XXI века : сб. тез. 17-й Междунар. Пушин. шк.-конф. молодых ученых, Пушино, 21–26 апр. 2013 г. / Пушин. науч. центр Рос. акад. наук. – Пушино, 2013. – С. 397–398.

21. The influence of candesartan and resveratrol on the mobilization of stem cells CD117 in C57Bl/6 mice / **A. V. Beliajeva**, I. S. Darafeyenka, A. K. Vlasenka, V. B. Sazanov, V. Y. Afonin // Cell technology week – 2013 : abstr. bk. of the I Intern. sci. conf. of students a. PhD students, Kiev, 14–17 May 2013. – Kiev, 2013. – P. 28.

22. Влияние кандесартана и ресвератрола на молекулярно-биологические параметры костного мозга мышечной линии C57Bl/6 / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеев, А. К. Власенко, В. Б. Сазанов, В. Ю. Афонин // Сахаровские чтения 2013 года: экологические проблемы XXI века : материалы 13-й Междунар. науч. конф., Минск, 16–17 мая, 2013 г. / МГЭУ им. А. Д. Сахарова, ред. С. П. Кундас, С. С. Позняк, Н. А. Лысухо. – Минск, 2013. – С. 89.

23. Изучение действия ресвератрола и кандесартана на молекулярно-биологические параметры костного мозга мышечной / **А. В. Беляева**, И. С. Дорофеев, М. В. Анисович, А. К. Власенко, В. Б. Сазанов, В. Ю. Афонин // Биологически активные вещества растений – изучение и использование : материалы междунар. науч. конф., Минск, 29–31 мая 2013 г. / НАН Беларуси, Центр. ботан. сад ; науч. ред. В. Н. Решетников. – Минск, 2013. – С. 242–243.

24. **Беляева, А. В.** Мобилизация стволовых клеток CD117 под действием кандесартана и ресвератрола / **А. В. Беляева** // Новая волна в медицине : материалы Междунар. форума врачей, Юрмала, 18–21 июля 2013 г. / [вступ. сл.: Л. М. Рошаль, В. Калнберз, П. Апинис]. – Юрмала, 2013. – С. 28–29.

25. **Беляева, А. В.** Исследование безопасности комбинации кандесартана и ресвератрола / **А. В. Беляева** // Ломоносов – 2014. Секция «Биология» : тез. докл. XXI Междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Москва, 7–11 апр., 2014 г. / Моск. гос. ун-т ; сост. Е. В. Ворцепнева. – М., 2014. – С. 339–340.

26. Молекулярно-биологические критерии диагностики детей, проживающих на территории Республики Беларусь, с желудочковыми нарушениями ритма сердца / **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонин, С. Э. Огурцова, Е. Ю. Проценко, Ю. В. Теплоухова // Новая волна в медицине : тез. II Междунар. форума русскоговорящих врачей, Юрмала, 7–9 авг. 2014 г. / [вступ. сл.: Л. Виксна]. – Юрмала, 2014. – С. 23.

27. **Beliajeva, A. V.** Investigation of efficiency and safety of phytosynthetic combination based on candesartan / **A. V. Beliajeva**, V. Y. Afonin // Fifth International medical congress, Ohrid, 10–14 September 2014. – Ohrid, 2014. – P. 22.

28. **Беляева, А. В.** Анализ влияния ресвератрола, лозартана и кандесартана цилексетила на цитогенетические характеристики *in vitro* / **А. В. Беляева** // Ломоносов – 2015. Секция «Биология» : тез. докл. XXII Междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Москва, 13–17 апр. 2015 г. / Моск. гос. ун-т ; сост. И. А. Екимова. – М., 2015. – С. 174–175.

29. **Беляева, А. В.** Молекулярно-биологические параметры клеток при использовании кандесартана, лозартана и ресвератрола *in vitro* / **А. В. Беляева**, В. Ю. Афонин, М. В. Анисович // Биология – наука XXI века : сб. тез. 19-й Междунар. Пушин. шк.-конф. молодых ученых, Пушино, 20–24 апр. 2015 г. / Пушин. науч. центр Рос. акад. наук. – Пушино, 2015. – С. 61.

30. **Беляева, А. В.** Влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола на число стволовых клеток с CD117+, CD34+, CD117+/ CD34+, CD31+ в исследовании *in vitro* / **А. В. Беляева** // Новая волна в медицине : тез. III Междунар. форума русскоговорящих врачей, Рига–Юрмала, 6–8 авг. 2015 г. / [вступ. сл.: Л. М. Рошаль, В. Калнберз, П. Апинис]. – Юрмала, 2015. – С. 9.

31. **Беляева, А. В.** Изменение цитогенетических показателей и параметров клеточной кинетики *in vitro* при использовании кандесартана цилексетила и ресвератрола / **А. В. Беляева**, М. В. Анисович, В. Ю. Афонин // Молодежь в науке – 2015 : материалы X Междунар. науч. конф. молодых ученых, Минск, 1–4 дек. 2015 г. / НАН Беларуси, Совет молодых ученых. – Минск, 2015. – С. 46.

РЭЗІЮМЭ

Беляева Аляксандра Віктараўна
Фармакалагічная рэгуляцыя мабілізацыі эндагенных
папярэднікаў клетак эндатэлію

Ключавыя словы: сардэчна-сасудзістыя захворванні, кандэсартан цылексетыл, рэсвератрол, эндатэліяльныя прагеніторныя клеткі, цытагенетычныя паказчыкі, параметры клеткавай кінетыкі.

Мэта даследавання: ацаніць магчымасць фармакалагічнай рэгуляцыі мабілізацыі эндатэліяльных прагеніторных клетак PPARs-аганістамі і HDACs-інгібітарамі, а таксама даць комплексную ацэнку цытагенетычным паказчыкам і параметрам клеткавай кінетыкі крыві пры сардэчна-сасудзістых захворваннях.

Метады даследавання: малекулярна-біялагічныя і біяхімічныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Антаганіст рэцэптараў ангіятэнзіну II (кандэсартан цылексетыл), які з'яўляецца PPARs-рэгулятарам, прыводзіць да павелічэння колькасці эндатэліяльных прагеніторных клетак *in vivo*. Кандэсартан цылексетыл у спалучэнні з рэсвератролам, які з'яўляецца рэгулятарам PPARs і інгібітарам HDACs, павялічвае колькасць клетак папярэднікаў эндатэлію *in vitro* і *in vivo*. Сумеснае выкарыстанне кандэсартану цылексетылу з рэсвератролам дазваляе зніжаць дозу першага ў 2 разы, што змяншае яго пабочнае дзеянне на клеткі і арганізм.

Вывучэнне размеркавання клетак па стадыях клетачнага цыкла, колькасці клетак з прыкметамі апаптозу і з мікрядрамі, колькасці цыркулюючых эндатэліяльных прагеніторных клетак у крыві паказала магчымасць распрацоўкі дадатковага комплекснага падыходу да ацэнкі цяжару сардэчна-сасудзістых захворванняў і эфектыўнасці лячэння дадзеных паталогій.

Рэкамендацыі па выкарыстанні. Выкарыстанне навукова-даследчых распрацовак «Методыка стымуляцыі дыферэнцыроўкі ствалавых клетак *in vitro* і *in vivo*», «Новы метады даследавання паказчыкаў крыві, які ўключае колькасны аналіз цыркулюючых папярэднікаў клетак эндатэлію, размеркавання клетак па фазах клетачнага цыкла, колькасці клетак з прыкметамі апаптозу і з мікрядрамі з мэтай дыягностыкі захворванняў сардэчна-сасудзістай сістэмы, а таксама для ацэнкі эфектыўнасці лячэння сардэчна-сасудзістых захворванняў» у навучальным працэсе. Распрацаваная кампазіцыя рэчываў, у склад якой уваходзяць кандэсартан цылексетыл і рэсвератрол, можа быць прапанавана ў якасці комплекснага сродку для стымуляцыі ангіягенезу пры камбінаванай тэрапіі сардэчна-сасудзістых захворванняў.

Галіна прымянення: біялогія, медыцына, фармакалогія.

РЕЗЮМЕ

Беляева Александра Викторовна Фармакологическая регуляция мобилизации эндогенных предшественников клеток эндотелия

Ключевые слова: сердечно-сосудистые заболевания, кандесартан цилексетил, ресвератрол, эндотелиальные прогениторные клетки, цитогенетические показатели, параметры клеточной кинетики.

Цель исследования: оценить возможность фармакологической регуляции мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток PPARs-агонистами и HDACs-ингибиторами, а также дать комплексную оценку цитогенетическим показателям и параметрам клеточной кинетики крови при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Методы исследования: молекулярно-биологические и биохимические.

Полученные результаты и их новизна. Антагонист рецепторов ангиотензина II (кандесартан цилексетил), являющийся PPARs-регулятором, приводит к увеличению числа эндотелиальных прогениторных клеток *in vivo*. Кандесартан цилексетил в сочетании с ресвератролом, который является регулятором PPARs и ингибитором HDACs, увеличивает количество клеток-предшественников эндотелия *in vitro* и *in vivo*. Совместное использование кандесартана цилексетила с ресвератролом позволяет снижать дозировки первого в 2 раза, уменьшая его побочное действие на клетки и организм.

Изучение распределения клеток по стадиям клеточного цикла, количества клеток с признаками апоптоза и с микроядрами, числа циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток в крови показало возможность разработки дополнительного комплексного подхода к оценке тяжести сердечно-сосудистых заболеваний и эффективности лечения данных патологий.

Рекомендации по использованию. Использование научно-исследовательских разработок «Методика стимуляции дифференцировки стволовых клеток *in vitro* и *in vivo*», «Новый метод исследования показателей крови, который включает количественный анализ циркулирующих предшественников клеток эндотелия, распределения клеток по фазам клеточного цикла, количества клеток с признаками апоптоза и с микроядрами с целью диагностики заболеваний сердечно-сосудистой системы, а также для оценки эффективности лечения сердечно-сосудистых патологий» в учебных процессах. Разработанная композиция веществ, в состав которой входят кандесартан цилексетил и ресвератрол, может быть предложена в качестве комплексного средства для стимуляции ангиогенеза при комбинированной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Область применения: биология, медицина, фармакология.

SUMMARY

Beliaeva Aliaksandra Viktarauna

Pharmacologic regulation of mobilization of endogenous precursors of endothelial cells

Keywords: cardiovascular diseases, candesartan cilexetil, resveratrol, endothelial progenitor cells, cytogenetic parameters, cell kinetic factors.

Objective of study: to evaluate the possibility of pharmacological regulation of mobilization of endothelial progenitor cells by PPARs-agonists and HDACs-inhibitors and to provide a comprehensive assessment of the cytogenetic parameters and cell kinetic factors of blood during cardiovascular diseases.

Investigation methods: molecular-biological and biochemical methods were used.

The results and their novelty. Antagonist of angiotensin II receptors (candesartan cilexetil) as PPARs-regulator is able to promote increase in the number of endothelial progenitor cells *in vivo*. Application of candesartan cilexetil in combination with resveratrol (PPARs-regulator and HDACs-inhibitor) raises the number of endothelial progenitor cells *in vitro* and *in vivo*. Mixed use of candesartan cilexetil and resveratrol allows to reduce the dosage of the former drug twice, and alleviate its side effects on cells and the body.

Investigation of cell distribution at different stages of cell cycle, the number of apoptotic and micronucleated cells, and the number of endothelial progenitor cells circulating in blood demonstrated the possibility to develop a complex approach to assessment of the severity of cardiovascular cases and efficiency of the treatment of cardiovascular diseases.

Recommendations for use. Research findings described in «Methodology of stimulating differentiation of stem cells *in vitro* and *in vivo*», «New method of investigating blood parameters, including quantitative analysis of circulating endothelial progenitor cells, cell distribution at different stages of cell cycle, the number of apoptotic and micronucleated cells to facilitate diagnostics of cardiovascular diseases and to assess treatment efficiency of cardiovascular diseases» are introduced into tuition programs. Therapeutic composition comprising candesartan cilexetil and resveratrol is offered as a complex drug promoting angiogenesis during combined treatment of cardiovascular diseases.

Application areas: biology, medicine, pharmacology.

Подписано в печать 18.05.16. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,51. Тираж 60 экз. Заказ 278.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.