Міністерство освіти і науки України

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

БЄЛЯЄВА АЛЯКСАНДРА ВІКТОРІВНА

УДК 576.08:576.53+615.017

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ТА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ЗА ДІЇ КАНДЕСАРТАНУ ЦИЛЕКСЕТИЛУ ТА РЕСВЕРАТРОЛУ

03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на базі НДЛ сучасних медичних, біологічних еколого-біотехнологічних проблем Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Гарманчук Людмила Василівна
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка МОН України,
професор кафедри екології та зоології
ННЦ «Інститут біології та медицини».

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук професор, член-кореспондент НАН України
Ємець Алла Іванівна,
Інституту харчової біотехнології та геноміки НАН України
завідувач відділу клітинної біології та біотехнології

кандидат біологічних наук, доцент
Білько Денис Іванович
Національний університет «Києво-Могилянська академія» МОН України
доцент кафедри лабораторної діагностики біологічних систем

Захист відбудеться « 06 » травня 2021 р. о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, проспект Академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434.

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада Д 26.001.38.

З дисертацією можна ознайомитися у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58, зал № 12.

Автореферат розісланий «____» _____ 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор біологічних наук К.О.Дворщенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Серцево-судинні захворювання (ССЗ) сьогодні є одними з найпоширеніших патологій у всьому світі. В основі цих захворювань лежать порушення нормального функціонування та цілісності серцевого м'яза і судин. Ішемічна хвороба серця (ІХС), інфаркти та інсульти є одними з найпоширеніших і небезпечних хвороб. ССЗ є основною причиною смертності населення у всіх країнах, причому спостерігається тенденція до розвитку цих патологій у людей молодшого віку. Патології системи кровообігу є причиною близько 17 мільйонів смертельних випадків щорічно в світі, що становить 30% від усіх смертей [Бочков Н.П., 2010; Samak M., 2019]. Згідно прогнозів Всесвітньої організації охорони здоров'я до 2030 року приблизно 23,6 мільйонів осіб у всьому світі помре від ССЗ, головним чином, від захворювань серця та інсультів [ВОЗ. Сердечно-сосудистые заболевания [Интернет], 2021]. Саме тому, розробка інноваційних ефективних і безпечних методів профілактики, діагностики та лікування захворювань серця і судин, створення нових ліків і їх комбінацій сьогодні є актуальними в усьому світі.

Останнім часом для лікування різних захворювань, включно із ССЗ, широко використовуються клітинні технології, які можна розділити в цілому на два способи. Перший спосіб полягає в отриманні стовбурових клітин та клітин-попередників в системі *in vitro* з наступним введенням їх в кровоток і/або імплантацією в пошкоджені тканини і органи [Бокерия Л.А., 2006; 2004; Ахмедов Ш.Д., 2010]; другий – в ендогенній індукції утворення стовбурових клітин і клітин-попередників в організмі з метою активації процесів репарації введенням речовин, в тому числі регуляторів рецепторів, що активуються пероксисомними проліфераторами (PPARs), а також інгібіторів деацетилаз гістонів (HDACs) [Shinohara H., 2002; Yao E.H., 2007; Yu Y., 2008; Burba I., 2011; Mahpatra S., 2010]. Ці речовини часто використовуються для мобілізації і отримання стовбурових клітин, які в подальшому виділяються з крові для маніпуляцій *in vitro* (перший спосіб). Як було показано на тваринах у разі ССЗ мобілізовані стовбурові клітини і клітини-попередники ендотелію здатні мігрувати в серцевий м'яз і ендотелій з подальшим позитивним терапевтичним ефектом [Orlic D., 2001; 2002].

Таким чином, дослідження можливості застосування різних лікарських засобів, зокрема, гіпотензивного засобу кандесартану цилексетилу/кандесартану (регулятор PPARs), а також природних сполук, таких як ресвератрол (регулятор PPARs і HDACs), які мають потенційний ефект стимуляції утворення ендотеліальних прогеніторних клітин, за новим призначенням, а саме для мобілізації стовбурових клітин і клітин-попередників ендотелію в кістковому мозку і збільшення їх кількості в крові, є актуальним для лікування ССЗ.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках бюджетної тематики «Розробка методичних рекомендацій використання хондропротекторів та мультипробіотиків для корекції патології суглобів» (№ д/р 0118U000243, 2018-2020 рр.) фундаментальної програми «Цито-і гістологічні ефекти метаболічних та проліферативних порушень та способи їх корекції» (№ д/р 0120U103507, 2020 – 2023рр).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи полягала у визначенні цитогенетичних та морфофункціональних показників стовбурових клітин за дії кандесартану цилексетилу/кандесартану та ресвератролу в різних концентраціях та співвідношеннях в експерименті.

Відповідно до поставленої мети вирішувались наступні завдання:

1. вивчити *in vitro* на моделях кісткового мозку мишей лінії C57Bl/6 і жирової тканини людини вплив кандесартану цилексетилу, кандесартану і ресвератролу в різних концентраціях і співвідношеннях на вміст ендотеліальних прогеніторних клітин, апоптичних клітин, клітин з мікроядрами і розподіл клітин за фазами клітинного циклу;

2. вивчити *in vivo* на моделях експериментальних тварин вплив кандесартану цилексетилу і ресвератролу в різних дозуваннях і співвідношеннях на рівень ендотеліальних прогеніторних клітин, апоптичних клітин, клітин з мікроядрами і розподіл клітин за фазами клітинного циклу в кістковому мозку і в крові;

3. визначити цитогенетичні показники і параметри клітинної кінетики кісткового мозку і крові тварин при фізичних навантаженнях та при подальшому застосуванні кандесартану цилексетилу і ресвератролу.

Об'єкти і предмет дослідження. Основними *об'єктами* дослідження були культури клітин кісткового мозку мишей лінії C57Bl/6, жирової тканини людини, миші ліній Balb/C, C57Bl/6, миші ICR. *Предмет дослідження* – ендотеліальні прогеніторні клітини, апоптичні клітини, клітини з мікроядрами, клітинний цикл.

Методи дослідження: цитофлуориметричний, молекулярно-біологічні, біохімічні та імунологічні методи, методи клітинної біології, культура клітин, методи експериментальної біології, методи статистичного аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше встановлено, що антагоніст рецепторів ангіотензину II кандесартану цилексетил збільшує вміст ендотеліальних прогеніторних клітин *in vivo* (експерименти на мишах ліній C57Bl/6 і Balb/C), а його активна форма кандесартан призводить до стимуляції утворення ендотеліальних прогеніторних клітин *in vitro* (дослідження на культурах клітин кісткового мозку мишей лінії C57Bl/6 і жирової тканини людини). Вперше виявлено, що сумісне застосування кандесартану або кандесартану цилексетилу з природним антиоксидантом ресвератролом, призводить до збільшення кількості клітин-попередників ендотелію *in vitro* і *in vivo*, і є більш безпечним порівняно з використанням тільки кандесартану або кандесартану цилексетилу, оскільки дозволяє в 2 рази знизити дозу синтетичних речовин, що мають побічну дію, яка проявляється у вигляді збільшення кількості клітин з ушкодженнями генетичного матеріалу, при цьому не втрачається ефект стимуляції утворення ендотеліальних прогеніторних клітин. Отримані дані вносять істотний внесок в розвиток уявлень про мобілізацію ендотеліальних прогеніторних клітин за допомогою використання речовин, які є регуляторами PPARs і інгібіторами HDACs.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи доводять, що антагоніст рецепторів ангіотензину II кандесартан, який є регулятором рецепторів, що активуються пероксисомними проліфераторами (PPARs), призводить до збільшення кількості ендотеліальних прогеніторних клітин з фенотипом CD117+ у тварин *in vivo* (при використанні кандесартану цилексетилу)

та *in vitro* (при використанні кандесартану), проявляючи при цьому негативну побічну дію, що складається в збільшенні числа клітин з ушкодженнями генетичного матеріалу.

Показано, що природний антиоксидант ресвератрол, який є регулятором рецепторів, що активуються пероксисомними проліфераторами (PPARs), і інгібітором деацетилаз гістонів (HDACs), стимулює утворення ендотеліальних прогеніторних клітин *in vitro* та *in vivo* і не є цитотоксичним.

За сумісного використання ресвератролу з кандесартаном (*in vitro*) і ресвератролу з кандесартану цилексетилом (*in vivo*) спостерігається односпрямована дія обох комбінацій, що проявляється у збільшенні числа клітин-попередників ендотелію з фенотипом CD117+, рівного або вищого ефекту ніж лише при застосуванні кандесартану/кандесартану цилексетилу. При цьому ресвератрол компенсує негативну побічну дію відповідної форми антагоніста рецепторів ангіотензину II.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто здійснено постановку цілей і завдань, обрані моделі експериментальних досліджень, вивчено вплив речовин (кандесартану цилексетилу, кандесартану, ресвератролу) і їх комбінацій на зміни числа ендотеліальних прогеніторних клітин, апоптичних клітин, клітин з мікроядрами і розподіл клітин за фазами клітинного циклу *in vitro* і *in vivo*. Самостійно розроблена нова модель дослідження показників кісткового мозку і крові, що включає кількісний аналіз ендотеліальних прогеніторних клітин, проведення досліджень рівня апоптичних клітин, клітин з мікроядрами і розподілу клітин за фазами клітинного циклу. Аналіз результатів досліджень, формулювання висновків, статистична обробка отриманих даних, написання дисертації, підготовка та опублікування статей у рецензованих виданнях, у матеріалах конференцій і тез доповідей здійснено здобувачем самостійно. Планування досліджень та обговорення результатів проводились спільно з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні результати роботи були представлені на I International Scientific Conference of Students and PhD Students «Cell Technology Week 2013» (Kiev, Ukraine, 2013); Міжнародному форумі лікарів «Новая волна в медицине» (Рига – Юрмала, Латвия, 2015); Heart Failure (Florence, Italy, 2016); Eighth International medical congress of the Southeast European Medical Forum (Athens, Greece, 2017); Heart Failure 2018 & World Congress on Acute Heart Failure (Vienna, Austria, 2018); Ninth International Medical Congress of the Southeast European Medical Forum (Banja Vrucića, Bosnia and Herzegovina, 2018), міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених BIOMED Talks – 2019 (Київ, Україна, 2019).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 6 статей у фахових виданнях, затверджених переліком МОН України та у міжнародних періодичних виданнях (4 публікації у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз, в тому числі Index Copernicus), та 7 тез доповідей у збірниках матеріалів конференцій.

Структура та обсяг роботи. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, який охоплює

269 найменувань. Дисертацію викладено на 204 сторінках друкованого тексту та проілюстровано 17 рисунками та 11 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Об'єкти і методи досліджень. Для проведення експериментів *in vitro* використовували клітини кісткового мозку мишей лінії С57Bl/6 і жирової тканини людини. Вивчали вплив кандесартану цилексетилу, кандесартану і ресвератролу в різних концентраціях і співвідношеннях на число ендотеліальних прогеніторних клітин (ЕПК) з фенотипами CD117+, CD34+, CD117+/CD34+, CD31+, апотичних клітин, клітин з мікроядрами, розподіл клітин за фазами клітинного циклу за допомогою методу проточної цитофлуориметрії [Lee R.H., 2004; Cao Y., 2005] («Cytomics FC 500» («Beckman Coulter», США)), модифікованого нами для визначення фенотипу прогеніторних ендотеліальних клітин.

На здорових статевозрілих мишах лінії С57Bl/6 (самці, 90 особин) вивчали вплив щоденного введення протягом 7 тижнів кандесартану цилексетилу і ресвератролу в різних дозуваннях і співвідношеннях, на зміну числа клітин з фенотипом CD117+, апоптичних клітин, клітин з мікроядрами, на розподіл клітин по фазах клітинного циклу в кістковому мозку і в крові за допомогою методу проточної цитофлуориметрії.

На здорових статевозрілих мишах лінії Balb/C (самці, 80 особин) вивчали вплив фізичних навантажень (плавання з 2%-ним вантажем від маси тіла на витривалість щодня протягом 2 місяців) і подальшого застосування (7 тижнів) кандесартану цилексетилу і ресвератролу в різних дозуваннях і співвідношеннях на число клітин з CD117+, апоптичних клітин, клітин з мікроядрами, на розподіл клітин за фазами клітинного циклу в кістковому мозку і в крові за допомогою проточної цитофлуориметрії.

На здорових статевозрілих мишах ICR (самці і самки, 40 особин) вивчена токсичність комбінації кандесартану цилексетилу і ресвератролу.

Розрахунок щоденних доз досліджуваних речовин, які вводили тваринам проводили за формулою міжвидового перерахунку (формула 1) [Хабриев Р.У., 2005]:

$$A = \frac{B \times \kappa(B)}{\kappa(A)} \qquad (1)$$

де А – доза, отримана згідно міжвидового перерахунку;

В – відома доза;

к (В) – коефіцієнт перерахунку на вагу тіла В;

к (А) – коефіцієнт перерахунку на вагу тіла А.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням статистичних пакетів прикладних програм «Microsoft Excel» і «Statistica 6.0». Як характеристику отриманих вибірок використовували середнє, стандартну помилку середнього, обсяг вибірки. Статистичну достовірність відмінностей між групами даних оцінювали за допомогою параметричних методів (ANOVA, Student’s t-test,

Tukey range test, Newman-Keuls test) і непараметричних методів (Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U-test, Wilcoxon signed-rank test, Dunn's test, Chi-square), але в кінцевому підсумку були обрані ANOVA, Student's t-test (при нормальному розподілі), Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U-test, (при розподілі, відмінному від нормального), як найбільш адекватні для проведених експериментів, оскільки вони найбільш точно і повно дозволяють оцінити відмінності між групами і врахувати всі умови. Тест Фішера використовувався для перевірки рівності дисперсій. Для цього також були взяті потужніші тести (критерій Левена, критерій Флігнера). Тести Колмогорова – Смирнова і Шапіро – Уїлки використовувалися в дисертації для перевірки вибірки на нормальність. Статистично значимі відмінності між порівнюваними групами фіксували при рівні $p<0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Вплив кандесартану цилексетилу, кандесартану і ресвератролу на число клітин з CD117+, цитогенетичні показники і параметри клітинної кінетики в культурі кісткового мозку мишей лінії C57Bl/6. Фермент епітелію кишківника карбоксилестерази 1, 2 (ЄС 3.1.1.1) *in vivo* гідролізує лікарську форму кандесартану цилексетил та утворює біологічно активний кандесартан. У зв'язку з цим в експериментах *in vitro* використовували кандесартан, що імітує ситуацію, яка відбувається *in vivo* при пероральному введені кандесартану цилексетилу і його метаболізмі, а кандесартану цилексетил виступав в якості контролю. Згідно отриманих даних було встановлено, що кандесартан збільшує, а кандесартану цилексетил знижує число клітин з CD117+ в культурі кісткового мозку мишей лінії C57Bl/6 (табл.1).

Відзначено збільшення вмісту ЕПК при концентраціях ресвератролу 30 мкг/мл і 50 мкг/мл як моноречовини і в поєднанні з кандесартаном і кандесартану цилексетилом. Ефект стимуляції утворення клітин з CD117+ при комбінованій дії кандесартану і ресвератролу досягається за рахунок односпрямованої дії двох речовин, а при комбінованій дії кандесартану цилексетилу і ресвератролу – за рахунок ресвератролу.

Виявлено, що кандесартану цилексетил в концентрації 1,5 мкг/мл, а також ресвератрол в концентраціях 1 мкг/мл – 50 мкг/мл в якості моноречовини і в поєднанні з кандесартану цилексетилом в концентрації 1,5 мкг/мл не чинять вплив на відсоток клітин з ознаками апоптозу і мікроядрами. Встановлено, що кандесартан в концентраціях 1,5 мкг/мл і 3 мкг/мл суттєво збільшує вміст клітин з ознаками апоптозу і з мікроядрами. Вперше показано, що комбінація кандесартану з ресвератролом знижує зазначені показники до рівня контролю, причому вираженість ефекту залежить від концентрації ресвератролу, який нівелює негативну дію кандесартану. При визначенні розподілу клітин за фазами клітинного циклу при використанні досліджуваних речовин не було виявлено достовірних відмінностей від значень аналогічних показників в контролі.

Таблиця 1

Вміст клітин (%) з CD117 + в культурі клітин кісткового мозку мишей лінії C57Bl/6 при застосуванні кандесартану цилексетилу, кандесартану та ресвератролу

Група	Вміст клітин з CD117+, %
1. Контроль	6,38±0,10
2. Канд. цил. 3 мкг/мл	3,40±0,14*
3. Канд. цил. 1,5 мкг/мл	4,18±0,16*
4. Канд. 3 мкг/мл	7,75±0,26*
5. Канд. 1,5 мкг/мл	7,02±0,14*
6. Ресв. 1 мкг/мл	6,42±0,17
7. Ресв. 5 мкг/мл	6,53±0,18
8. Ресв. 10 мкг/мл	6,63±0,16
9. Ресв. 30 мкг/мл	8,68±0,14*
10. Ресв. 50 мкг/мл	10,12±0,20*
11. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 1 мкг/мл	4,32±0,21*
12. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 5 мкг/мл	4,57±0,23*
13. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 10 мкг/мл	6,73±0,18
14. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 30 мкг/мл	8,45±0,23*
15. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 50 мкг/мл	10,03±0,19*
16. Канд. 1,5 мкг/мл і ресв. 1 мкг/мл	7,13±0,24*
17. Канд. 1,5 мкг/мл і ресв. 5 мкг/мл	7,57±0,19*
18. Канд. 1,5 мкг/мл і ресв. 10 мкг/мл	8,22±0,28*
19. Канд. 1,5 мкг/мл і ресв. 30 мкг/мл	9,18±0,36*
20. Канд. 1,5 мкг/мл і ресв. 50 мкг/мл	11,38±0,27*

Примітка: канд. цил. – кандесартану цилексетил; канд. – кандесартан; ресв. – ресвератрол; * – відмінності достовірні в порівнянні з контролем.

Вплив кандесартану цилексетилу і ресвератролу на число клітин з CD117+, CD34+, CD117+/CD34+ і CD31+, на цитогенетичні показники і параметри клітинної кінетики в культурі жирової тканини людини. В ході проведення дослідження виявлено, що кандесартан збільшує кількість клітин з CD117+, тоді як кандесартану цилексетил знижує число цих клітин в культурі жирової тканини людини (табл. 2). Кандесартан в концентрації 3 мкг/мл збільшує число клітин з CD34+ в порівнянні з контролем ($p<0,05$). Відзначено збільшення числа ЕПК при використанні ресвератролу в концентраціях 10 мкг/мл, 30 мкг/мл і 50 мкг/мл. Встановлено, що кандесартану цилексетил в концентрації 1,5 мкг/мл, у поєднанні з ресвератролом в концентраціях 30 мкг/мл і 50 мкг/мл збільшують частку клітин з CD117+ ($p<0,05$). Кандесартан в концентрації 1,5 мкг/мл і ресвератрол в концентраціях 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 30 мкг/мл і 50 мкг/мл стимулює утворення клітин з CD117+.

Виявлено, що ефект стимуляції утворення клітин з CD117+ при комбінованій дії кандесартану цилексетилу і ресвератролу досягається за рахунок останнього, а

при комбінованій дії кандесартану і ресвератролу – за рахунок односпрямованої дії двох речовин на клітинну культуру (табл. 2), подібно до того, як це відбувається в культурі кісткового мозку мишей лінії С57Bl/6. Досліджувані речовини і їх комбінації не чинили вплив на число ЕПК з CD117+/CD34+, CD31+.

Таблиця 2

Вміст клітин (%) з CD117+, CD34+, CD117+/CD34+ і CD31+ в культурі клітин жирової тканини людини за впливу кандесартану цилексетилу, кандесартану і ресвератролу

Група	Вміст клітин з CD117+, %	Вміст клітин з CD34+, %	Вміст клітин з CD117+/ CD34+, %	Вміст клітин з CD31+, %
1. Контроль	1,78±0,11	8,83±0,14	2,08±0,11	12,18±0,21
2. Канд. цил. 3 мкг/мл	1,35±0,10	9,03±0,30	1,78±0,17	11,70±0,20
3. Канд. цил. 1,5 мкг/мл	1,53±0,14	8,90±0,15	1,83±0,11	11,85±0,19
4. Канд. 3 мкг/мл	2,33±0,09*	9,60±0,17*	2,28±0,31	12,35±0,18
5. Канд. 1,5 мкг/мл	2,15±0,09*	9,20±0,19	2,18±0,15	12,23±0,29
6. Ресв. 1 мкг/мл	1,75±0,16	8,80±0,24	2,00±0,20	12,15±0,37
7. Ресв. 5 мкг/мл	1,88±0,09	8,78±0,28	2,05±0,19	12,20±0,45
8. Ресв. 10 мкг/мл	2,23±0,11*	8,93±0,32	2,03±0,29	12,30±0,21
9. Ресв. 30 мкг/мл	2,35±0,10*	8,98±0,24	2,13±0,23	12,25±0,19
10. Ресв. 50 мкг/мл	2,95±0,19*	9,43±0,13*	2,33±0,16	12,38±0,21
11. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 1 мкг/мл	1,70±0,09	8,65±0,14	1,95±0,17	11,88±0,32
12. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 5 мкг/мл	1,73±0,13	8,95±0,13	1,98±0,16	11,93±0,25
13. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 10 мкг/мл	1,98±0,18	9,05±0,32	1,93±0,27	12,10±0,21
14.Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 30 мкг/мл	2,25±0,13*	9,00±0,29	2,20±0,25	12,08±0,24
15. Канд. цил. 1,5 мкг/мл і ресв. 50 мкг/мл	2,93±0,20*	9,10±0,19	2,25±0,14	12,13±0,24
16. Канд.1,5 мкг/мл і ресв. 1 мкг/мл	2,08±0,11	9,18±0,18	1,93±0,22	12,28±0,52
17. Канд.1,5 мкг/мл і ресв. 5 мкг/мл	2,30±0,11*	9,25±0,20	2,15±0,19	12,30±0,29
18. Канд.1,5 мкг/мл і ресв. 10 мкг/мл	2,55±0,16*	9,33±0,32	2,10±0,18	12,33±0,18
19. Канд.1,5 мкг/мл і ресв. 30 мкг/мл	2,98±0,19*	9,30±0,29	2,23±0,30	12,40±0,39
20. Канд.1,5 мкг/мл і ресв. 50 мкг/мл	3,23±0,18*	9,65±0,30*	2,48±0,26	12,43±0,27

Примітка: канд. цил. – кандесартану цилексетил; канд. – кандесартан; ресв. – ресвератрол; * – відмінності достовірні в порівнянні з контролем.

Таким чином, вперше виявлено стимулюючий диференціювання клітин потенціал ресвератролу *in vitro* при використанні з кандесартану цилексетилом і кандесартаном. Доведено ефективність використання поверхневого клітинного маркера CD117 для реєстрації прямої мобілізації досліджуваних клітин (табл. 2), що дозволяє застосовувати його для подальшого проведення експериментів *in vivo*.

Кандесартану цилексетил в концентрації 3 мкг/мл, кандесартан в концентраціях 1,5 мкг/мл і 3 мкг/мл збільшують число клітин з ознаками апоптозу і з мікроядрами в порівнянні з контролем. Кандесартану цилексетил в концентрації 1,5 мкг/мл, ресвератрол як моноречовина в концентраціях від 1 мкг/мл до 50 мкг/мл і з кандесартану цилексетилом в концентрації 1,5 мкг/мл не чинять впливу на описувані параметри. Ресвератрол в концентраціях від 1 мкг/мл до 50 мкг/мл в комбінації з кандесартаном в концентрації 1,5 мкг/мл частково компенсує негативний ефект останнього на цитогенетичні показники (ефект ресвератролу – концентраційно-залежний).

Дані, вперше отримані *in vitro*, слугували підставою для використання комбінації кандесартану цилексетилу і ресвератролу в експериментах *in vivo* з метою вивчення зміни кількості ЕПК, апоптичних клітин, числа клітин з мікроядрами, розподілу клітин за фазами клітинного циклу в кістковому мозку і у крові тварин.

Вплив кандесартану цилексетилу і ресвератролу в експериментах *in vivo* на число клітин з CD117+ в кістковому мозку і крові мишей лінії C57Bl/6. Вперше показано, що кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг значно збільшує число ЕПК в крові мишей, в дозі 3 мг/кг стимулює утворення клітин з CD117+ в кістковому мозку і в крові (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст клітин (%) з фенотипом CD117+ в кістковому мозку і в крові мишей лінії C57Bl/6, які отримували кандесартану цилексетил і ресвератрол

Група	Вміст клітин з CD117+ в кістковому мозку, %	Вміст клітин з CD117+ в крові, %
Контрольная група	2,80±0,20	1,38±0,04
Група 1 (кандесартан 3 мг/кг)	5,61±0,14*	3,28±0,12*
Група 2 (кандесартан 1,5 мг/кг)	2,57±0,29	1,92±0,13*
Група 3 (ресвератрол 1 мг/кг)	2,79±0,25	1,39±0,05
Група 4 (ресвератрол 10 мг/кг)	3,79±0,24*	1,9±0,09*
Група 5 (ресвератрол 50 мг/кг)	4,39±0,13*	2,80±0,14*
Група 6 (кандесартан 1,5 мг/кг і ресвератрол 1 мг/кг)	2,87±0,33	2,12±0,17*
Група 7 (кандесартан 1,5 мг/кг і ресвератрол 10 мг/кг)	5,85±0,10*	3,44±0,17*
Група 8 (кандесартан 1,5 мг/кг і ресвератрол 50 мг/кг)	6,16±0,20*	4,03±0,25*

Примітка: кандесартан – кандесартану цилексетил; * – відмінності достовірні в порівнянні з контролем.

Встановлено, що ресвератрол в дозах 10 мг/кг і 50 мг/кг стимулює мобілізацію ЕПК в кістковому мозку і збільшує вміст цих клітин в крові ($p<0,05$). Вперше виявлено, що кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг і ресвератрол в дозі 1 мг/кг збільшують число ЕПК в крові мишей ($p<0,05$). Отримані результати можуть пояснюватися тим, що клітини швидко мігрують із кісткового мозку і дозрівають в крові, тому маркер CD117 детектується тільки в крові. Вперше встановлено, що кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг і ресвератрол в дозах 10 мг/кг і 50 мг/кг призводять до значного збільшення числа ЕПК як в кістковому мозку, так і в крові тварин, причому показники відповідають таким групи мишей, яким вводили кандесартану цилексетил в дозі 3 мг/кг.

Вплив кандесартану цилексетилу і ресвератролу в експериментах *in vivo* на цитогенетичні показники і параметри клітинної кінетики кісткового мозку і крові мишей лінії C57Bl/6. Виявлено, що кандесартану цилексетил в дозі 3 мг/кг збільшує вміст апоптичних клітин і клітин з мікроядрами в кістковому мозку і крові в порівнянні зі значеннями в контролі ($p<0,05$). Показано, що ресвератрол в дозах 1 мг/кг, 10 мг/кг і 50 мг/кг зменшує кількість апоптичних клітин в кістковому мозку ($p<0,05$). Кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг у поєднанні з ресвератролом в дозі 1 мг/кг зменшує число апоптичних клітин і клітин з мікроядрами в кістковому мозку в порівнянні з дією кандесартану цилексетилу у дозі 3 мг/кг ($p<0,05$) (рис. 1, 2).

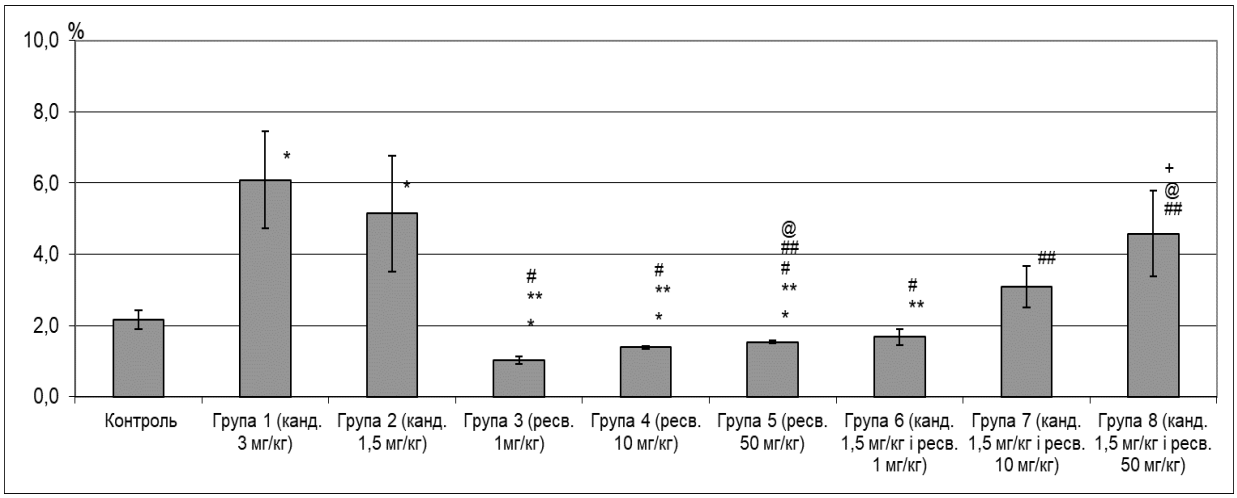

Рис. 1. Вміст апоптотичних клітин у кістковому мозку мишей лінії C57Bl/6, які отримували кандесартану цилексетил і ресвератрол.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол; * – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками контролю;** – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 1; # – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 2; ## – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 3; @ – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 4; + – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 5.

Кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг у поєднанні з ресвератролом в дозах 1 мг/кг і 10 мг/кг збільшує вміст апоптичних клітин в крові мишей у порівнянні зі значеннями в контролі ($p<0,05$). Виявлене посилення процесів клітинної загибелі, можливо, є наслідком протекторних властивостей ресвератролу, які проявляються в

елімінації клітин з ушкодженнями ДНК, індукованими кандесартану цилексетилом. Можна припустити, що ресвератрол впливає на віддалену клітинну загибель у крові, яка не спостерігається в кістковому мозку при комбінуванні досліджуваних речовин. Також відзначено відновлення параметрів клітинного циклу до значень контролю (рис. 3, 4).

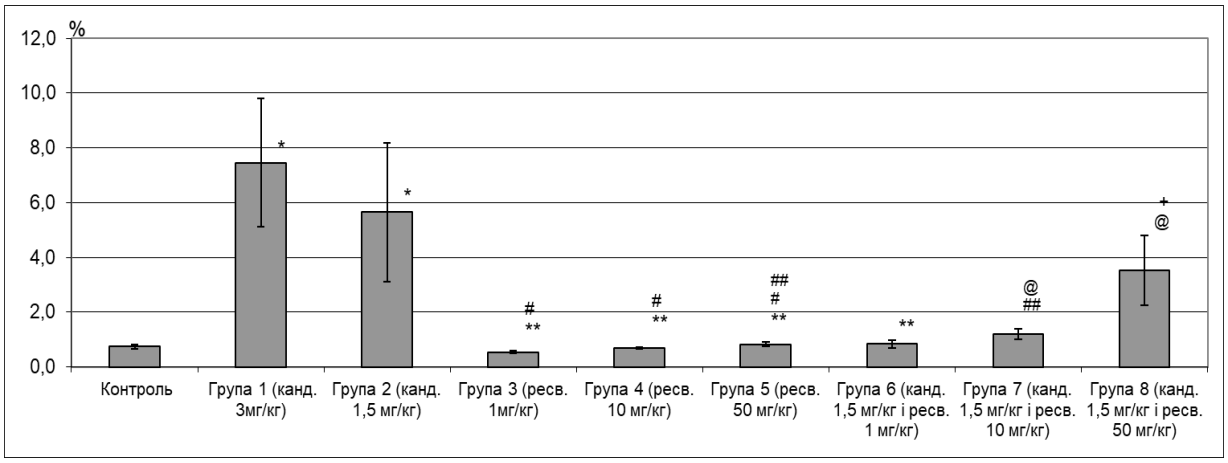

Рис. 2. Вміст клітин з мікроядрами у кістковому мозку мишей лінії C57Bl/6, які отримували кандесартану цилексетил і ресвератрол.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол; *– відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками контролю; ** – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 1; # – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 2; ## – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 3; @ – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 4; + – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 5.

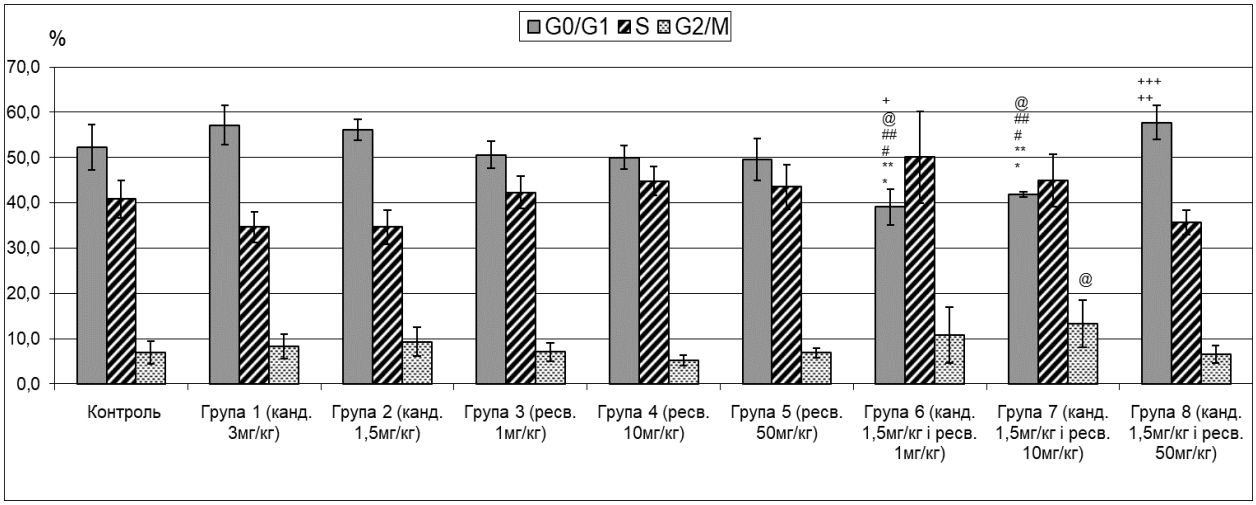

Рис. 3. Розподіл клітин за фазами клітинного циклу в кістковому мозку мишей лінії C57Bl/6, які отримували кандесартану цилексетил і ресвератрол.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол;* – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками контролю; ** – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 1; # – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 2; ## – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 3; @ – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 4; + – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 5; ++ – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 6; +++ – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками групи 7.

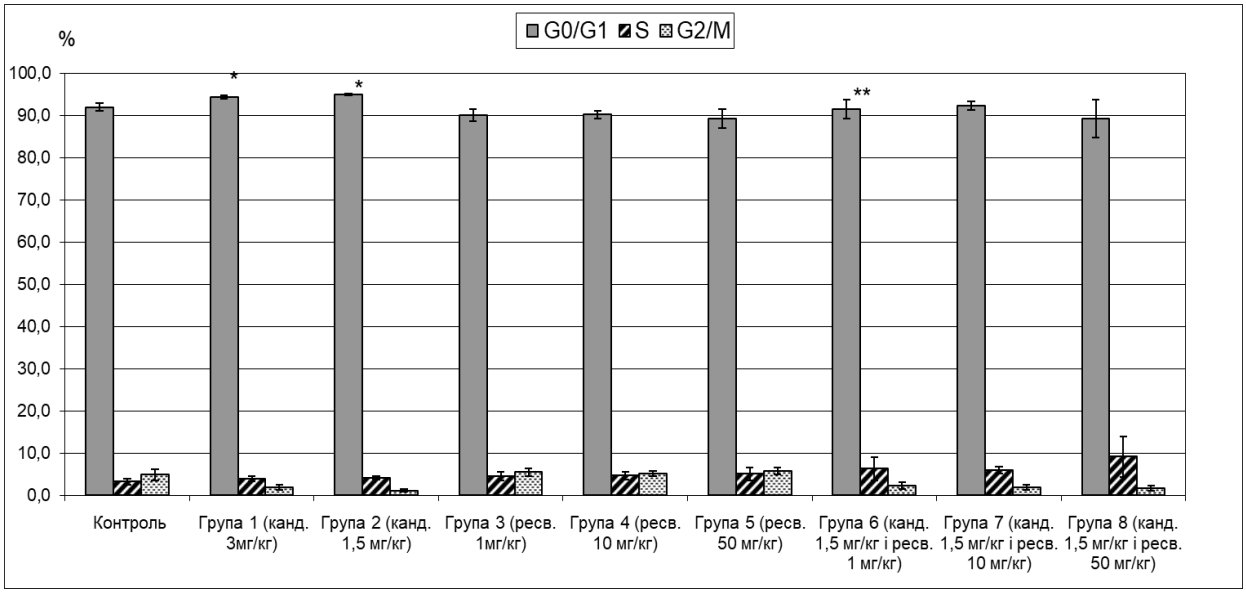

Рис. 4. Розподіл клітин за фазами клітинного циклу в крові мишей лінії C57Bl/6, які отримували кандесартану цилексетил і ресвератрол.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол; * – відмінності статистично достовірні порівнянно з показниками контролю; ** – відмінності статистично достовірні в порівнянні з показниками групи 2.

Таким чином, в експериментах *in vivo* вперше показано, що кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг і ресвератрол в дозах 10 мг/кг і 50 мг/кг призводять до мобілізації клітин з CD117+ в кістковому мозку і збільшення їх кількості в крові мишей, при цьому ресвератрол зменшує цитотоксичний вплив кандесартану цилексетилу на клітинні процеси в кістковому мозку і в крові тварин.

Вплив тривалих фізичних навантажень і подальшого застосування кандесартану цилексетилу і ресвератролу на число клітин з CD117+ в кістковому мозку і в крові мишей лінії Balb/C. Встановлено, що довготривалі інтенсивні фізичні навантаження не призводять до зміни вмісту клітин з фенотипом CD117+ в кістковому мозку та крові мишей лінії Balb/C (табл. 4).

В ході проведення дослідження виявлено, що кандесартану цилексетил в дозі 3 мг/кг після циклу фізичних навантажень призводить до збільшення вмісту-клітин-попередників ендотеліоцитів як в кістковому мозку, так і в крові тварин, тоді як кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг не змінює вміст клітин з маркером CD117. Однак, виявлено, що комбінація кандесартану цилексетилу в дозі 1,5 мг/кг та ресвератролу в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг і 50 мг/кг після циклу тривалих фізичних навантажень призводить до значного збільшення числа ЕПК в кістковому мозку і в крові тварин (табл. 4). Найбільший стимулюючий ефект стосовно клітин з фенотипом CD117+ виявлено за комбінованого застосування кандесартану цилексетилу в дозі 1,5 мг/кг та ресвератролу в дозі 50 мг/кг.

Вплив фізичних навантажень і подальшого застосування кандесартану цилексетилу і ресвератролу на цитогенетичні параметри і показники клітинної кінетики кісткового мозку і крові мишей лінії Balb/C. Тривалі фізичні навантаження призводять до збільшення кількості апоптичних клітин в кістковому

мозку. Вперше виявлено, що кандесартану цилексетил в дозах 3 мг/кг і 1,5 мг/кг; кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг і ресвератрол в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг і 50 мг/кг після циклу фізичних навантажень спричиняють додаткове збільшення числа апоптичних клітин і клітин з мікроядрами в кістковому мозку мишей ($p<0,05$) (рис.°5). Розподіл клітин за фазами клітинного циклу представлено на рис.6.

Таблиця 4

Вміст клітин (%) з фенотипом CD117+ в кістковому мозку і в крові мишей лінії Balb/C після фізичних навантажень і подальшого введення кандесартану цилексетилу і ресвератролу

Група	Вміст клітин з CD117+ в кістковому мозку, %	Вміст клітин з CD117+ в крові, %
Контрольна група 1 (інтактна)	11,63±0,55	6,34±1,37
Контрольна група 2 (ФН)	12,41±0,94	7,93±0,99
Група 1 (ФН, кандесартан 3 мг/кг)	17,47±1,70*	14,74±1,16*
Група 2 (ФН, кандесартан 1,5 мг/кг)	11,03±0,80	9,43±1,28
Група 3 (ФН, кандесартан 1,5 мг/кг і ресвератрол 10 мг/кг)	19,08±1,74*	17,40±2,13*
Група 4 (ФН, кандесартан 1,5 мг/кг і ресвератрол 30 мг/кг)	19,32±2,12*	19,60±2,80*
Група 5 (ФН, кандесартан 1,5 мг/кг і ресвератрол 50 мг/кг)	26,98±1,29*	25,55±5,14*

Примітка: кандесартан – кандесартану цилексетил; ФН – фізичні навантаження; * – відмінності достовірні в порівнянні з контрольною групою 2.

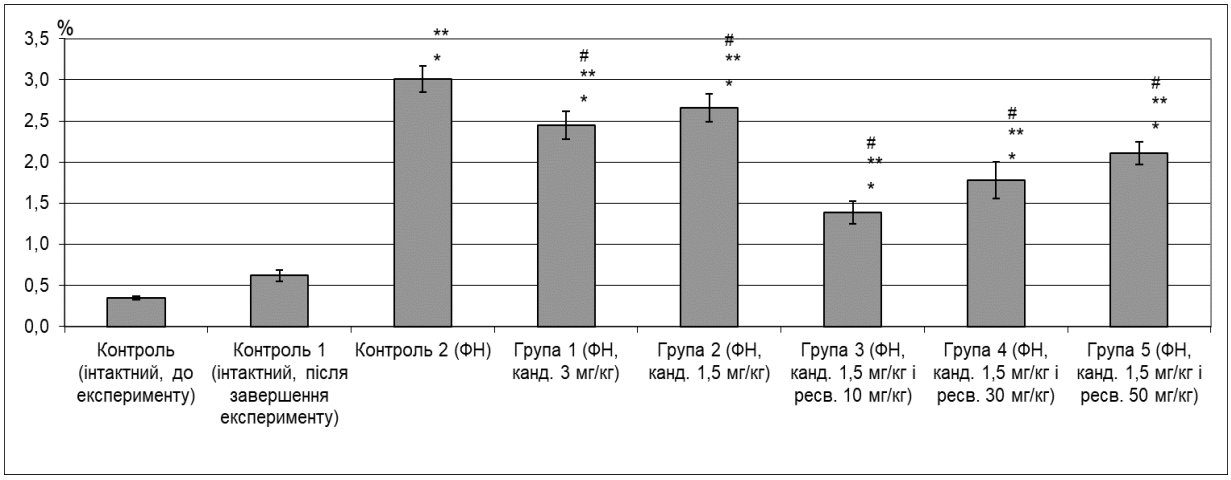

Рис. 5. Вміст клітин з мікроядрами у кістковому мозку мишей лінії Balb/C після фізичних навантажень і подальшого введення кандесартану цилексетилу та ресвератролу.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол; * – статистично достовірні порівнянно з показниками контролю (інтактні, до експерименту); ** – статистично достовірні порівнянно з показниками контролю 1 (інтактні, після завершення експерименту); # – статистично достовірні порівнянно з показниками контролю 2 (ФН).

Встановлено, що інтенсивні фізичні навантаження призводять до пригнічення процесів проліферації і накопичення клітин з ушкодженнями ДНК в

крові (рис. 7 – 9). Кандесартану цилексетил в дозі 3 мг/кг, а також кандесартану цилексетил в дозі 1,5 мг/кг в поєднанні з ресвератролом в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг і 50 мг/кг відновлюють досліджувані параметри, що свідчить про протекторні властивості речовин.

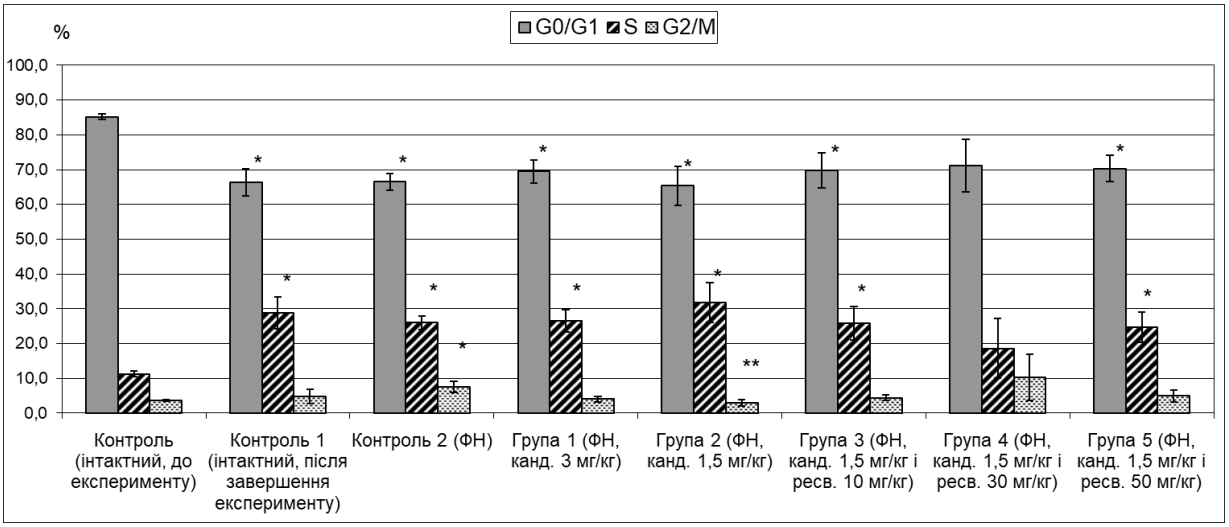

Рис. 6. Розподіл клітин за фазами клітинного циклу в кістковому мозку мишей лінії Balb/C після фізичних навантажень і подальшого введення кандесартану цилексетилу та ресвератролу.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол; * – статистично достовірні порівнянно з показниками контролю (інтактні, до експерименту); ** – статистично достовірні порівнянно з показниками контролю 2 (ФН).

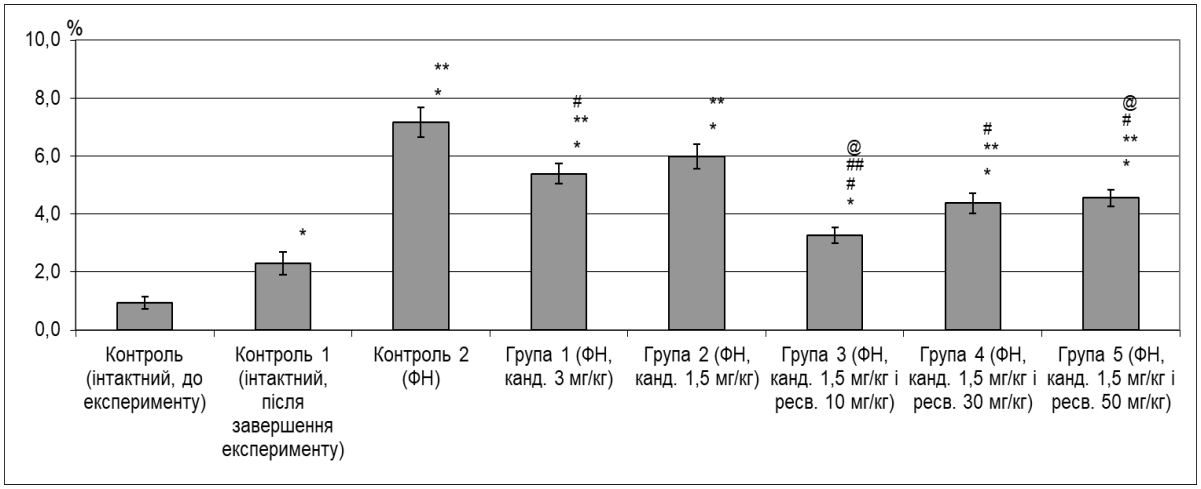

Рис. 7. Вміст апоптичних клітин у крові мишей лінії Balb/C після фізичних навантажень і подальшого введення кандесартану цилексетилу та ресвератролу.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол; * – статистично достовірно порівнянно з показниками контролю (інтактні, до експерименту); ** – статистично достовірно порівнянно з показниками контролю 1 (інтактні, після завершення експерименту); # – статистично достовірно порівнянно з показниками контролю 2 (ФН); ## – статистично достовірно порівнянно з показниками групи 1; @ – статистично достовірно порівнянно з показниками групи 2.

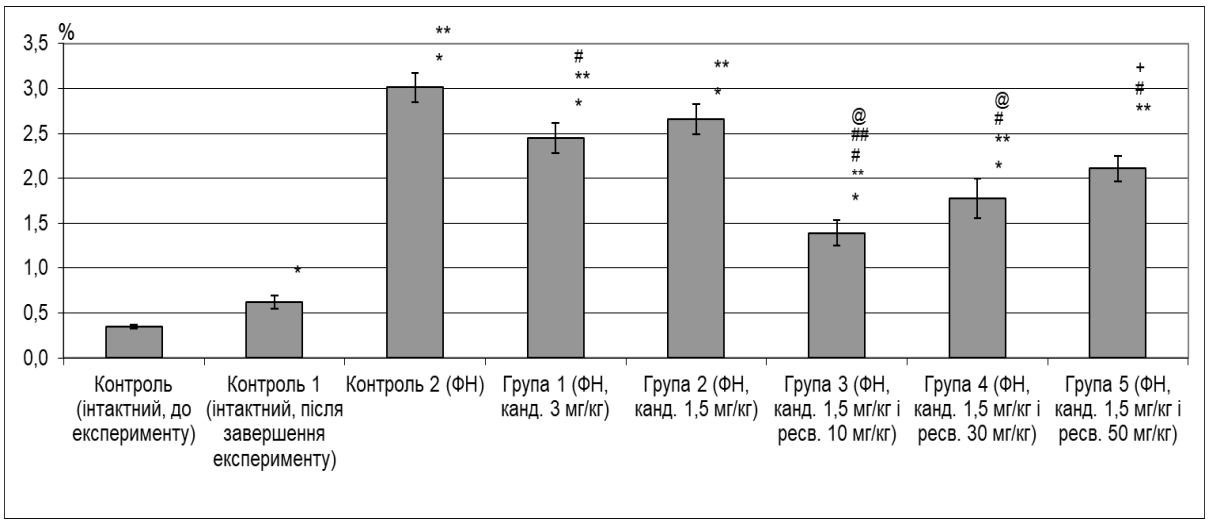

Рис. 8. Вміст клітин з мікроядрами у крові мишей лінії Balb/C після фізичних навантажень і подальшого введення кандесартану цилексетилу та ресвератролу.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол; * – статистично достовірно порівнянно з показниками контролю (інтактні, до експерименту); ** – статистично достовірно порівнянно з показниками контролю 1 (інтактні, після завершення експерименту); # – статистично достовірно порівнянно з показниками контролю 2 (ФН); ## – статистично достовірно порівнянно з показниками групи 1; @ – статистично достовірно порівнянно з показниками групи 2; + – статистично достовірні в порівнянні з показниками группы 3.

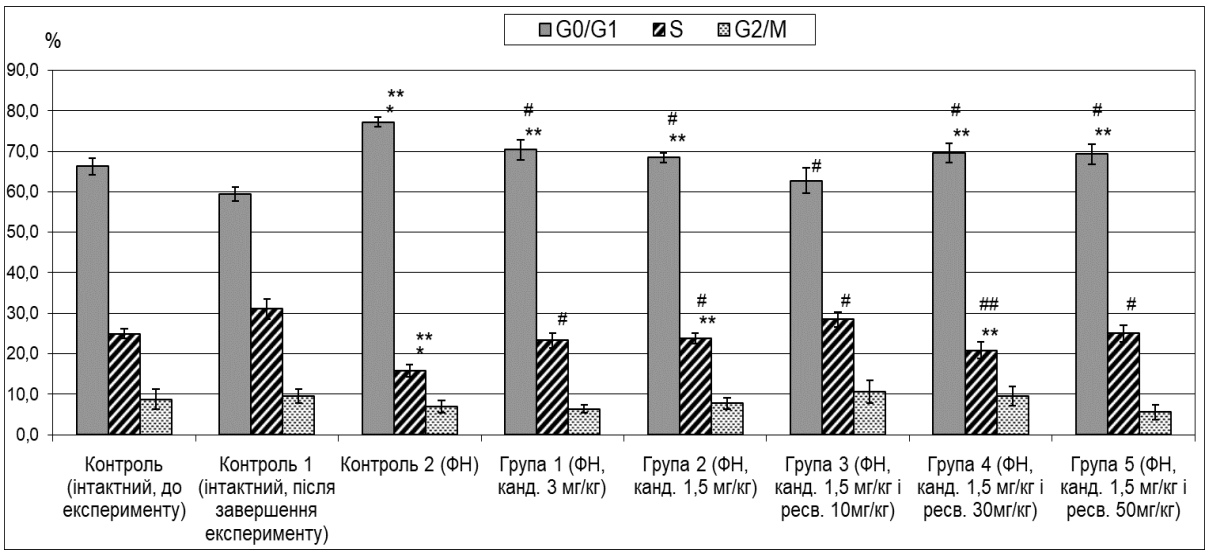

Рис. 9. Розподіл клітин за фазами клітинного циклу в крові мишей лінії Balb/C після фізичних навантажень і подальшого введення кандесартану цилексетилу та ресвератролу.

Примітка: канд. – кандесартану цилексетил; ресв. – ресвератрол; * – статистично достовірно порівняно з показниками контролю (інтактні, до експерименту); ** – статистично достовірно порівнянно з показниками контролю 1 (інтактні, після завершення експерименту); # – статистично достовірно порівнянно з показниками контролю 2 (ФН); ## – статистично достовірно порівнянно з показниками групи 3.

Таким чином, результати досліджень *in vivo* на мишах ліній C57Bl/6 і Balb/C свідчать про те, що застосування кандесартану цилексетилу і ресвератролу ефективно для мобілізації ЕПК і для відновлення параметрів клітинного циклу,

цитогенетичних показників кісткового мозку і крові тварин. Вперше виявлено, що дія розробленого комплексу субстанцій, до складу якого входять кандесартану цилексетил і ресвератрол, є нетоксичною та безпечною при застосуванні.

ВИСНОВКИ

1. В дисертаційній роботі вперше виявлено, що кандесартану цилексетил та кандесартан по-різному діють на вміст прогеніторних ендотеліальних клітин *in vitro*: в концентраціях 1,5 мкг/мл і 3 мкг/мл кандесартану цилексетил знижує вміст ендотеліальних прогеніторних клітин з фенотипом CD117+ в культурі клітин кісткового мозку мишей лінії C57Bl/6, тоді як кандесартан в цих концентраціях збільшує вміст клітин з поверхневим клітинним маркером CD117 в культурах клітин кісткового мозку мишей та жирової тканини людини, однак кандесартану цилексетил в концентрації 3 мкг/мл, а кандесартан в концентраціях 1,5 мкг/мл і 3 мкг/мл призводять до збільшення числа апоптичних клітин та клітин з мікроядрами.

2. Антиоксидант ресвератрол в концентраціях 30 мкг/мл і 50 мкг/мл стимулює утворення клітин з CD117+ в культурі кісткового мозку мишей лінії C57Bl/6; а в концентраціях 10 мкг/мл, 30 мкг/мл і 50 мкг/мл збільшує вміст клітин з фенотипом CD117+ в культурі жирової тканини людини, і не є цитотоксичним.

3. Вперше показано, що застосування кандесартану цилексетилу в концентрації 1,5 мкг/мл в комбінації з ресвератролом (30 мкг/мл і 50 мкг/мл), а кандесартану в концентрації 1,5 мкг/мл в комбінації з ресвератролом (1 мкг/мл – 50 мкг/мл) призводить до суттєвого збільшення популяції клітин з фенотипом CD117+ *in vitro*, а також зменшення числа клітин з мікроядрами та ознаками апоптозу.

4. За введення кандесартану цилексетилу *in vivo* в дозі 3 мг/кг ваги тварин зафіксовано в кістковому мозку мишей лінії C57Bl/6 збільшення клітин з фенотипом CD117+, а в дозах 1,5 мг/кг і 3 мг/кг – збільшення кількості останніх в крові тварин, однак в цих дозах кандесартану цилексетил має цитотоксичні властивості, що виражаються в індукції апоптозу і накопиченні клітин з мікроядрами в кістковому мозку тварин. Введення ресвератролу в дозах 10 мг/кг і 50 мг/кг призводить до збільшення вмісту клітин з фенотипом CD117+ в кістковому мозку і в крові мишей лінії C57Bl/6, і не є цитотоксичним.

5. Вперше встановлено, що сумісне використання кандесартану цилексетилу в дозі 1,5 мг/кг і ресвератролу в дозі 1 мг/кг призводить до збільшення кількості клітин з фенотипом CD117+ в крові мишей лінії C57Bl/6, а застосування кандесартану цилексетилу в дозі 1,5 мг/кг і ресвератролу в дозах 10 мг/кг і 50 мг/кг – призводить до збільшення вмісту зазначених клітин як в кістковому мозку, так і в крові тварин. Ефективність комбінації кандесартану цилексетилу в дозі 1,5 мг/кг та ресвератролу в дозах 10 мг/кг та 50 мг/кг щодо мобілізації клітин з фенотипом CD117+ в кістковому мозку та крові тварин суттєво вища в порівнянні із застосуванням моноречовини кандесартану цилексатилу в дозі 1,5 мг/кг та співставна з ефективністю кандесартану цилексатилу в дозі 3 мг/кг.

6. Вперше виявлено, що використання кандесартану цилексетилу в дозі 3 мг/мл після фізичних навантажень у тварин призводить до збільшення кількості

клітин з фенотипом CD117+ в кістковому мозку та крові мишей лінії Balb/C. Сумісне застосування кандесартану целексетилу в дозі 1,5 мг/кг та ресвератролу в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг і 50 мг/кг після фізичних навантажень у тварин призводить до збільшення кількості клітин з фенотипом CD117+ в кістковому мозку і в крові мишей лінії Balb/C.

7. Встановлено, що тривалі та інтенсивні фізичні навантаження збільшують число клітин з мікроядрами та апоптозом, введення кандесартану цилексатилу в дозі 3 мг/кг збільшує число апоптичних клітин та клітин з мікроядрами, тоді як за комбінації кандесартану цилексатилу з ресвератролом в дозах 10 мг/кг, 30 мг/кг і 50 мг/кг негативний ефект фізичних навантажень нівелюється, що проявляється в зменшенні кількості апоптичних клітин і клітин з мікроядрами в крові мишей лінії Balb/C.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях:

1. Беляева АВ. Влияние ресвератрола и кандесартана на клеточный цикл, апоптоз и мобилизацию клеток CD117. Новости медико-биол. наук. 2013;8(3):64-8.

2. Беляева АВ, Афонин ВЮ. Влияние ресвератрола на изменения количества эндотелиальных прогениторных клеток, цитогенетических показателей и параметров клеточной кинетики в эксперименте. Новости медико-биол. наук. 2016;14(4):30-5 *(Особистий внесок здобувача – пошук та повний аналіз літературних джерел, проведення експериментального дослідження, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку)*.

3. 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. Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Серія. Біологія. 2019;(3):54-7 *(Особистий внесок здобувача – проведення експериментального дослідження, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку)*.

4. Beliayeva A, Garmanchuk L. Candesartan, candesartan cilexetil, resveratrol and their combinations change the amount of endothelial progenitor cells, cytogenetic and cytokinetic parameters in adipose tissue cell culture. Fundamental and applied researches in practice of leading scientific schools. 2019;36(6):96-9. doi: 10.33531/farplss.2019.6.14 *(Особистий внесок здобувача – пошук та повний аналіз літературних джерел, проведення експериментального дослідження, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку)*.

5. Beliayeva A. Impact of an angiotensin II receptor antagonist and antioxidant on count of stem cells and on morphofunctional parameters in animals. Fundamental and applied researches in practice of leading scientific schools. 2020;41(5):100-5. doi: 10.33531/farplss.2020.5.18.

6. Beliayeva A, Garmanchuk L. Morphofunctional parameters of bone marrow of mice under using of antihypertensive agent. Fundamental and applied researches in practice of leading scientific schools. 2020;42(6):4-6. doi: 10.33531/farplss.2020.6.1 *(Особистий внесок здобувача – пошук та повний аналіз літературних джерел, проведення експериментального дослідження, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку)*.

Тези наукових доповідей на конференціях:

1. Beliayeva AV, Darafeyenka IS, Vlasenka AK, Sazanov VB, Afonin VYu. The influence of candesartan and resveratrol on the mobilization of stem cells CD117 in C57Bl/6 mice. In: Abstracts book of the I International Scientific Conference of Students and PhD Students Cell Technology Week 2013; 2013 May 14-17; Kyiv. Kyiv; 2013. p. 28.
2. Беляева АВ. Влияние кандесартана цилексетила и ресвератрола на число стволовых клеток с CD117+, CD34+, CD117+/CD34+, CD31+ в исследовании in vitro. В: Тез. III Междунар. форума русскоговорящих врачей Новая волна в медицине; 2015 Авг 6-8; Рига – Юрмала, Латвия. Юрмала; 2015. с. 9.
3. Beliayeva A. P1813. Candesartan cilexetil and extract of Polygonum sp. influence on the number of stem cells in vitro. Eur J Heart Fail. 2016;18(Suppl 1, Abstracts of the Heart Failure 2016 Conference; 2016 May 21-24; Florence, Italy):436.
4. Beliayeva AV. Investigation of changes of cytokinetic and cytogenetic parameters in the experiment under the influence of candesartan, candesartan cilexetil and resveratrol. In: Eighth International Medical Congress of the Southeast European Medical Forum (SEEMF); 2017 Sep 7-10; Athens, Greece. Athens; 2017. p. 46-7.
5. Beliayeva A. P1983. Influence of candesartan cilexetil and resveratrol on changes in the number of stem cells, cytogenetic and cytokinetic parameters of bone marrow of mice. Eur J Heart Fail. 2018;20(Suppl S1, Abstracts of the Heart Failure 2018 and the World Congress on Acute Heart Failure; 2018 May 26-29; Vienna, Austria):517.
6. Beliayeva A. Analysis of the effect of resveratrol on the number of stem cells, cytokinetic and cytogenetic parameters in vitro. In: Ninth International Medical Congress of the Southeast European Medical Forum (SEEMF); 2018 Sep 6-9; Teslic, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina. Teslic; 2018. p. 52-3.
7. Beliayeva A. Candesartan cilexetil and resveratrol stimulate mobilization of CD117+ stem cells in C57Bl/6 mice. В: Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф.-шк. студентів та молодих вчених BIOMED Talks – 2019; 2019 Жовт 15-17. Київ; 2019. с. 13-4.

АНОТАЦІЯ

Бєляєва А.В. Цитогенетичні та морфофункціональні характеристики стовбурових клітин за дії кандесартану цилексетилу та ресвератролу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2021.

Дисертаційна робота присвячена визначенню цитогенетичних та морфофункціональних характеристик стовбурових клітин, отриманих із кісткового мозку, крові тварин та жирової тканини людини за дії кандесартану цилексетилу, кандесартану та ресвератролу.

Було виявлено, що антагоністи рецепторів ангіотензину II кандесартану цилексетил і кандесартан, як PPARs-регулятори, здатні стимулювати збільшення числа ендотеліальних клітин-попередників *in vitro* і *in vivo*, однак ці речовини є цитотоксичними. Використання ресвератролу (PPARs- і HDAC-регулятора) збільшувало кількість ендотеліальних клітин-попередників *in vitro* і *in vivo* і було безпечним для клітин. Застосування кандесартану цилексетилу/кандесартану в комбінації з природним антиоксидантом ресвератролом збільшувало кількість ендотеліальних клітин-попередників *in vitro* і *in vivo*. Спільне застосування кандесартану цилексетилу/кандесартану і ресвератролу дозволяє знизити дозування перших речовин і знизити їх побічні ефекти на клітини і організм.

Дослідження цитофлуориметричних параметрів клітин, таких як розподіл клітин за стадіями клітинного циклу, кількість апоптичних клітин і клітин з мікроядрами, число циркулюючих ендотеліальних клітин-попередників, продемонструвало можливість комплексного підходу до оцінки ефективності та безпеки дії речовин і їх комбінацій.

Ключові слова: серцево-судинні захворювання, кандесартан, кандесартану цилексетил, ресвератрол, стовбурові клітини, ендотеліальні клітини-попередники, цитогенетичні параметри, морфофункціональні показники.

АННОТАЦИЯ

Беляева А. В. Цитогенетические и морфофункциональные характеристики стволовых клеток при действии кандесартана цилексетила и ресвератрола – Квалификационная научная работа на правах рукописи. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11 – цитология, клеточная биология, гистология. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2021.

Диссертационная работа посвящена определению цитогенетических и морфофункциональных характеристик стволовых клеток, полученных из костного мозга, крови животных и жировой ткани человека при действии кандесартана цилексатила, кандесартана и ресвератрола.

Было выявлено, что антагонисты рецепторов ангиотензина II кандесартан цилексетил и кандесартан, как PPARs-регуляторы, способны стимулировать

увеличение числа эндотелиальных клеток-предшественников *in vitro* и *in vivo*, однако эти вещества являются цитотоксическими. Использование ресвератрола (PPARs- и HDAC-регулятора) увеличивало количество эндотелиальных клеток-предшественников *in vitro* и *in vivo* и было безопасным для клеток. Применение кандесартана цилексетила/кандесартана в комбинации с природным антиоксидантом ресвератролом увеличивало количество эндотелиальных клеток-предшественников *in vitro* и *in vivo*. Совместное применение кандесартана цилексетила/кандесартана и ресвератрола позволяет снизить дозировку первых веществ и снизить их побочные эффекты на клетки и организм.

Исследование цитофлуориметрических параметров клеток, таких как распределение клеток по стадиям клеточного цикла, количество апоптических клеток и клеток с микроядрами, число циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников, продемонстрировало возможность комплексного подхода к оценке эффективности и безопасности действия веществ и их комбинаций.

Ключевые слова: сердечно-сосудистые заболевания, кандесартан, кандесартан цилексетил, ресвератрол, стволовые клетки, эндотелиальные клетки-предшественники, цитогенетические параметры, морфофункциональные показатели.

ANNOTATION

A. Beliayeva. Cytogenetic and morphofunctional parameters of stem cells under using candesartan cilexetil and resveratrol. – The manuscript. Dissertation for a candidate of biological sciences degree in the specialty 03.00.11 – cytology, cellular biology, histology. – ESC “Institute of Biology and Medicine”, Kyiv National Taras Shevchenko University, Kyiv, 2021.

The dissertation work is devoted to investigation of cytogenetic and morphofunctional characteristics of stem cells of bone marrow and blood of animals and human adipose tissue under using of candesartan cilexetil, candesartan and resveratrol.

At present cardiovascular diseases are widespread all over the world. Cardiovascular diseases are one of the most dangerous cause of mortality in many countries. There is information about increasing of incidence of this pathology in ten times in many countries in recent years. Now many scientists and doctors try to study and create new more effective and safe drugs and their combinations, new technologies to treat cardiovascular diseases. Cell technologies are the most promising areas for the treatment of various diseases, including cardiovascular diseases. At present cell technologies are applied for diagnostics and treatment of cardiovascular diseases. It is known that mobilized stem cells and endothelial progenitor cells migrate into the heart muscle or endothelium with the subsequent positive therapeutic effect, improve their function and restore after damage. Candesartan cilexetil is an angiotensin II receptor antagonist. It is a long-term antihypertensive agent. Candesartan cilexetil increases resistance to stress and endurance during exercise in people with hypertension. 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, increase the number of apoptotic and micronucleated cells. It’s actual to search

accompanying therapy, which could decrease the number of side effects caused by candesartan cilexetil. Resveratrol is a naturally occurring polyphenol, which presents in a wide variety of plant species. It has emerged as one of the most promising naturally substance with a great therapeutic properties. Resveratrol reduces risk of developing chronic diseases, shows pleiotropic health beneficial effects, including anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-aging, cardioprotective and neuroprotective activities. 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.

The effect of candesartan, candesartan cilexetil, resveratrol at different doses and their combinations on the number of stem cells, cytogenetic and morphofunctional parameters in cell cultures and in bone marrow and blood in animals was studied.

Cell cultures of bone marrow of C57Bl/6 mice and human adipose tissue, Balb/C mice, C57Bl/6 mice, ICR mice were used in the experiments.

It is revealed that antagonists of angiotensin II receptors (candesartan, candesartan cilexetil), as PPARs-regulators, are able to provoke increase of the number of stem cells in the experiments *in vitro* and *in vivo,* but these substances are cytotoxic, increase the number of apoptotic cells and the amount of cells with micronuclei. Using resveratrol (PPARs- and HDACs-regulator) raised the number of endothelial progenitor cells *in vitro* and *in vivo*. It is found that this substance is safe for cells and doesn't increase the number of apoptotic and micronucleated cells. Application of candesartan/candesartan cilexetil in the combination with natural antioxidant resveratrol increases the number of endothelial progenitor cells in the experiments *in vitro* and *in vivo*. It is found that candesartan/candesartan cilexetil with resveratrol reduce the number of cells with damage of genetic material. It is shown that mixed use of candesartan/candesartan cilexetil and resveratrol allows to reduce the dosage of the former substances, and alleviate its side effects on cells and organism. The obtained data were also significantly higher than those recorded for individual compounds.

Investigation of cytofluorimetric parameters, such as their distribution at stages of cell cycle, the number of apoptotic and micronucleated cells, and the number of circulating endothelial progenitor cells, demonstrated the possibility complex approach to assessment of efficiency and safety of effects of substances and combinations thereof.

The obtained results are important to develop new complex drug to stimulate mobilization of endothelial progenitor cells and stimulate reparative processes in cardiovascular system.

Keywords: cardiovascular diseases, candesartan, candesartan cilexetil, resveratrol, stem cells, endothelial progenitor cells, cytogenetic parameters, morphofunctional parameters.