



ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ НАУКИ — МЕДИЦИНЕ

Материалы Международной
научной конференции
(Минск, 17 мая 2013 г.)



ЧАСТЬ 1

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт физиологии

Посвящается 60-летию Института физиологии НАН Беларуси

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ НАУКИ — МЕДИЦИНЕ

Материалы Международной
научной конференции
(Минск, 17 мая 2013 г.)

В двух частях

Часть 1



Минск
«Беларуская навука»
2013

УДК 61(082)
ББК 5я43
Ф94

Редакционная коллегия:

И. В. Залуцкий, Л. И. Арчакова, В. Н. Калюнов, В. А. Кульчицкий,
В. В. Солтанов, В. С. Улащик, А. Г. Чумак

Рецензенты:

член-корреспондент НАН Беларуси, профессор Е. И. Слобожанина,
академик НАН Беларуси, профессор С. Н. Черенкевич

Фундаментальные науки – медицине : материалы Междунар. науч. конф. Ф94 (Минск, 17 мая 2013 г.). В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т физиологии ; редкол.: И. В. Залуцкий [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2013. – 451 с.

ISBN 978-985-08-1562-0.

В издании объединены тематические статьи специалистов в области медико-биологических наук. Помимо экспериментального анализа механизмов основных патологических процессов, **акцентировано внимание на современных технологиях диагностики, терапии, профилактики и реабилитации социально значимых заболеваний.**

Сборник предназначен для широкого круга студентов, ученых и врачей, профессиональная деятельность которых сопряжена с познанием и лечением различных патологических состояний.

УДК 61(082)

ББК 5я43

ISBN 978-985-08-1562-0 (ч. 1)
ISBN 978-985-08-1574-3

© Институт физиологии НАН Беларуси, 2013
© Оформление. РУП «Издательский дом
«Беларуская навука», 2013

ВВЕДЕНИЕ

В наш век нанотехнологий и инноваций среди каждодневных актуальных проблем, волнующих человечество, не теряют злободневности медико-биологические вопросы, связанные с познанием, лечением профилактикой и реабилитацией различных социально значимых заболеваний. Общеизвестно, но не всеми признается, что прежде, чем приступить к реализации каких-либо действий, целесообразно тщательно изучить вопрос, сопряженный с предстоящей деятельностью, и лишь затем приниматься за работу. Наиболее значима такая традиция в сфере здравоохранения, где доминирует девиз «Non posse». Вышесказанное явилось стимулом для организации 17 мая в Минске на базе Института физиологии Национальной академии наук Беларуси **Международной научной конференции «Фундаментальные науки – медицине»**. Участники научного форума сосредоточили внимание на наиболее актуальных фундаментальных вопросах медико-биологической направленности с целью скорейшего внедрения достигнутых инновационных результатов в практическую медицину.

В статьях сборника представлены результаты исследований ученых Беларуси, России, Украины, Германии, Польши, которые свидетельствуют о высоком уровне научно-исследовательской работы авторов статей в области фундаментальных дисциплин медико-биологической направленности. Наибольшее внимание в исследовательской работе уделено проблемам онкогенеза и радикальной терапии онкологических заболеваний, повышения устойчивости клеток и тканей организма в условиях гипоксии и ишемии, контролю дисбаланса метаболических процессов, способам повышения эндогенных резервов здорового и больного организма, роли разнообразных сочетаний физических факторов для диагностики и терапии, вопросам более эффективной профилактики и реабилитации.

В процессе выступлений и дискуссий специалистов вполне естественно возникает основа для новых идей и будущих тематических конференций, которые стали для Института физиологии НАН Беларуси своеобразной традицией. Организаторы научного форума надеются на новые плодотворные встречи представителей фундаментальных и прикладных научных направлений в будущем году.

N. V. AKULICH^{1,2}, M. A. EFREMOV¹, A. V. MAROCHKOV², A. A. KULESHOVA¹,
I. A. TSYPLUHINA¹, K. V. BESEDIN¹

**DYNAMIC CHANGE OF T-LYMPHOCYTES IN LAPAROSCOPIC
CHOLECYSTECTOMY PATIENTS WITH HYPEROXIA AND/OR
PHYTOHEMAGGLUTININ APPLICATION**

¹Mogilev State University, Mogilev, Belarus

²Mogilev Regional Hospital, Mogilev, Belarus

In our time we have advanced in methods of anesthesiology surgery. Deaths that are bounded with anesthesia are decreasing, which are like 1–2 deaths for 200 anesthesia's [1–3]. Those numbers are mostly connected and affected by the rational ways of choosing anesthesia literature.

Today's most used method of intraoperative patient safety is anesthesia that's inhalator. Its usage is approximately 60–85 % from all other anesthetics. Method's popularity and dependence are best known for its high effectiveness, security and manageability. All this is achieved by insertion of second and third generation of halogenated volatile anesthetics: enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane.

In resuscitation and anesthesia practice oxygen was used approximately for a very long time, the reason is that because O₂ is oxidant nutrients, plays the key role in cell energetic security, at all critical situations. Also high oxidation ability, which initiates automatic non-fermentative O₂ and OH reactions, can cause homeostasis disturbance, in which are used surgical procedure.

Also today we don't have an exact opinion on oxygen toxic limit, and its concentration. In specific journals we can state that in the most articles authors are divided into two paths of anesthesia: first with oxygen pressure of arterial blood (PaO₂) is at 170–225 mm Hg [2], in second even 360 mm Hg [2]. In countries with high medical care most anesthesiologists are mostly adapted to analogically same parameters (more than 160 mm Hg) [5].

A significant effect on human antioxidant defense can cause some of the inhalation anesthetics, in particular sevoflurane, but, this effect in modern science is not completely explored in hyperoxia conditions. But the harmful effects of hyperoxia on the organism are highly studied not only on the cell level but also on the organic level (example, lungs). Mostly the research is hold in lab conditions, or on healthy volunteers, or *in vitro* on the basis of multiple cells. With all those posts there are some situations which are easier to accomplish, that are not considering factors of real clinical practice [2].

One of the most examined objects of biomedical researches are lymphocytes. The bases of their research are: quantity and phenotypic characteristics, variation and functionality tests, intracellular determination cytokines and etc. Lymphocyte chromatin, that is founded in G0/G1 phase, from one side, it can resemble structure-functional state of those cells, and from the other, it is a test subject of exterior and interior factor influence.

In this case, for the researches cause we examined morphological characteristics of lymphocytes in the peripheral blood, while conducting laparoscopic operations. When using inhalation anesthetics with 50 % FiO₂ while inhaling.

Material & Methods. The criteria that were used for research are: planned operative anesthesia procedure: individuals of both sex, age 18 and above: physical patient status by ASA I–III class; and patients without lungs pathology. Patients at the time of anesthesia, with oxygen concentration at inhalation (FiO₂), were 50 %. Patient premedication and water anesthesia came with a common scheme. Anesthesia support produced inhalation of sevoflurane in a dose 1,15±0,4 vol.% exhalation in nitrous oxide-oxygen mixture of FiO₂ = 50 % and bolus injection of fentanyl in dose 5,8±2,5 mkg/kg/h. Muscular relaxation at the time of anesthesia supported injection of trakrium in dose 0,3–0,6 mg/kg. Artificial lung ventilation (ALV) at the time of inhalation was proceeded with the usage of anesthesia-inhaling equipment ADU-5 (Datex-Ohmeda, Finland) in VCV mode with circulation of half-closed outline and the flow of fresh gas 2 l/min.

Patient's venous blood was affected by 60 min incubation with phytohemagglutinin, which is a specific mitogen. We analyzed monitored parameters on followed stages: 1st – before anesthesia beginning; 2nd – 5 min after trachea intubation; 3rd – 10 min after incubation; 4th – 20–30 min after trachea incubation; 5th – end of the operation; 6th – 5 min after patient excavation. Blood samples were researched on the phases: 1, 4 and 6 (in quantity of 4 ml).

To analyze the status of chromatin lymphocytes in peripheral blood by the morphodensitometry methods. The proposal of this study was approved by the ethics committee of Mogilev regional hospital, Mogilev, Belarus. Examination included 17 patients with laparoscopic cholecystectomy (a principal group). The group was randomized at the age (48,3±1,3 years), sex male, at diagnosis and treatment. A control group consisted of 17 healthy male volunteers at the age of 41,5±1,4.

Sample preparation included: a) mononuclear cells isolation, b) staining of whole blood smears with gallocyanin-chrome alums.

a) The blood samples were diluted with an equal volume of a phosphate buffer saline (PBS) at pH 7,2. Test-tubes were put in a thermostat at 37 °C for 30 min for a preliminary erythrocytes sedimentation. Then leukocyte rich supernatant was collected carefully and centrifuged for 10 min at 300 g. A supernatant containing platelets was removed and the leukocytes pellet at the test-tube bottom were reconstituted to a volume of 2 ml with Hank's balanced salt solution and carefully stirred. Obtained leukocytes suspension was layered over 1,5–2,0 ml separation media with density of 1,077 g/l and centrifuged for 30 min at 18–22 °C. T-lymphocyte were separated with DYNAL Beads.

b) The blood smears were fixed in ethanol-diethyl ether (1 : 1) for 30 min, then processed with RNA solution (Sigma, USA) and stained with chromium (III) potassium sulfate dodecahydrate at 37 °C for 2,5–3,0 h.

Analysis of lymphocytes was performed using an optical microscope (Axio Imager A1, Zeiss, Germany), with an objective Plan-Neofluar 100×1,3 oil and with a video camera AxioCam MrC5 (Zeiss, Germany).

a) For each patient image of 200 nuclei of peripheral blood lymphocytes' selected after visual estimation were processed to improve their qualities. Morphologically, the cells were 90 % small lymphocytes. Then their analysis was performed using

microanatomy of the nuclei [4]. The object of MDM research was an interphase chromatin of lymphocytes which was subdivided into four components in our research. Two of them were related to a compact, dense or condensed one (heterochromatin) and the next two were related to diffusive, friable or decondensed one (euchromatin). The black and granular component of the heterochromatin was marked as q1, the light component of the heterochromatin was marked as q2, the light component of the euchromatin was marked as q4 [4]. We evaluated an area of the component (A), perimeter (Per.) and optical density (OD) of separate components. Phytohemagglutinin (PHA) (GIBCO) was then added to the suspension. The concentration of PHA used was that giving optimal lymphoblastic transformation.

Results. On the first step of research we established the allocation of morphological and optic parameters interphase chromatin lymphocytes. The allocation was counted by these parameters: chromatin quote area, mean, mode, minimum and maximum of optical density, perimeter, integral optical density, form factor, diameter (table). Before treatment the most frequent form of allocation, by all parameters, was log-normal, this points on dominance of tiny components of heterochromatin, which has not high optical density and irregular form.

Euchromatin, on other hand, had right asymmetric area of distribution, by log-normal perimeter. Mode and median of optical density specifies by normal character of distribution. On the next stage, we started an observation of middle distentions of our researched parameters.

The area of heterochromatin (q1 component) was 1043,6 pt (correspond 3,0 μm). We decided to limit our variables to be non-calibrated, which will be used in future, because we don't see a reason for its adduction. In conditions of 30 min exposition of integral blood, follows the area decrease of q1, which on our conception are resemblances of processes, that follow special (but close) conditions *in vitro* with *in vivo*. The area of chromatin in 60 min interval came back to normal conditions. Optical parameters (mean, optical density, mode, median optical density, integral optic density. had similar dynamic with morphological parameters for all period.

Euchromatin (q4 component) characterized by decrease of area and tendency to increase its optical density. Those parameters of euchromatin we can count as lack of synthetic processes, combined with samples of blood placement in artificial environment. By doing so, experimental conditions are adequate to brought up tasks.

After 30-min hyperoxia, which was prevented by inhalation of a substance with 35 % O₂ is the beginning of complex changes in q1, q2, q4 component. In particular, area of heterochromatin increased on 206 % (3198,8 \pm 3924,4) by looking on the initial state. In q2 component there were no area changes, but chromatin became darker, which we can determine by looking at mode. As in heterochromatin, euchromatin also became bigger (from 253,525 \pm 800,98 in control group, to 1517,21 \pm 2821,8). We mean that hyperoxia presents us total depression of chromatin.

On the 60th min of compound, with high doses of O₂ inhalation, we observed a recurrence of an area and optical density of heterochromatin after 30-min exposition in hyperoxia *in vivo*. With this, we can point out that with euchromatin condensation we deduct a hyperchromasia. But the most significant changes in the morphological structure was area, in the component q2 – it's increase by 2 times (to 3543,3 \pm 4584,0).

The allocation of morphological and optic parameters interphase chromatin lymphocytes

		Control			Hyperoxia 30 min			Hyperoxia 60 min		
		0 min	30 min	60 min	PHA 0 min	PHA 30 min	PHA 60 min	PHA 0 min	PHA 30 min	PHA 60 min
q1 ($\bar{X} \pm \sigma$)										
Area, pt		1043,6±	651,0±	808,1±	3198,8±	1232,6±	712,2±	907,6±	664,7±	2253,4±
		2844,7	1881,0	2328,5	3924,4	3165,2	1933,1	2093,4	1881,6	4098,3
OD, r. u	Mean	177,6±	160,0±	167,8±	179,0±	183,9±	156,2±	180,8±	186,8±	166,1±
	Mode	12,3	11,4	12,8	6,5	31,3	7,4	13,8	16,9	11,0
Per., pt		177,5±	156,3±	168,1±	176,9±	180,3±	151,3±	176,7±	186,5±	163,0±
		18,7	13,3	19,9	8,0	34,2	6,2	15,2	19,8	12,8
Per., pt		118,1±	93,8±	112,8±	213,5±	121,8±	106,6±	119,1±	104,9±	188,1±
		212,4	156,7	185,2	184,5	201,2	189,5	160,6	189,3	255,1
q2 ($\bar{X} \pm \sigma$)										
Area		1617,6±	1950,5±	1774,9±	1596,5±	1571,5±	3098,7±	3543,3±	1619,1±	1719,7±
		3665,8	4186,8	3890,3	2579,2	3285,0	6111,6	4584,0	3829,0	3851,3
OD, r. u	Mean	114,9±	106,7±	117,4±	133,1±	120,7±	104,7±	117,8±	117,8±	119,6±
	Mode	40,9	34,8	31,1	26,5	20,6	40,5	35,4	43,3	26,6
Per., pt		121,0±	108,3±	119,6±	135,8±	121,4±	106,8±	122,3±	119,0±	123,0±
		46,7	38,3	35,3	31,0	26,3	43,4	41,8	45,8	32,7
Per., pt		162,4±	171,5±	164,4±	186,8±	189,9±	187,5±	290,7±	134,1±	194,4±
		291,7	296,8	262,2	210,3	292,4	296,2	340,2	277,5	309,9
q4 ($\bar{X} \pm \sigma$)										
Area		253,5±	156,5±	235,2±	1517,2±	306,8±	119,2±	210,5±	152,7±	256,1±
		801,0	540,8	747,9	2821,8	1229,1	174,2	759,5	381,3	836,5
OD, r. u	Mean	27,3±	41,2±	49,1±	73,8±	66,0±	32,1±	49,7±	54,5±	46,3±
	Mode	7,7	16	9,8	15,1	11,5	5,6	8,7	18,9	11,0
Per., pt		25,4±	40,9±	50,2±	76,9±	67,0±	35,5±	52,5±	52,9±	45,0±
		14,2	19,1	14,85	17,2	15,8	5,7	12,7	22,9	16,5
Per., pt		67,2±	50,8±	87,2±	239,2±	78,2±	43,9±	65,8±	45,8±	80,5±
		103,3	77,3	171,1	310,7	160,8	37,1	109,6	67,8	136,3

We can suggest that this whole process is about chromatin remodeling, by q1 and q2 conduction into perigranular chromatin (q2), that consist of regulation properties.

After 30–60 min interval of PHA injection, with confirmation of 30 min q2 component hyperoxia, possibly, it's capable to increase her regulator functions and/or protein synthesize, by examining of area increase ($3098,7 \pm 6111,6$) with hyperchromasia (to $104,7 \pm 40,5$). But also an euchromatin decreased it's area in those conditions, particularly with it's decrease of paint-conjuring abilities. This whole process we can analyze as pre-mitotic. But on the other hand, active O₂ could have been a main factor that have succeeded in disrupt of internucleus (possibly, hydrogen) link.

Comparison analysis between 30 and 60 min hyperoxia, with 60 min usage of PHA, could help us discover next features. The further application of active O₂ revealed us unspecific changes. On the first side it was the increase of chromatin area (q1), decrease of perigranular chromatin (q2) and euchromatin increase by 46 %. But on the other side, this state of cell and the original state look similar, but excluding perigranular zone of heterochromatin, percentage of which was 116 % more than 60 min hyperoxia.

Conclusion. We analyzed T-lymphocyte reactions to PHA and hyperoxia, by determining their changes in morphological and optical parameters, to have a clear view on T-lymphocytes ability to change in those conditions.

Our results indicate that the oxygen tension influence upon the blast-cell transformation of human T-lymphocytes to specific mitogens. The chromatin quantity and its activity statistically increase in the early stage and return to initial state in the later stage of hyperoxia.

We speculate, that the increased rate of transcriptional activity indicates that the early stage of the hyperoxia initiate specific gene activation. Besides, the T-cells may be involved in the human reaction, which can be caused by inhalation anesthetics.

References

1. Aho A. J. *et al.* // Br. J. Anaesth. 2009. Vol. 102. P. 227–233.
2. Eger E. I. Rutherford: Healthpress Publishing Group, 2002. 327 p.
3. Jeong H., Jeong S., Lim H. J. *et al.* // Anesthesiology. 2012. Vol. 116 (5). P. 1047–1056.
4. Molodtsov M. Y., Butusova N. N., Khraltsova L. S. // Zelena Gura. 1991. Vol. 4. P. 61–67.
5. Schilling T., Kozian A., Senturk M. *et al.* // Anesthesiology. 2011. Vol. 115 (1). P. 65–74.

O. AVRUTINA

CUBE-OCTAMERIC SILSESQUIOXANES: NANOSCAFFOLDS FOR DRUG DELIVERY AND TUMOR IMAGING

Technische Universität Darmstadt, Darmstadt, Germany

Nanomaterials and nanoparticles with tailor-made functionalities attract growing interest in the fields of gene therapy, DNA protection, or cancer targeting [1, 5]. In molecular oncology, they enable cell penetration acting as modules for drug delivery

into tumor cells. *In vivo*, the enhanced permeability and retention effect as well as the leaky vasculature of cancer cells result in a passive targeting of nanoparticle-delivered drugs. Size, shape, surface charge, and the functional groups of a nanoparticle control its interaction with biological systems. Thus, the functionality but also the toxicity of nanoparticle-based delivery units strongly depends on their design. To date, a wide range of cell membrane-permeable nanoparticles has been developed, among them core-shell fluorescent, mesoporous dye-doped, TAT-peptide-conjugated silica nanoparticles (SNP) and nanovalves.

Cube-octameric silsesquioxanes (COSS) can be considered as special members of the SNP family. They are highly symmetric molecules of pico dimension comprising a 500 pm silica core that is decorated with organic ligands [2, 3]. COSS with pendant azide, aminooxy, vinyl, thiol or amine functionalities allow for the presentation of biomolecules such as carbohydrates, peptides, and miniproteins using the respective conjugation chemistry [2, 3]. Thus, up to eight ligands can be covalently attached to the silsesquioxane scaffold [3].

Among others, COSS carrying either lysine dendrimers or poly(2-dimethylamino) ethyl methacrylate chains, respectively, have been reported as DNA delivery systems into cells [3, 4]. In addition to nanoparticles that contain large and branched side chains extending from the inorganic silica core, cell-penetrating COSS derivatives have been described that bear relatively short arms, i. e. an isobutyl or aminopropyl side chain [3]. Based on these findings, the general applicability of octaamino COSS as a very small nanoparticle drug carrier was postulated, albeit an experimental proof is still missing.

Herein, we investigated the applicability of octaamino COSS nanoparticles as a delivery system for targeting a peptidic cargo molecule to the nucleus of human HeLa cancer cells (Fig. 1) [4].

As a model peptide for cargo delivery a 16-mer peptide SAVLQKKITDYFHPKK was chosen that is known to bind an abundant nuclear protein, the proliferating cell nuclear antigen (PCNA). PCNA is an essential component of the DNA replication and repair machinery and plays a fundamental role in cell proliferation and genome stability. Tumor theranostic-related research in this field is concentrated on the development of a cancer biomarker based on the immunostaining of cancer-associated PCNA isoforms and the inhibition of DNA replication *via* binding of peptidic ligands to PCNA. The peptide mentioned above is derived from protein p21^{Cip1/Waf1} that is known to bind PCNA, thus playing a crucial role in regulating its activity. An oligopeptide comprising the PCNA binding sequence of p21^{Cip1/Waf1} was delivered into C2C12 mouse myoblast cells *via* TAT-mediated transduction. It caused cell cycle arrest indicating direct interference with protein/protein interaction that is crucial for DNA replication and repair.

For initial experiments, a single corner of the octaamino COSS particle was modified with a C-terminally fluorescein-labeled Cys-βAla dipeptide and human HeLa cells were incubated with the resulting conjugate (20 μM) for 30 min. Confocal microscopy studies revealed the distinct accumulation of silsesquioxanes in the multiple nucleoli of HeLa cells and also, to a lower extent, throughout the nucleoplasm and cytoplasm. Due to their small size, the transit of COSS derivatives (700–800 pm) through the nuclear pore complex with an internal diameter of about 30 to 50 nm might be achieved by passive diffusion. The observed accumulation in the nucleoli could be

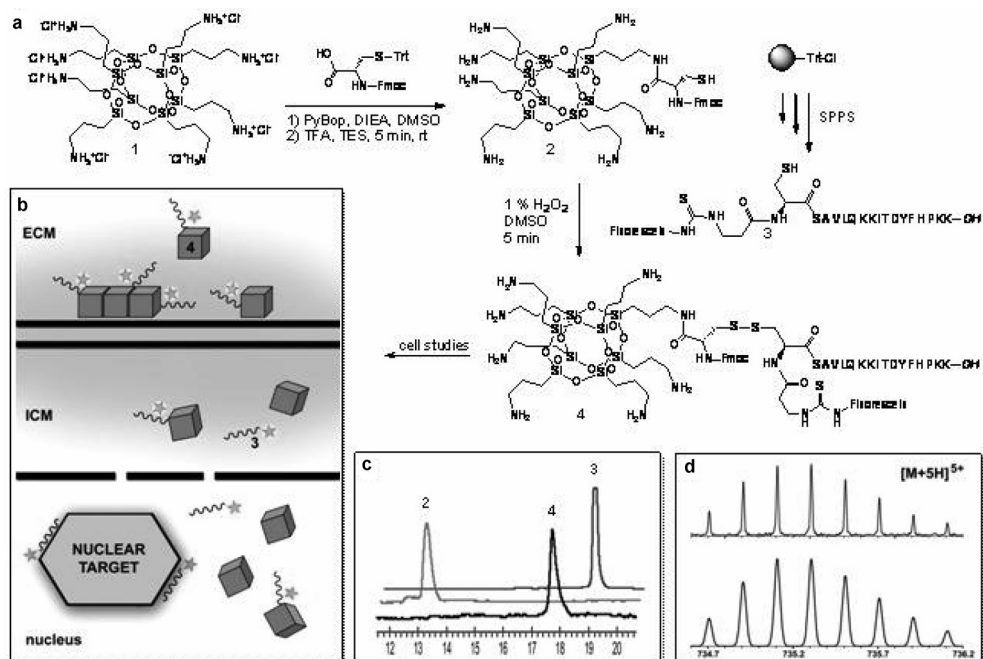


Fig. 1. Synthesis of a biodegradable COSS-peptide conjugate 4. The sequence of a p21^{Cip1/Waf1}-based peptide cargo is shown using a one-letter code; SPPS – solid phase peptide synthesis (a); Studies in HeLa cells using 4 are depicted as cartoon. 4 was applied to the extracellular medium (ECM) and penetrated the cell outer membrane. In the intracellular medium (ICM) the nanoparticle was accumulated in the nucleoli allowing for the targeting of the nucleus abundant protein PCNA (b); HPLC traces (220 nm, 25 % → 50 % aq. CH₃CN in 20 min) recorded upon the synthesis of 4 (c); High-resolution mass spectrometric isotopic pattern; calc. for 4 C₁₅₈H₂₄₆N₃₅O₄₅S₃Si₈ (5 +): 734.7065, meas. 734.7077 (d)

enhanced *via* electrostatic interactions of positively charged SNPs and phosphate-rich RNA.

After having confirmed intracellular and nuclear accumulation of COSS, the p21-derived peptide was covalently attached to a single-corner cysteine-modified octaamino COSS through a reversible disulfide bond (Fig. 1). Being sensitive to reducing conditions inside living cells, the disulfide bond is well known to dissociate after cell penetration thereby releasing the attached cargo molecule from the carrier. An additional fluorescein moiety was introduced into this hybrid construct allowing for live-cell confocal microscopy studies (Fig. 2).

Release of a peptide from a disulfide-bound cell-penetrating peptide carrier in the reducing milieu of a cell is a process that occurs relatively fast. This is corroborated by our finding that the fluorescently labeled nanoparticle 5 is predominantly found in the nucleus while the COSS-bound labeled peptide 3 is also detected in the cytoplasm 30 min after incubation, which indicates a release from the carrier. Hence, it is most likely the liberated peptide 3 that interacts with PCNA rather than the COSS-peptide complex 4.

In conclusion, a COSS derivative was synthesized which comprised a siloxane core with seven pendant aminopropyl groups and a peptidic ligand attached to one cage

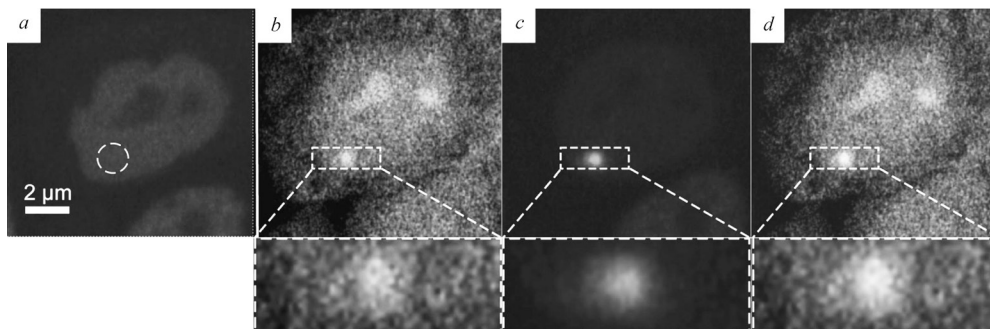


Fig. 2. Micro-irradiation at the circle position (1.2 sec) of a HeLa cell using a 405 nm laser (a); Co-localization of 3 and PCNA after cell incubation with 4 for 30 minutes at 37 °C. PCNA is recruited to repair micro-irradiated damaged DNA (b–d); Fluorescence signal of 3 (green) (b); Fluorescence signal of red fluorescent protein labeled PCNA (c); d – Overlay of b and c

corner through a reversible disulfide bond. This architecture allowed for the penetration of human cells and peptide accumulation in the cell nucleus. Nuclear drug targeting was demonstrated in HeLa cells using a fluorescently labeled p21^{Cip1/Waf1}-derived peptide as a COSS cargo, which selectively bound PCNA, a protein involved in DNA replication and repair. In perspective, it might be interesting to study the octaamino COSS uptake mechanism in further detail by AFM and fluorescence microscopy studies on artificial lipid membranes and cells. Finally, it remains to be elucidated whether silsesquioxane-based cargo delivery allows for the targeting of other proteins both in the nucleus and cytoplasm.

References

1. Ariga K., Ji Q. M., McShane M. J. *et al.* // Chem. Mat. 2012. Vol. 24. P. 728–737.
2. Fabritz S., Heyl D., Bagutski V. *et al.* // Org. Biomol. Chem. 2010. Vol. 8. P. 2212–2218.
3. Fabritz S., Hörner S., Avrutina O. *et al.* // Org. Biomol. Chem. 2013. Vol. 11. P. 2224–2236.
4. Hörner S., Fabritz S., Herce H. D. *et al.* // Org. Biomol. Chem. 2013. Vol. 11. P. 2258–2265.
5. Mahmood M., Casciano D., Xu Y. *et al.* // J. Appl. Toxicol. 2011. Vol. 32. P. 10–19.

И. Э. АДЗЕРИХО¹, Т. Э. ВЛАДИМИРСКАЯ¹, И. Л. ЛУТИК¹,
Е. И. ДУБАТОВКА², Г. К. ЖАВНЕРКО²

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ СТРЕПТОКИНАЗЫ ПРИ ОСТРОМ ВЕНОЗНОМ ТРОМБОЗЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

²Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Проблема венозных тромбозов сосудов нижних конечностей продолжает оставаться одним из наиболее важных аспектов современной медицины, а вопросы их развития, профилактики и лечения, на протяжении полутора веков привлекаю-

щие внимание исследователей, все еще не решены и дискуссионны во многих аспектах.

Тромбоз глубоких вен (ТГВ) конечностей в настоящее время представляет собой один из основных источников венозных тромбоэмболических осложнений, которые варьируют от опасной для жизни тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) до снижающей качество жизни посттромботической болезни. Такие осложнения заболевания, как посттромбофлебитическая болезнь и возникающая в результате хроническая венозная недостаточность, приводят к значительным материальным затратам на лечение пациентов [1].

Наиболее важной стратегией лечения как острых, так и хронических тромбозов в настоящее время является восстановление кровотока по магистральным сосудам, предупреждение развития опасных для жизни и нормальной жизнедеятельности осложнений. В этом плане одной из главных проблем является удаление тромба из просвета сосуда. Для решения этой задачи используются консервативные (медикаментозные), хирургические и эндоваскулярные методы лечения.

Медикаментозный тромболизис на сегодняшний день является наиболее распространенным методом реканализации. Метод основан на растворении тромба с помощью ферментативных тромболитических препаратов. Раньше других в практике тромборазрушения стал использоваться препарат стрептокиназы (СТК).

Несмотря на высокую эффективность в тромборазрушении, тромболитическая терапия имеет ряд ограничений: высокая частота развития рестенозов; узкий временной интервал эффективного проведения тромболитической терапии; низкая скорость тромболизиса (максимальный эффект наблюдается через 45 мин); наличие противопоказаний для проведения тромболитической терапии стрептокиназой (желудочно-кишечные кровотечения в анамнезе, перенесенный геморрагический инсульт, диагностированная опухоль мозга; стойкое повышение САД более 200 мм рт. ст. или ДАД более 100 мм рт. ст. и т. д.), жизнеопасные кровотечения, прежде всего инсульт (от 3,9 до 60 %), реже – случаи почечной недостаточности (4–9 %), дистальные эмболии (1,9–16 %).

Учитывая вышеизложенное, актуальной является разработка новых методов лечения тромбоза, использование которых позволило бы преодолеть недостатки ныне существующих.

В последние годы во всем мире проводятся интенсивные исследования по разработке систем локальной доставки (Drug Delivery Systems, DDSs) тромболитиков к месту тромбоза [2]. Применение нанотехнологических подходов создания DDS заключается в создании биосовместимых микро- и наноразмерных частиц для обеспечения целенаправленного поступления лекарственных веществ исключительно в определенные органы и ткани, что повысит эффективность лечения и минимизирует побочные эффекты. Одними из носителей тромболитических препаратов были предложены липосомальные формы стрептокиназы [3].

Вместе с тем, несмотря на достаточное количество работ, тромболитическая эффективность липосомальных форм сегодня изучена недостаточно тщательно. При ознакомлении с доступной нам научной литературой найдено всего несколько литературных источников. Одна из работ [4] посвящена изучению *in vitro* лизиса тромба липосомальной формой тканевого активатора плазминогена (ТАП).

Для оценки активности ТАП авторы изучали концентрацию и распределение препарата до 30 мин и через 1, 2, 4, 6, 9 ч на образцах крови из бедренной артерии. Для исследования выхода препарата рассматривался временной интервал 24 ч. Показано, что выход *in vitro* ТАП, находящегося в составе липосом, протекает в течение 24 ч. Первичный выход ТАП из частиц составил 55 % в течение 0,5 ч, затем наблюдалось непрерывное высвобождение препарата до 24 ч.

Целью нашего исследования явилось изучение тромболитического действия липосомальных форм стрептокиназы в сравнении со свободной формой препарата на модели острого венозного тромбоза у крыс.

Материалы и методы. Для получения липосом смесь яичного фосфохолина (Sigma) и холестерина (Acros Organics) в молярном соотношении 2 : 1 растворяли в небольшом объеме хлороформа при нагревании, а затем выпаривали растворитель до получения однородной пленки. Затем добавляли бидистиллированную воду, содержащую 40 ммоль/л глюкозы, до концентрации липидов 5 мг/мл и подвергали ультразвуковому воздействию в течение 1–2 мин. Полученную суспензию лиофилизировали, после чего добавляли раствор стрептокиназы (РУП «Белмедпрепараты») из расчета 22,5 тыс. ЕД/мг липосом, проводили три цикла замораживания-оттаивания и снова лиофилизировали. При этом степень включения белка в липосомы составила ~75 %.

Эксперименты были поставлены на 34 беспородных самцах крыс массой 320–350 г. Моделирование тромба проводили путем введения в яремную вену на участке длиной 1 см, ограниченном лигатурами, 0,1 мл раствора тромбина с дополнительным пережатием сосудистой стенки корнцангом в течение 5–10 с. Общее время формирования тромба составило 30 мин. Все животные были разделены на три группы. Первым двум группам в хвостовую вену вводили препарат стрептокиназы в течение 1 мин: 1-я группа – липосомальная форма ($n = 14$); 2-я группа – свободная форма ($n = 14$). Для достижения независимого от видовой специфичности животных соответствующего эффекта воздействия СТК на тромб вводился человеческий плазминоген в дозе 3,3 мг/кг. В контрольной группе ($n = 6$) введение препаратов не проводили. Дозу стрептокиназы вводили из расчета 150 тыс. ЕД/кг. Время наблюдения после формирования тромба составило 2 ч и 24 ч. После выведения животных из эксперимента путем внутривенного введения этанола натрия фрагменты участка вены зоны формирования тромба иссекали и готовили из них микропрепараты, которые окрашивались гематоксилином и эозином. Морфометрический анализ гистологических препаратов проводился при помощи программно-аппаратного комплекса Leica-Qwin. Измерения проводили на увеличении 50 всему периметру каждого препарата. Определяли площадь тромба (S_1), площадь просвета сосуда (S_2), степень тромболитического действия рассчитывали по отношению площади тромба к площади просвета (S_1/S_2). Результаты исследований обрабатывали с помощью программного обеспечения STATISTICA 6.0 (Version 6-Index, StatSoft Inc., США). Уровень доверительной вероятности $p < 0,05$ рассматривали как статистически значимый.

Результаты. У животных всех групп наблюдался тромбоз с формированием обтурирующего или субобтурирующего красного (эритроцитарного) тромба (рис. 1). Через 2 ч после введения липосомальной формы стрептокиназы степень тромбо-

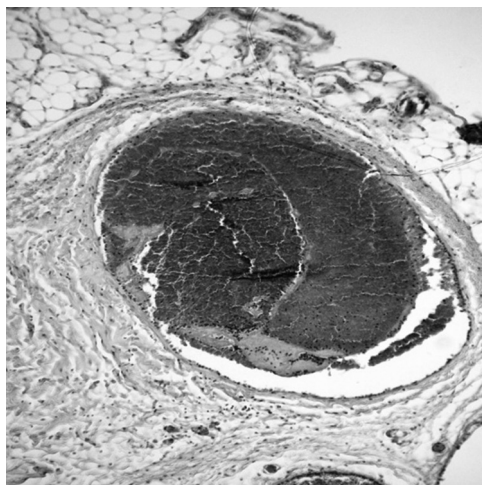


Рис. 1. Тромбоз с формированием обтурирующего или субобтурирующего красного (эритроцитарного) тромба

блюдали полную реокклюзию. В течение всего времени наблюдения в группе контроля не отмечались признаки лизиса красного тромба.

Результаты эксперимента показывают, что липосомальная форма стрептокиназы вызывает лизис красного тромба, который наблюдался через 2 ч и 24 ч после введения препарата в хвостовую вену. В краткосрочном периоде (2 ч) достоверных различий в тромболитическом действии липосомальной и свободной форм препарата не отмечалось ($83,4 \pm 6,3$ и $90,2 \pm 5,8$ % соответственно, $p > 0,05$). Через 24 ч наблюдения (долгосрочный период) действие препарата сохранялось, о чем свидетельствует статистически незначимая динамика тромболизиса (уменьшение с $83,4 \pm 6,3$ до $81,8 \pm 5,2$ %, $p > 0,05$). При этом отмечено превышение долгосрочной эффективности липосомальной формы стрептокиназы по сравнению с обычной (свободной) формой препарата ($81,8 \pm 5,2$ и $41,2 \pm 6,1$ % соответственно, $p < 0,05$). Длительный тромболитический эффект липосомальной формы можно объяснить наличием свободной СТК, которая активирует плазминоген и способствует первичному разрушению сгустка, а также постепенным непрерывным высвобождением препарата из липосом в течение 24 ч, способствующим поддержанию стабильной концентрации стрептокиназы в крови.

Таким образом, использование в нашем случае липосомальной формы стрептокиназы показало сопоставимую динамику высвобождения СТК и ТАП

лизиса составила $83,4 \pm 6,3$ %, что сопоставимо со свободной формой препарата ($90,2 \pm 5,8$ %, $p > 0,05$). При морфологическом исследовании вены установлено освобождение просвета вены от тромботических масс, при этом мелкие фрагменты тромба, лишенные нитей фибрина, располагались свободно вдоль сосудистой стенки (рис. 2). Через 24 ч после введения липосомальной формы стрептокиназы достоверных различий в степени тромболизиса по сравнению с 2 ч не наблюдалось ($81,8 \pm 5,2$ %, $p > 0,05$). При введении свободной формы СТК, напротив, отмечено уменьшение площади свободного просвета сосуда наполовину, степень тромболизиса составила $41,2 \pm 6,1$ % ($p < 0,05$). Кроме того, у одной (14,2 %) крысы через 24 ч на-



Рис. 2. Освобождение просвета вены от тромботических масс

в краткосрочном периоде. Высвобождение стрептокиназы из липосом через 2 ч составило 77–90 %, что привело к почти полному разрушению тромботической массы и реканализации просвета сосуда. Первичный выход тканевого активатора плазминогена из липосом составил 55 % в течение 30 мин, затем наблюдалось непрерывное (до 24 ч) высвобождение препарата 61–100 % [3]. В нашем случае наблюдалось практически полное разрушение тромботической массы и реканализация просвета сосуда с сохранением эффекта препарата через 24 ч (77–87 %).

При изучении действия липосомальной формы стрептокиназы нас интересовали морфологические результаты. Временные интервалы 2 ч и 24 ч позволили оценить первоначальную краткосрочную и долгосрочную эффективность препарата. В дальнейшем предполагается изучить фармакокинетику липосомальной формы стрептокиназы в эксперименте на образцах артериальной и венозной крови крыс и собак.

Выводы. Введение липосомальной формы стрептокиназы в дозе 150 тыс. ЕД/кг и человеческого плазминогена в дозе 3,3 мг/кг в хвостовую вену крыс приводит к почти полному разрушению тромботической массы с реканализацией просвета сосуда в краткосрочном периоде (2 ч). Отмечена долгосрочная эффективность (до 24 ч наблюдения) липосомальной формы стрептокиназы по сравнению с обычной (свободной) формой лекарственного вещества.

Литература

1. *Stratton M. A., Anderson F. A., Bussey H. I. et al.* Prevention of venous thromboembolism: Adherence to the 1995 American College of Chest Physicians consensus guidelines for surgical patients // *Arch. Intern. Med.* 2000. Vol. 160. P. 334–340.
2. *Huang M., Vitharana S. N., Peek L. J. et al.* Polyelectrolyte Complexes Stabilize and Controllably Release Vascular Endothelial Growth Factor // *Biomacromolecules.* 2007. Vol. 8, N 5. P. 1607–1614.
3. *Holt B., Sen Gupta A.* Streptokinase loading in liposomes for vascular targeted nanomedicine application efficiency and effects of processing // *J. of Biomat. App.* 2010. Vol. 2. P. 1–16.
4. *Kim J.-Y., Kim J.-K. et al.* The use of PEGylated liposomes to prolong circulation lifetimes of tissue plasminogen activator // *Biomaterials.* 2009. Vol. 30. P. 5751–5756.

*О. А. АЗЕВ¹, О. Ф. КАРДАШ², С. В. ПИНЧУК³, В. Г. КРУТОВ²,
И. Б. ВАСИЛЕВИЧ³, М. В. ВОЛК³, Е. С. ЛОБАНОК³, Г. Ю. КАРДАШ⁴,
О. Г. ТИХОНОВИЧ¹, И. Д. ВОЛОТОВСКИЙ³*

ВОЗМОЖНОСТИ ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИИ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ КАРДИОМИОПЛАСТИКИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²РНПЦ «Кардиология», Минск, Беларусь

³Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

⁴Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

Достигнутый за последние несколько лет прогресс отражается в активном внедрении в клиническую практику методов клеточной терапии. Терапия стволовыми клетками стимулирует процессы неоангиогенеза и дифференцировки как собственных «тканевых депо» стволовых клеток, так и введенных извне стволовых клеток в полноценные кардиомиоциты. Подобные процедуры позволяют улучшить перфузию миокарда, степень локальной и глобальной сократимости, препятствуют ремоделированию миокарда и процессам апоптоза клеток. Такой вид терапии получил название «клеточная кардиомиопластика» [1]. В клеточной кардиомиопластике используются различные виды малодифференцированных мультипотентных клеток для терапии сердечно-сосудистых заболеваний, преимущественно ишемической болезни сердца, дилатационной кардиомиопатии и хронической сердечной недостаточности.

Стволовые клетки представляют собой популяцию незрелых (недифференцированных) клеток, способных к долгосрочному самовоспроизведению (самообновлению) и дифференцировке в любой тканевой тип взрослого организма [1]. Существует понятие о примитивных стволовых клетках – эмбриональных, фетальных стволовых клетках и стволовых клетках пуповинной крови [2]. Во взрослом организме выделяют постнатальные, или «взрослые», стволовые клетки, которые локализуются в различных органах, таких как костный мозг (мезенхимальные/стромальные стволовые клетки – МСК, эндотелиальные прогениторные клетки и гемопоэтические стволовые клетки), жировая ткань и другие ткани и органы. В каждом органе и виде ткани существует свое собственное депо тканевых стволовых клеток (клеток-предшественниц), которое активируется для дифференцировки при повреждении органа под действием определенных биологически активных веществ. В сердечной мышце такие клетки называются мышечными «клетками-сателлитами», однако известно, что способность к взаимной трансформации и скорость превращения в органоспецифические клетки у данного пула очень низкие в связи с малочисленностью популяции в ткани и их гетерогенностью [3].

Из различных видов клеток наиболее перспективны трансплантация аутологичных МСК костного мозга и жировой ткани, где их содержание относительно велико. Применение этих клеток не имеет этических, юридических и организационных ограничений в заборе донорских клеток, а также устраняет необходимость

иммуносупрессивной терапии, которая обычно требуется после трансплантации эмбриональных и фетальных клеток.

В клеточной кардиомиопластике в настоящее время существует неопределенность в отношении эффективности использования МСК при лечении поврежденных миокарда. Остаются нерешенными большое количество вопросов. Какие виды клеток являются наиболее эффективными в отношении максимальной регенерации миокарда? Какое количество процедур и в какие сроки должны быть выполнены для достижения максимального лечебного эффекта? Какое количество клеток необходимо вводить? Какие методы контроля являются адекватными для оценки эффективности клеточной кардиомиопластики? На основании каких критериев можно сделать вывод о том, что введенные в область поврежденного миокарда стволовые клетки трансформировались именно в кардиомиоциты, а не в клетки соединительной ткани или в клетки эндотелия? Одним из актуальнейших вопросов является также изучение отдаленных результатов и последствий такой терапии [1].

Цель исследования: оценить возможности электрокардиографии в оценке эффективности клеточной кардиомиопластики в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на лабораторных крысах-самках ($n = 76$, $m = 180-220$ г). Вскрытие грудной клетки проводилось под нембутал-уретановым наркозом (30 и 500 мг/мл соответственно) в дозе 0,2 мл/100 г массы крысы. При регистрации электрокардиограммы (ЭКГ) применяли вдвое меньшую дозу.

Животные были разделены на две группы: основная группа (ОГ) – крысы с экспериментальным инфарктом миокарда (ЭИМ), индуцированным интрамиокардиальным введением этилового спирта (70 % в дозе 10 мкл), и внутривенным введением МСК – недифференцированных ($n = 14$), дифференцированных 5-азациитидином ($n = 12$) и кардиомиоцитов ($n = 9$); контрольная группа (КГ) крыс с ЭИМ, индуцированным интрамиокардиальным введением этилового спирта, и внутривенным введением физиологического раствора (ФР) ($n = 12$).

Для оценки состояния миокарда выполняли запись ЭКГ в I, II и III стандартных отведениях исходно, на 7-е и 37-е сутки после моделирования ЭИМ с помощью аппаратно-программного комплекса для электрофизиологических исследований, разработанного и сконструированного в ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси». Оценивались амплитуда зубцов Q, R, сегмента ST и длительность интервала RR, комплекса QRS. Данные вводили в компьютер через 12-разрядный аналогово-цифровой преобразователь (ADC-100k/12-8, «Спецприбор», Минск), записывали и обрабатывали с помощью программы InputWin.

Стволовые мезенхимальные клетки выделяли из жировой ткани крыс по методике Р. А. Zuk и соавт. [6]. Фенотипически финальная культура содержала 96–97 % CD44⁺ и CD109⁺ клеток и 1–2 % CD45⁺ клеток. Дифференцировка МСК в кардиомиоцитарном направлении осуществлялась с использованием 5-азациитидина по методике S. Makino и соавт. [7].

Статистический анализ был проведен с применением общепринятых методов математической статистики. Достоверность изменений и различий определялась путем расчета *t*-критерия Стьюдента, методом Фишера. Критический уровень

значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Статистическая обработка материала проводилась с использованием программы Excel 7.0. Данные в тексте представлены в виде: среднее значение \pm средняя ошибка.

Результаты. Гибель животных на этапе введения в наркоз составила 10,5 % ($n = 8$), интраоперационная летальность – 19,7 % ($n = 15$). В раннем (7 сут.) послеоперационном периоде зарегистрировано 3 (3,9 %) случая смерти. При введении дифференцированных 5-азациитидином МСК наблюдалась гибель 3 (3,9 %) крыс. В позднем периоде летальных исходов не наблюдалось. Таким образом, общая смертность составила 38,1 % ($n = 29$).

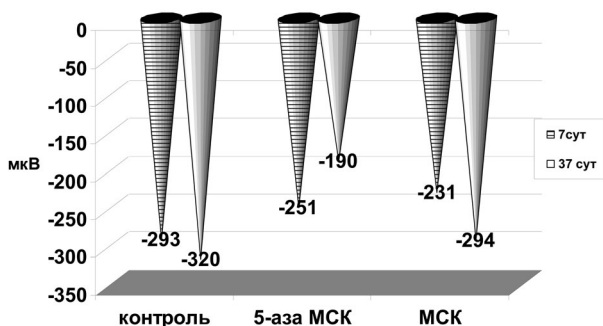
Формирование сердечной недостаточности в виде снижения активности животных при передвижении по клетке наблюдалось через 7 сут. после ЭИМ у животных обеих групп.

Данные ЭКГ на 7-е сутки эксперимента подтверждали наличие крупноочагового инфаркта миокарда у 96 % ($n = 48$) прооперированных животных.

При этом регистрировался циркулярный ($n = 6$), передний ($n = 17$), боковой ($n = 12$) и задний ($n = 13$) ЭИМ. Амплитуда Q-зубца увеличилась в среднем на 128,9 мкВ ($p < 0,001$) по сравнению с исходными данными. Снижение R-зубца на 286,2 мкВ ($p < 0,01$) без изменения амплитуды Q-зубца происходило у 9 крыс. Частота сердечных сокращений на 7-е сутки ЭИМ достоверно не изменилась.

Эволюция ЭИМ в КГ привела к достоверным изменениям ЭКГ на 37-е сутки по сравнению с данными на 7-е сутки: увеличилась амплитуда зубца R в I отведении на $146,7 \pm 78,6$ мкВ ($p < 0,01$). Уменьшение амплитуды зубца Q в III отведении на $110,3 \pm 74,2$ мкВ ($p < 0,01$) отражало, по всей видимости, реципрокные изменения, так как преимущественное поражение миокарда у крыс контрольной группы наблюдалось в передней стенке левого желудочка.

Введение МСК в острую стадию ЭИМ приводило не только к достоверному ($p < 0,05$) увеличению амплитуды зубца R, но и уменьшению рубцовой зоны инфаркта миокарда. У 16 из 21 животного в основных группах наблюдалось снижение амплитуды зубца Q в соответствующей зоне ЭИМ ($p < 0,05$). Амплитуда зубца Q во II стандартном отведении на 30-е сутки после клеточной кардиомиопластики с помощью МСК, обработанных 5-азациитидином, была достоверно ($p < 0,001$) меньше в сравнении с КГ (рисунок).



Динамика зубца Q ЭКГ на 7-е и 37-е сутки в спиртовой модели ЭИМ после внутривенного введения недифференцированных МСК (МСК), МСК, обработанных 5-азациитидином (5-аза МСК), или физиологического раствора (контроль)

Отличий между животными контрольной группы и крысами, которым вводили недифференцированные МСК, по данным ЭКГ получено не было в связи с разнородной зоной поражения у данной группы животных.

Выводы

1. Внутривенное введение мезенхимальных стволовых клеток крысам через 7 сут. после моделирования инфаркта миокарда сопровождается уменьшением рубцовой зоны инфаркта миокарда и нормализацией амплитуды зубца R.

2. Внутривенное введение дифференцированных в миокардиальном направлении мезенхимальных стволовых клеток на 7-е сутки после моделирования инфаркта миокарда сопровождается снижением амплитуды зубца Q через 30 сут. после клеточной кардиомиопластики.

3. Нормализация комплекса QRST после клеточной кардиомиопластики развивается более эффективно при внутривенном введении дифференцированных в миокардиальном направлении мезенхимальных стволовых клеток.

Литература

1. Беленков Ю. Н., Привалова Е. В., Чекнева И. С. // *Kardiol.* 2008. N 5. С. 4–18.
2. Гривенников И. А., Шкуматов А. А. // *Проблемы репродукции.* 2002. № 3. С. 25–49.
3. Bhatia R., Hare J. M. // *Congest Heart Fail.* 2005. Vol. 11, N. 2. P. 87–91.
4. Zuk P. A., Zhu M., Ashjian P. // *Molecular Biology of the Cell.* 2002. Vol. 13. P. 4279–4295.
5. Makino S., Fukuda K., Miyoshi S. et al. // *J Clin Invest.* 1999. Vol. 103, N 5. P. 697–705.

З. А. АЛЕКСАНИЯ¹, С. П. РОМАНОВ²

НЕИНВАЗИВНЫЙ МОНИТОРИНГ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В НОРМЕ И ЦЕНТРАЛЬНЫХ ПАТОЛОГИЯХ ДВИЖЕНИЙ

¹*Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия*

²*Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

Решение фундаментальных проблем раскрытия основных механизмов функциональной организации ЦНС и понимание принципов управления движениями в норме и при патологических состояниях невозможны без анализа нисходящей интегративной активности центральных структур головного мозга к мотонейронам и мышцам. Основные принципы формирования интегративной активности ЦНС установлены на рубеже XIX–XX вв. Ч. С. Шеррингтоном в его представлениях о рефлексе как элементарной деятельности ЦНС и общем конечном пути, или «воронке», названной его именем. В середине XX в. Н. А. Бернштейн, исследуя биомеханику трудовых и спортивных движений, установил необходимые для построения движений принципы организации системы управления движениями:

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
<i>Akulich N. V., Efremov M. A., Marochkov A. V., Kuleshova A. A., Tsypluhina I. A., Besedin K. V. Dynamic change of T-lymphocytes in laparoscopic cholecystectomy patients with hyperoxia and/or phytohemagglutinin application</i>	4
AVRUTINA O. Cube-octameric silsesquioxanes: nanoscaffolds for drug delivery and tumor imaging	8
<i>Адзериho И. Э., Владимирская Т. Э., Лутик И. Л., Дубатовка Е. И., Жавнерко Г. К. Эффективность липосомальных форм стрептокиназы при остром венозном тромбозе в эксперименте</i>	11
<i>Азев О. А., Кардаш О. Ф., Пинчук С. В., Крутов В. Г., Василевич И. Б., Волк М. В., Лобанок Е. С., Кардаш Г. Ю., Тихонович О. Г., Волотовский И. Д. Возможности электрокардиографии в оценке эффективности клеточной кардиомиопластики мезенхимальными стволовыми клетками в эксперименте</i>	16
<i>Алексяня З. А., Романов С. П. Неинвазивный мониторинг функционального состояния нервной системы в норме и центральных патологиях движений</i>	19
<i>Алексееенко С. В., Топорова С. Н., Шкорбатова П. Ю. Отображение зрительного пространства в коре головного мозга и нейронные связи в норме и при нарушении бинокулярного опыта</i>	24
<i>Альбертин С. В. Влияние режима подкрепления на формирование пищевого предпочтения у крыс</i>	28
<i>Альфер И. Ю. Изменения импульсной активности в нервах брюшно-аортального сплетения крысы на фоне внутривенного введения мексибела</i>	32
<i>Андреианов В. М., Анищенко И. В. Выявление связи «структура – биологическая активность» брассиностероидов на основе результатов конформационного анализа и квантово-химических расчетов методом DFT</i>	35
<i>Андреианов В. М., Королевич М. В. Метод и результаты теоретического анализа спектро-структурных корреляций биологически активных молекул класса брассиностероидов</i>	41
<i>Апанель Е. Н., Войцехович Г. Ю., Головки В. А., Мاستыкин А. С. Формализованная структурно-функциональная схема защитных механизмов мозга</i>	45
<i>Арокина Н. К. Температурные границы сохранения дыхательной функции у крыс при гипотермии</i>	47
<i>Артишкевич А. С., Насибянец Н. В., Жухарев Ю. С. Фармакологические эффекты комбинаций лекарственных препаратов у лабораторных животных при моделировании аллергии и воспаления</i>	51
<i>Асимов М. М. Влияние природной среды и солнечной радиации на особенности формирования и функционирования газообмена в организме человека</i>	55

<i>Асимов М. М. Оптическая технология оксигенации биоткани и стимулирование аэробного метаболизма клеток</i>	60
<i>Бакунович А. В., Буланова К. Я., Бокуть С. Б., Лобанок Л. М., Сидоренко В. Н. Особенности влияния AR_4A на H_2O_2-индуцированную агрегацию тромбоцитов беременных женщин с гестозами</i>	65
<i>Баранова Е. В., Донина Ж. А. Реакции дыхательной и сердечно-сосудистой системы на прогрессивное нарастание острого гипоксического состояния</i>	68
<i>Баранова О. В., Пучкова Е. И., Драбкин Б. А., Шубик В. М. Влияние сочетанного действия факторов радиационной и нерадиационной природы на состояние иммунитета и здоровья</i>	72
<i>Белонцовская Е. Б., Нарута Е. Е., Лукивская О. Я., Кузьмицкая И. А., Абакумов В. З., Буко В. У. Превентивное действие сочетанного введения урсодезоксихолевой кислоты и безафибрата при алкогольном поражении печени</i>	75
<i>Беляева Л. Е. Механизмы противовоспалительного действия N-ацетилцистеина</i> ..	79
<i>Беляков А. В., Глуценко Т. С., Семенов Д. Г. Влияние гипобарической гипоксии на экспрессию метаболитных глутаматных рецепторов в гиппокампе</i>	83
<i>Березовский В. А., Заморская Т. М., Янко Р. В., Чака Е. Г., Задорожная А. М. Влияние экзогенного мелатонина на показатели состояния костной ткани у крыс разного возраста</i>	87
<i>Богдан В. Г., Зафранская М. М., Гаин Ю. М. Синтез коллагена мезенхимальными стволовыми клетками из жировой ткани человека <i>in vitro</i> и при аутотрансплантации</i> ...	90
<i>Богдан В. Г., Толстов Д. А., Зафранская М. М., Багатка С. С. Влияние тромбоцитарных концентратов на фибробласты кожи человека</i>	94
<i>Брагина З. Н., Дубровский А. Ч., Сержанина В. Н., Полякова С. М. Современные морфологические методы диагностики меланом</i>	98
<i>Брель Ю. И., Будько Л. А. Влияние фармакологической поддержки на показатели функционального состояния спортсменов</i>	101
<i>Бузов Е. Я., Громов А. И., Корытова Л. И., Рыбина Л. А. Эффективность применения нелинейных звуковых резонансных воздействий для коррекции активности и структурного взаимодействия неспецифических регуляторных образований ЦНС</i> ...	104
<i>Буко И. В., Миронова Е. В., Цапаева Н. Л., Константинова Е. Э., Мойсеенок А. Г. Редокс-потенциал глутатиона, деформируемость эритроцитов и кислородтранспортная функция у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2-го типа</i>	107
<i>Бутвиловский А. В., Кармалькова И. С., Бутвиловский В. Э. Изучение химического состава твердых тканей пораженных кариесом временных зубов после сочетанной обработки фторидом диамминсеребра и йодидами</i>	111
<i>Вайншенкер Ю. И., Ивченко И. М., Коротков А. Д., Мелючева Л. А., Катаева Г. В., Медведев С. В. Маломанифестные инфекции как факторы дополнительного закрепления устойчивого патологического состояния головного мозга у больных в вегетативном состоянии</i>	115
<i>Вайншенкер Ю. И., Коротков А. Д., Котомин И. А., Ивченко И. М., Катаева Г. В., Медведев С. В. Центральные эффекты элиминации спастичности на уровне мышц у больных в вегетативном состоянии</i>	118
<i>Велесницкая Д. В., Пехота Н. Н., Ценкель Н. А. Использование глутатиона для перорального приема в целях увеличения его концентрации в крови крыс</i>	122
<i>Верецако Г. Г., Наумов А. Д., Федосенко О. Л., Стельмах В. С., Сухарева Д. В. Радиочувствительность клеток кроветворной и репродуктивной систем при облучении крыс-самцов на стадии раннего постнатального развития</i>	125

Висмонт А. Ф., Висмонт Ф. И., Глебов А. Н. Об участии L-валина и мочевины крови в изменениях активности L-аргинин-NO системы и формировании сосудистых терморегуляторных реакций при перегревании	129
Висмонт Ф. И., Висмонт А. Ф., Микулич А. Т. Об участии валина крови в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы детоксикации и терморегуляции	133
Войцехович Г. Ю., Головки В. А., Апанель Е. Н., Мастыкин А. С. Методы искусственного интеллекта в прогнозной диагностике транзиторных ишемических атак	137
Войченко Н. В., Спицын А. А., Терех А. С. Эффективность диклофенака натрия в сочетании с ультрафиолетовым облучением при экспериментальном артрите	139
Воловская А. В., Козловская Л. Е. Применение миллиметрового и оптического излучения при лечении компрессионно-ишемических невралгий	142
Воробей А. В., Павич Т. А., Лапина В. А. Конъюгат хлорина E₆ с фолиевой кислотой: синтез, связывание с положительными по фолатному рецептору клетками и фотосенсибилизирующая активность в клетках	145
Воробей П. А., Китаева О. Н., Лисовская О. С., Русецкий А. В., Воробей А. В. Изменения структурно-функциональных характеристик эритроцитов при хранении эритроцитарной массы	148
Воронов П. П., Островский А. А., Самойлик А. А., Мороз В. Л., Шляхтун А. Г., Сидорович Е. А., Шатрова В. О., Заводник И. Б. Исследование детоксицирующих свойств 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина в отношении тетраэтил-4,4-диаминотрифенилметана оксалата у крыс линии Вистар	152
Воронов П. П., Самойлик А. А., Мороз В. Л., Белоновская Е. Б., Лукивская О. Я., Бедин П. Г., Шляхтун А. Г., Нарута Е. Е., Буко В. У. Исследование превентивного противовоспалительного потенциала <i>Phallus impudicus</i> при конканавалин А-индуцированном гепатите у крыс	155
Воцула В. И., Савко Ю. С., Ниткин Д. М. Виды нарушений метаболизма при рентгеннегативном уrolитиазе	159
Гайнутдинов А. Л., Денисов А. А., Пашкевич С. Г., Яфарова Г. Г., Казбанов В. В., Андрианов В. В., Иудин В. С., Юртаева С. В., Стукач Ю. П., Кульчицкий В. А. Исследование содержания монооксида азота методом ЭПР-спектроскопии в гиппокампе, сердце и печени крыс при моделировании ишемического и геморрагического инсульта	163
Глуткин А. В. Особенности кислородного гомеостаза в условиях экспериментального термического ожога у крысят	166
Говор М. М. Влияние L-аргинина, L-глутамина и сукцината на обмен гликогена при различных режимах алкогольной интоксикации	169
Головач М. В. Исследование уровня здоровья школьников Брестского региона	171
Головач М. В. Исследование состояния вегетативной нервной системы и адаптационного потенциала сердечно-сосудистой системы у детей с ограниченными возможностями	175
Гончарук В. В., Вдовиченко В. П., Бронская Г. М., Пралиев К. Д., Жилкибаев О. Т., Снежицкий В. А. Характеристика противоаритмической активности двух новых декагидрохинолиновых производных на хлоридкальциевой модели аритмии в эксперименте	178
Горбачевская А. И. Стриатные проекции ростромедиального тегментального ядра как возможные пути проведения информации в системе базальных ганглиев мозга собаки	182
Горбунова Н. Б., Лемеш Р. Г., Павлють Т. О., Батай Л. Е. Действие лазерного излучения видимого диапазона спектра на болевую чувствительность	186

Горудко И. В., Григорьева Д. В., Соколов А. В., Буко И. В., Панасенко О. М., Черенкевич С. Н. Биохимические маркеры сердечно-сосудистых заболеваний: определение активности миелопероксидазы	191
Гронская Р. И., Полукошко Е. Ф., Тумилович М. К., Никандров В. Н. Влияние стрептокиназы на некоторые показатели функционально-метаболического статуса клеток C_6 и неокортекса крысы на фоне токсической гипергидратации, вызванной ионами марганца	194
Гурков А. С., Лобов Г. И. Динамика кровотока в микрососудах кисти у пациентов с ТХПН после создания артериовенозной фистулы для гемодиализа	198
Гусакова Е. А. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на поведение животных в различные стадии стресс-реакции	202
Гусакова Е. А., Городецкая И. В. Влияние стресса на гистоструктуру печени у крыс с измененным тиреоидным статусом	206
Денисенко В. Л. Первый опыт лазерной реканализации опухоли в комплексном хирургическом лечении стенозирующего колоректального рака	210
Денисов С. Д., Коваленко В. В. Компьютерная анимационная реконструкция структур при эмбриологическом исследовании	214
Dzmitruk V. Dendrimers as carries for antiviral gene therapy	216
Долгая Ю. Ф., Никитина Е. А., Егоров Н. Н., Савватеева-Попова Е. В. Изучение распределения р-кофилина в области нейромышечных контактов в ответ на стресс у мутанта $agn^{ts3} dr. melanogaster$ (модель синдрома Уильямса)	220
Донина Ж. А. Исследование влияния интервальной нормобарической гипоксической тренировки на ортостатическую устойчивость	222
Дорофеева Н. А., Кузьменко М. А., Таланов С. А., Копьяк Б. С., Сагач В. Ф. Влияние различных режимов физической нагрузки на кардиогемодинамику крыс	225
Дорохина Л. В., Орехов С. Д., Емельянчик Ю. М., Балбатун О. А. Отношение студентов различного телосложения к вопросам питания	229
Дорошкевич С. В., Дорошкевич Е. Ю., Жданович В. Н. Роль окситоцина в структурной реорганизации псевдокисты поджелудочной железы после пункционной аспирации ее содержимого	232
Дудкин К. Н., Огородникова Е. А., Чуева И. В. Нейроинформационные основы организации поведения при реабилитации когнитивных дисфункций	235
Евдокимова О. В. Влияние стресса различной этиологии на уровень витаминов-антиоксидантов в крови при изменении тиреоидного статуса организма	239
Евдокимова О. В., Городецкая И. В. Влияние изменения тиреоидного статуса на активность гамма-глутамил- и аминотрансфераз в крови при стрессе	244
Жаворонок И. П., Молчанова А. Ю. Влияние эндоканнабиноидов на глубокую температуру у экспериментальных животных при общей интоксикации химиопрепаратом 5-фторурацилом	248
Жадько Д. Д., Зинчук Вл. В. Физиологические эффекты применения цикловых тепловых воздействий	251
Желдакова Р. А., Апостол Н. А., Евглевская Т. И. Чувствительность микроорганизмов к антимикробным препаратам и создание на их основе новых дезинфицирующих средств	256
Жукова А. А., Будько Л. А. Влияние исходного вегетативного тонуса на показатели физического состояния девушек, занимающихся плаванием	260
Забаровский В. К., Анацкая Л. Н., Свинковская Т. В. Мануальная терапия – метод улучшения корковой сенсомоторной интеграции у пациентов с вертеброгенными цервикоторакальными болевыми синдромами	263

<i>Забаровский В. К., Василевская Л. А., Анацкая Л. Н. Комплексное применение мануальной терапии и кинезиотейпирования для коррекции болевого синдрома и микрогемодинамических нарушений у спортсменов высокой квалификации с вертеброгенными цервикоторакальными болевыми синдромами</i>	268
<i>Завадская В. М., Лабор С. А., Стенуро И. И. Сопряженное окисление катехоламинов и тиамина в пероксидазных реакциях, катализируемых ферри-формами гемоглобина или миоглобина</i>	272
<i>Зажогин А. П., Патапович М. П., Докукина Т. В., Марчук С. А. Исследование метаболизма эссенциальных элементов в организме методами лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии волос</i>	275
<i>Зайцев И. И., Александров Д. А. Ренопротективный эффект ингибитора ангиотензинпревращающего фермента при патологии почек у детей</i>	279
<i>Зайцева О. А., Литвинчук А. В. Радиозащитный эффект экзогенной ДНК на клетки – предшественники гранулоцитов</i>	283
<i>Залуцкий И. В., Лукашевич В. С., Новаковская С. А., Пыж А. Э., Рудниченко Ю. А. Влияние лактоферрина на морфофункциональное состояние органов пищеварения при антибиотик-ассоциированном дисбактериозе</i>	288
<i>Зиматкин С. М. Патогенез алкоголизма: окислительная теория</i>	291
<i>Ильютин А. В., Рубченя И. Н., Гилеп И. Л., Лойко Т. В., Синелев В. А. Функциональное состояние системы кровообращения и устойчивость к гипоксии у конькобежцев в зависимости от полиморфизма гена <i>BDKRB2</i></i>	295
<i>Ильясевич И. А., Заровская А. В., Дулуб О. И., Корчевский С. А. Оценка функционального состояния мозга при патологии кранио-цервикального перехода</i>	300
<i>Кабаева Е. Н. Лечение острых гемартрозов у пациентов с гемофилией с применением методов электрофизиотерапии и криотерапии</i>	304
<i>Кабаева Е. Н. Результаты лечения гематом мягких тканей у больных гемофилией с применением методов электротерапии</i>	306
<i>Калиновская Е. И., Емельянова А. А., Семеник Т. А. Изменения проницаемости сосудов мозга в условиях экспериментальной артериальной гипертензии</i>	308
<i>Калиновская Е. И., Кондрашова С. Б., Павловец Л. В., Благун Е. В., Кохан С. Б. Оценка степени активности прооксидантных и антиоксидантных систем у экспериментальных животных на модели сахарного диабета</i>	312
<i>Кандыбо И. В., Ситник А. А., Юзефович А. И. Исследование механизмов регуляции периферического кровотока и нервно-мышечной системы при околоуставных и внутрисуставных переломах костей нижних конечностей</i>	314
<i>Канунникова Н. П., Башун Н. З., Иванютин В. А., Недорезов В. Л., Старцева Е. В., Мандрик К. А., Сушко Л. И., Юралевиц С. И., Адамович Е. А., Плявго К. А. Особенности поведенческих реакций и биохимических проявлений окислительного стресса в экспериментальной модели физического истощения</i>	318
<i>Кирвель П. Ч., Лукивская О. Я., Нарута Е. Е., Буко В. У. Гепатопротекторный и противовоспалительный эффекты монотерапии и комбинационной терапии ремикейдом при экспериментальном алкогольном стеатогепатите</i>	321
<i>Кирко С. Н., Пиержиновский С., Гружич Д., Буко В. У. Эффективность экзогенной липазы из гриба <i>Rhizopus oryzae</i> в абсорбции арахидоновой и докозогексеновой кислот</i> ..	324
<i>Клюева Н. З., Зюбо Т. И., Руденко Е. Д., Плеханов А. Ю. Повышение уровня NAP-22 мажорного субстрата протеникиназы С в почках крыс со спонтанной гипертензией при повышенном потреблении NaCl</i>	328
<i>Коваленко Н. А., Супиченко Г. Н., Леонтьев В. Н., Стасевич О. В. Влияние условий получения на спектральные характеристики экстрактов травы зверобоя</i>	332

<i>Козлов А. Е., Наумов А. Д. Внутриклеточный кальций и эндогенная продукция активных форм кислорода: неспецифические реакции клеток на воздействие стрессоров</i>	334
<i>Козлова Н. М., Касько Л. П., Петрович В. А., Гармаза Ю. М., Слобожанина Е. И. Антиоксидантная активность плазмы крови при патологии беременности</i>	339
<i>Козловская С. П., Жаврид Э. А., Антоненкова Н. Н. Определение микрометастазов в костном мозге при операбельном раке молочной железы</i>	343
<i>Козловский В. И., Зинчук В. В., Хлопицкий С. Сравнение роли простаглицлина в механизме коронарной вазодилатации, вызванной ацетилхолином и брадикинином</i> ..	346
<i>Козмидиади А. О., Харламова А. Н. Амплитудные и частотные характеристики бета-активности ЭЭГ, полученные методом цифровой фильтрации, при эпилепсии</i> ..	350
<i>Козмидиади А. О., Харламова А. Н., Дубовик Е. Н. Пространственно-частотная организация показателей бета-активности ЭЭГ здорового человека в состоянии пассивного бодрствования, полученных методом цифровой фильтрации</i>	354
<i>Кондрашова С. Б., Лукашенко Т. М., Солтанов В. В. Особенности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в ткани двенадцатиперстной кишки и крови крысы при экспериментальном колите</i>	360
<i>Королев П. М., Ясюк А. А. Влияние фактора осведомленности об индивидуальной биоритмологической ситуации на результаты сдачи экзаменов</i>	364
<i>Королик Е. В., Короленко Е. А., Голубович В. П., Федоров А. А., Макаревич Д. А., Королик А. К., Кирковский В. В. Применение метода флуоресцентного зондирования для оценки делигандизирующей возможности биоспецифических сорбентов, предназначенных для удаления липопротеинов низкой и очень низкой плотности из плазмы крови пациентов с дислипидемией</i>	366
<i>Кошелев В. Б., Гаврилова С. А., Фадюкова О. Е., Морозова М. П., Кулага Е. А., Андреева Л. А., Мясоедов Н. Ф. Нейропротекторные свойства пептидов семейства меланокортинов</i>	371
<i>Краснобаев В. А. Поперечнополосатая мышечная ткань простаты человека в постнатальном онтогенезе</i>	374
<i>Криворот С. Г., Швед И. А., Владимирская Т. Э., Корда А. В. Морфологические изменения и апоптоз клеток аорты кроликов в различные сроки экспериментальной дислипидемии</i>	376
<i>Кругленя В. А., Шилович Л. Л., Рожкова Е. Н. Сравнительная характеристика функционального состояния спортсменов и сотрудников МЧС</i>	380
<i>Круглик О. В., Пахомова В. Г., Шадрин К. В., Рупенко А. П., Моргулис И. И. Влияние электромагнитного излучения СВЧ-диапазона на функциональную активность изолированной перфузируемой печени крыс</i>	385
<i>Кузенков В. С., Крушинский А. Л. Длительное влияние нитрата натрия на развитие неврологических нарушений и смертность крыс при экспериментальной ишемии мозга</i>	388
<i>Кузнецов В. И., Солкин А. А., Белявский Н. Н. Нейрофизиологические механизмы терапевтического воздействия интервальной нормобарической гипокситерапии у пациентов с ишемическим инсультом и транзиторными ишемическими атаками</i>	391
<i>Куклова Е. Н., Морозова И. Л., Улащик В. С. Влияние фотоманнитотерапии на болевую чувствительность экспериментальных животных</i>	395
<i>Кучук Э. Н., Шуст Л. Г., Шуст О. Г. Особенности изменения температуры тела на действие высокой внешней температуры и бактериального эндотоксина у гипер- и гипотиреоидных крыс</i>	398

<i>Лазуко С. С., Солодков А. П. Вклад индуцированной NO-синтазы в эндотелий-зависимую регуляцию тонуса артериальных сосудов и α_1-адренореактивность при гипергликемии</i>	402
<i>Линник А. И., Волокитин Е. О., Калюнов В. Н. Популяционный анализ репродуктивного потенциала мужского населения г. Минска (Беларусь) и его детерминант</i> .	406
<i>Лобов Г. И., Панькова М. Н. Транспорт лимфы: фундаментальные данные и их возможное применение в клинике</i>	410
<i>Лопатина Н. Г., Чалисова Н. И., Зачепило Т. Г., Камышев Н. Г. О сигнальной роли аминокислот: участие в формировании процессов памяти у медоносной пчелы</i>	414
<i>Лукашевич В. С., Рудниченко Ю. А. Влияние лактоферрина на некоторые биохимические показатели в сыворотке крови крыс в условиях антибиотик-ассоциированного дисбактериоза</i>	419
<i>Лукашевич В. С., Рудниченко Ю. А., Гронская Р. И. Влияние ионов марганца на активность компонентов экстраклеточного протеолиза в условиях токсической гипергидратации клеток глиомы С6</i>	423
<i>Луцкая И. К., Новак Н. В. Физиология зрительного восприятия цвета в эстетической стоматологии</i>	427
<i>Луцкая И. К., Новак Н. В., Чухрай И. Г. Значение общей теории систем для физиологии человека</i>	430
<i>Манак Т. Н., Наварич Т. А. Микрорентгеноспектральный анализ различных групп пломбирочных материалов для корневых каналов</i>	434
<i>Манак Т. Н., Девятникова В. Г. Оценка предела упругости и пластической деформации Ni-Ti эндодонтических инструментов</i>	438
<i>Манина Е. Ю., Кузнецова Т. Е., Рыжковская Е. Л., Воронкова Е. В., Ермишин А. П., Картель Н. А. Влияние диеты, содержащей трансгенный картофель, устойчивый к колорадскому жуку, на эмбриональное развитие мышей</i>	440

Научное издание

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ НАУКИ – МЕДИЦИНЕ

*Материалы Международной научной конференции
(Минск, 17 мая 2013 г.)*

В двух частях

Часть 1

Редакторы *А. А. Баранова, И. А. Старостина*
Художественный редактор *И. Т. Мохнач*
Технический редактор *М. В. Савицкая*
Компьютерная верстка *Н. И. Кащуба*

Подписано в печать 03.05.2013. Формат 70×100¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 36,73. Уч.-изд. л. 30,0. Тираж 150 экз. Заказ 98.

Издатель и полиграфическое исполнение:
Республиканское унитарное предприятие
«Издательский дом «Беларуская навука». ЛИ № 02330/0494405 от 27.03.2009.
Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск.