



ISSN 1818-9830

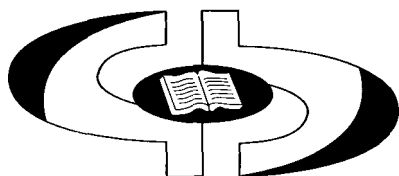
ВЕСТНИК 4/2021

**ФОНДА
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ**



Научно-теоретический и информационно-методический журнал
Белорусского республиканского фонда
фундаментальных исследований

Издается с III квартала 1997 г.



№ 4 [98], 2021

**ВЕСТНИК
ФОНДА
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ**

Зарегистрирован
в Министерстве информации
Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации
№ 426 от 29.05.2009

Учредители:
Национальная академия
наук Беларуси,
Белорусский
республиканский
фонд
фундаментальных
исследований

220072, г. Минск,
пр. Независимости, 66;
тел. 379-07-42,
357-25-08

Издатель:
РУП «Издательский дом
«Беларуская навука»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор

С. В. Гапоненко

Заместитель главного редактора

Н. А. Ламан

Заместитель главного редактора

А. П. Ласковнев

Ответственный секретарь

Н. Н. Костюкович

Ведущий редактор журнала

Т. П. Петрович

Члены редколлегии:

О. В. Алейникова	В. Ф. Логинов
А. В. Бильдюкевич	А. И. Локотко
А. Н. Витченко	А. А. Махнач
В. В. Гороховик	Н. К. Мышкин
А. Е. Дайнеко	П. Г. Никитенко
В. Г. Жогло	М. Е. Никифоров
О. А. Ивашкевич	В. А. Орлович
В. С. Камышников	О. Г. Пенязьков
А. В. Кильчевский	В. И. Поткин
А. А. Коваленя	А. В. Тузиков
Э. И. Коломиец	Ю. С. Харин
Н. П. Крутько	С. Н. Черенкевич
Ю. А. Курочкин	

Минск, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ФОНДА

Договор о научно-практическом сотрудничестве между Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Брестским областным исполнительным комитетом на проведение совместного тематического конкурса фундаментальных и прикладных научных исследований по проблемам Брестской области «БРФФИ–Брест-2022»	9
Протокол договоренности об объемах финансирования в 2022–2023 гг. проектов совместного тематического конкурса фундаментальных и прикладных научных исследований по проблемам Брестской области «БРФФИ–Брест-2022» на основании Договора о научно-практическом сотрудничестве между Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Брестским областным исполнительным комитетом	11

МЕЖДУНАРОДНЫЕ СВЯЗИ

Соглашение между Российским научным фондом и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований о проведении скоординированных конкурсов на выполнение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований международными научными коллективами	12
--	----

ИТОГИ КОНКУРСОВ

Конкурс совместных проектов фундаментальных исследований Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Комитета по науке Министерства образования, науки, культуры и спорта Республики Армения «БРФФИ–КНАрм-2021» ...	18
Конкурс совместных научных проектов Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Национального фонда естественных наук Китая «БРФФИ–НФЕНК-2022»	22

КОНКУРСЫ БРФФИ: НОРМАТИВНАЯ БАЗА

Условия совместного тематического конкурса фундаментальных и прикладных научных исследований по проблемам Брестской области «БРФФИ–Брест-2022»	27
--	----

НАУЧНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ

Саванец О. Н., Кравченко Е. В., Санько-Счисленок Е. В., Зильберман А. И., Прокопович О. А., Петров П. Т. Изучение влияния модуляции функционального состояния ГАМК А рецепторов на процессы неассоциативного обучения	33
Юдина О. А., Калиновская Е. И., Чудиловская Е. Н. Кардиальный фиброз и его характеристики при крайней степени ожирения.....	46
Митюкова Т. А., Полулях О. Е., Марчук С. А. Содержание мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в сыворотке крови детей с нарушениями психоречевого развития.....	53
Пашкевич С. Г., Токальчик Д. П., Тихонович О. Г. Влияние интраназальной аппликации гиалуронидазы на процессы формирования защитных рефлексов и выносливость крыс...	60

Муравьев В. В., Попов А. А., Церковский Д. А., Протопович Е. Л., Матвеев Д. И. Сравнительный анализ спектральных характеристик образцов опухолевой ткани (альвеолярный рак печени РС1) и мышечной ткани лабораторных животных в диапазоне 28–33 ГГц.....	69
Шутова А. Г., Гетко Н. В., Шамшур Г. Ч., Деева А. М., Войцеховская Е. А., Тивари А. К. Морфологические и биохимические параметры растений в вертикальном озеленении	78
Мурашквич А. Н. Синтез и физико-химические свойства двойных оксидов титана и кремния, модифицированных органической кислотой	87
Ханчевский М. А., Коктыш И. В., Жуковец Т. А., Сыса А. Г., Квасюк Е. И. Пролиферация опухолевых клеток линии НерG2 в присутствии неларабина и эмоксипина.....	96

МИР НАУКИ

Данилова-Третьяк С. М., Карелина В. А. Роберт Мертон: ученый должен делать то, что полезно для науки.....	103
--	-----

ИЗ ИСТОРИИ НАУКИ

Костюкович Н. Н. Первые номинанты на Нобелевскую премию с белорусскими корнями, не ставшие ее лауреатами.....	114
Перечень материалов, опубликованных в журнале «Вестник Фонда фундаментальных исследований» в 2021 г.....	151

УДК 54.057:577.2

М. А. ХАНЧЕВСКИЙ¹, И. В. КОКТЫШ¹, Т. А. ЖУКОВЕЦ^{1,2},
А. Г. СЫСА¹, Е. И. КВАСЮК¹

ПРОЛИФЕРАЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ HerG2 В ПРИСУТСТВИИ НЕЛАРАБИНА И ЭМОКСИПИНА

¹МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ

²Белорусская медицинская академия последипломного образования

(Поступила в редакцию 19.10.2021)

Данная статья посвящена изучению влияния эмоксипина (производное 3-гидроксипиридина, соединение с умеренными антиоксидантными свойствами) на противоопухолевые свойства антимиетаболита неларабина (используется в клинической практике в качестве противоопухолевого препарата). Установлено, что неларабин в исследованном диапазоне концентраций (от 10^{-7} до 10^{-4} М) приводит к снижению жизнеспособности клеток (опухолевая клеточная линия HerG2) на 70 % по сравнению с контролем. Определены уровни активных форм кислорода (АФК), образующихся в опухолевой клеточной линии HerG2 в условиях культивирования с неларабином, а также способность эмоксипина влиять на уровень образующихся АФК. Показано, что в условиях эксперимента эмоксипин в области низких и средних концентраций (2,0–20,0 мкМ) ведет себя как прооксидант, т. е. соединение, стимулирующее производство АФК в опухолевой клетке под воздействием цитостатика неларабина. А в области высоких концентраций (50,0–100,0 мкМ), наоборот, как антиоксидант, т. е. соединение, препятствующее производству АФК (или же как ловушка АФК).

Введение. При лечении онкозаболеваний введение химиопрепаратов вызывает увеличение выработки активных форм кислорода (АФК) в опухолевых клетках [1]. Эффекты АФК могут быть двоякими: с одной стороны они могут приводить к гибели как нормальных, так и опухолевых клеток, повреждая белки, липиды и ДНК, в то же время АФК могут индуцировать рак [2–4]. Напротив, манипуляции с АФК могут индуцировать апоптоз в опухолевых клетках только потому, что нормальные клетки имеют иную окислительно-восстановительную среду, чем раковые клетки, и менее чувствительны к резким изменениям окислительно-восстановительного баланса [5]. Таким образом, модуляция АФК антиоксидантами или прооксидантами является перспективной стратегией избирательного воздействия на опухолевые клетки при химиотерапевтическом лечении [6–8].

Отвечая на вопрос, могут ли антиоксиданты, при их использовании в ходе химиотерапии антимиетаболитами, защитить нормальные ткани, не оказывая

негативного влияния на процессы подавления роста опухолевых клеток, посвящено значительное количество исследований. Однако из-за различий в характере исследования, протоколе лечения, типе онкозаболевания, длительности наблюдения, инклюзивных критериях, статистическом анализе и режиме химиотерапии возникают неопределенности, которые не позволяют сделать однозначный вывод относительно влияния антиоксидантов на процессы пролиферации и дифференциации опухолевых клеток во время химиотерапии [9]. Так, исследования *in vitro* показывают, что цитарабин и другие родственные ему аналоги нуклеозидов на основе цитозина токсичны для опухолевых клеток за счет повышения уровня клеточного окислительного стресса, несмотря на то что он может быть нейтрализован антиоксидантами [10]. Напротив, другие авторы делают выводы, что антиоксиданты при одновременном применении не мешают химиотерапии, усиливают цитотоксический эффект химиотерапии, защищают нормальные ткани и увеличивают терапевтический ответ и выживаемость пациентов [2; 11; 12].

Таким образом, исследования влияния, оказываемого действием комбинаций противоопухолевых препаратов с веществами, обладающими антиоксидантными свойствами, являются актуальными. Использование комбинаций на основе модифицированных нуклеозидов и нуклеотидов, способных влиять на процессы кодирования и реализации генетической информации в опухолевых клетках, с антиоксидантами, способными управлять редокс-состоянием клеток и клеточного окружения, может повысить эффективность действия антиметаболитов нуклеиновой природы. Наличие положительного результата при использовании таких комбинаций даст возможность обосновать их применение в разработке эффективных инновационных цитостатических средств.

В настоящей работе проведено исследование *in vitro* влияния неларабина (используется в клинической практике в качестве противоопухолевого препарата) и его комбинации с эмоксипином (соединение с умеренными антиоксидантными свойствами) на пролиферацию опухолевой клеточной линии НерG2.

Неларабин является аналогом пуриновых нуклеозидов (рис. 1), в клетке превращается в 5'-трифосфат арабинофуранозилзилгуанина (араГТФ), который ингибирует синтез ДНК, вызывая цитотоксическое действие.

Эмоксипин – производное 3-гидроксипиридина (рис. 2), обладающее антиоксидантными свойствами. В медицине эмоксипин применяют как препарат из группы антитромбоцитарных средств и антиоксидантов, он является корректором микроциркуляции. Активный компонент препарата,

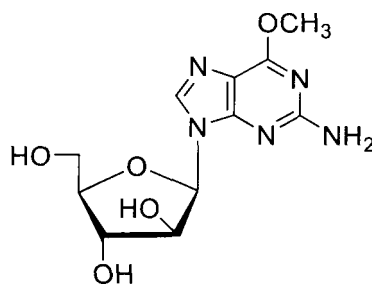


Рис. 1. Структурная формула неларабина

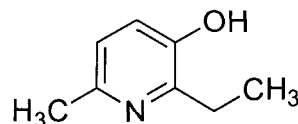


Рис. 2. Структурная формула эмоксипина

метилэтилпиридинол, после проникновения в кровотоки укрепляет сосуды, предотвращает их разрыв и разжижает кровь, тем самым останавливая развитие деструктивных процессов.

Антиоксидантное действие эмоксипина позволяет стимулировать естественные процессы, нейтрализовать свободные радикалы, тем самым предотвращать повреждение жизненно важных биологических молекул.

Материалы и методы исследования. Клеточную культуру HerG2 культивировали в среде DMEM (Sigma, США), содержащей 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США), 4 мМ L-глутамин, антибиотики пенициллин (100 ед/мл), стрептомицин (100 мкг/мл) и антимикотик Fungizone® (25 мкг/мл) (Invitrogen, США), при 37 °С во влажной атмосфере с 5 % CO₂. Клеточная культура поддерживалась на стадии логарифмического роста путем рутинной пересадки трижды в неделю. Контроль адгезии клеток на подложке, роста и возможной контаминации производили визуально с помощью инвертированного микроскопа АУ-12 (ЛОМО, Россия).

Для определения антипролиферативной активности использовали МТТ-тест. Клетки HerG2 помещали на 96-луночный планшет (Sarstedt, Германия) в концентрации $1 \cdot 10^4$ клеток/луночку и инкубировали в среде DMEM (Sigma, США) с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США) и антибиотиков пенициллин (100 ед/мл), стрептомицин (100 мкг/мл) и антимикотика Fungizone® (25 мкг/мл) (Invitrogen, США). Через 24 ч инкубирования, при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO₂, среду сливали и заменяли ее на среду, содержащую неларабин или смесь неларабина с эмоксипином в концентрациях от 0,1 до 100,0 мкМ. Контрольные клетки инкубировали в среде с 1 %-ным раствором диметилсульфоксида (ДМСО). Через 24 ч инкубации в среду добавляли соль 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (Carl Roth, США) в концентрации 5 мг/мл. Через 4 ч экспозиции при 37 °С темно-фиолетовые гранулы формазана растворяли в ДМСО. Количество восстановленного продукта измеряли фотометрически при длине волны 570 нм на планшетном анализаторе CLARIOstar Plus (BMG Labtech, Германия). Пролиферативную активность клеток в присутствии исследуемого соединения рассчитывали по формуле: $(\text{ОП опытных лунок} / \text{ОП контр. лунок}) \cdot 100 \%$, где ОП – оптическая плотность.

Для определения уровня внутриклеточных АФК использовали зонд 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетат (DCF-DA, ИБОХ НАН Беларуси). Принцип метода основан на регистрации окисления DCF-DA в высокофлуоресцирующее соединение 2',7'-дихлорфлуоресцеин (DCF) в присутствии активных форм кислорода.

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения R Statistical Software (Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия). Зависимость величины эффекта φ от уровня влияния x описывается моделями, которые в общем случае можно представить в виде $\varphi(x; b, c, d, e, \dots) = C + (d - c) \psi(x; b, e, \dots)$, где параметры c и d – нижний и верхний пределы отклика, а ψ –

некоторая заданная нелинейная функция с параметрами b и e . В данной работе мы использовали лог-логистическую модель с четырьмя параметрами (b, c, d, e) LL.4, которая имеет вид:

$$\varphi(x) = c + \frac{d - c}{1 + e^{b(\log x - \log e)}}$$

Оценочные параметры моделей имеют определенный биологический смысл. В частности, для лог-логистической модели параметры c и d определяют нижнюю и верхнюю горизонтальные асимптоты сигмоидной кривой, e соответствует положению точки перегиба, а b – углу наклона в переходной области. Подгонка параметров модели к анализируемым эмпирическим данным осуществлялась с использованием обобщенного метода минимизации суммы квадратов отклонений прогнозов модели от наблюдаемых значений с учетом специально подобранных весовых коэффициентов.

Статистический анализ оцениваемых параметров проводился с использованием t -критерия Стьюдента, который проверял гипотезу о равенстве каждого коэффициента нулю и вычислял p -значения, определяющие достигнутый уровень значимости. Статистическая значимость модели в целом была проверена путем сравнения ее с простой регрессией с нулевым коэффициентом наклона (горизонтальная линия регрессии соответствует отсутствию зависимости доза–эффект) методом ANOVA (дисперсионный анализ).

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований приведены на рис. 3.

Как видно из данных, представленных на рис. 3, как неларабин, так и комбинация неларабина с эмоксипином в исследуемом диапазоне концентраций (от 10^{-7} до 10^{-4} М) приводят к снижению жизнеспособности клеток на 70 % по сравнению с контролем.

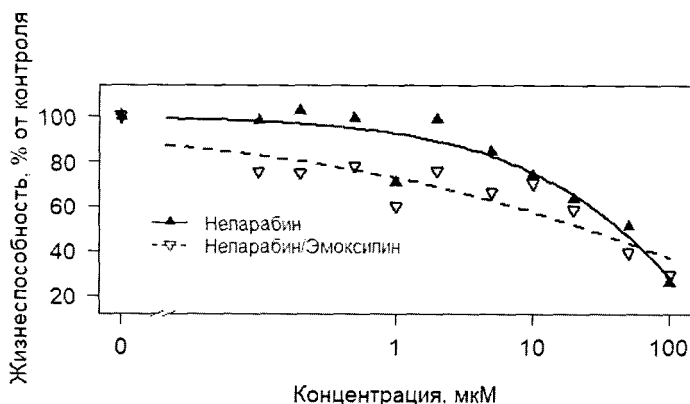


Рис. 3. Зависимость влияния изученных соединений на пролиферацию опухолевой клеточной линии HepG2 от концентрации

Статистический анализ значимости оцененных параметров модели для исследуемых соединений по *t*-критерию представлен в таблице.

Установлено, что коэффициенты наклона (*b*) и верхнего предела (*d*) статистически значимы для неларабина и комбинации неларабина и эмоксипина.

Оценка параметров модели влияния неларабина или комбинации неларабина с эмоксипином на опухолевую клеточную линию НерG2

Параметр	Оценка (мкМ)	Ст. ошибка	<i>t</i> -критерий	<i>p</i> -значение
<i>b</i> : наклон области перегиба (неларабин)	0,68	0,15	4,5435	$2,562 \cdot 10^{-5}$ *
<i>b</i> : наклон области перегиба (неларабин + эмоксипин)	0,26	0,049	5,3079	$1,531 \cdot 10^{-6}$ *
<i>c</i> : нижний предел	24,19	38,05	-1,1613	0,2499
<i>d</i> : верхний предел	98,45	3,14	31,3226	$<(2,2 \cdot 10^{-16})$ *
<i>e</i> : ED ₅₀ (неларабин)	111,25	84,65	1,3143	0,1935
<i>e</i> : ED ₅₀ (неларабин + эмоксипин)	307,83	516,93	0,5955	0,5536

Примечание: * – $p < 0,001$.

Математическая модель «доза–эффект» для неларабина запишется как

$$\varphi(\% \text{ от контроля}) = 24,19 + \frac{98,45 - 24,19}{1 + e^{0,68(\log C(\mu\text{M}) - \log 111,25)}}$$

Математическая модель «доза–эффект» для комбинации неларабина и эмоксипина (в эквимольных концентрациях) запишется как

$$\varphi(\% \text{ от контроля}) = 24,19 + \frac{98,45 - 24,19}{1 + e^{0,26(\log C(\mu\text{M}) - \log 307,83)}}$$

Анализ дисперсий (ANOVA) не выявил статистически значимых различий между построенными моделями антипролиферативной активности неларабина и комбинацией неларабина с эмоксипином ($F = 0,5091$, $p = 0,6036$).

Известно, что основным механизмом повреждающего действия на нормальные клетки и ткани при химиотерапии является избыточное накопление активных форм кислорода в результате активации микросомального окисления соответственно. Следствием этого является повреждение функционирования системы антиоксидантной защиты (включая ее ферментативное и неферментативное звенья), нарушение иммунологических механизмов, участие которых также чрезвычайно важно в процессах детоксикации и регуляции гемопозза. В процессе решения данной задачи было разработано и обосновано применение большого числа различных модифицирующих воздействий, направленных на снижение токсичности и/или усиление терапевтического эффекта малотоксичных доз цитостатических и лучевых воздействий. Среди средств, предупреждающих повреждение

нормальных тканей, достаточно широко представлены природные соединения (церулоплазмин, лактоферрин), колониестимулирующие факторы (ленограстим, филграстим, молграмостим, пегфилграстим, эритропоэтин), тиоловые соединения (амифостин). Однако узкая направленность действия корректоров токсичности, наличие побочных эффектов или высокая стоимость ограничивают их применение. В качестве сопровождения химиотерапии достаточно широко используются природные антиоксиданты с неферментативным действием.

Показано, что защитные эффекты антиоксидантов в определенной мере селективны для нормальных клеток и могут уменьшать токсичность противоопухолевого лечения без снижения эффективности. Более того, есть данные, что антиоксиданты могут способствовать повышению эффективности химио- и лучевых воздействий.

В связи с этим далее в работе проведена оценка уровня активных форм кислорода, образующихся в опухолевой клеточной линии HepG2 в условиях культивирования с неларабином, а также способности эмоксипина (соединения, обладающего антиоксидантными свойствами) влиять на уровень образующихся АФК.

На рис. 4 представлена зависимость среднего значения интенсивности флуоресценции DCF от концентрации неларабина или комбинации неларабина с эмоксипином. Как видно из данных, представленных на рис. 4, добавление эмоксипина (антиоксиданта) в диапазоне концентраций 2,0–20,0 мкМ приводило к трехкратному росту уровня АФК в культивируемой клеточной линии HepG2, по сравнению с неларабином, с последующим возвратом к средним значениям в области высоких концентраций (50,0–100,0 мкМ) как неларабина, так и эмоксипина.

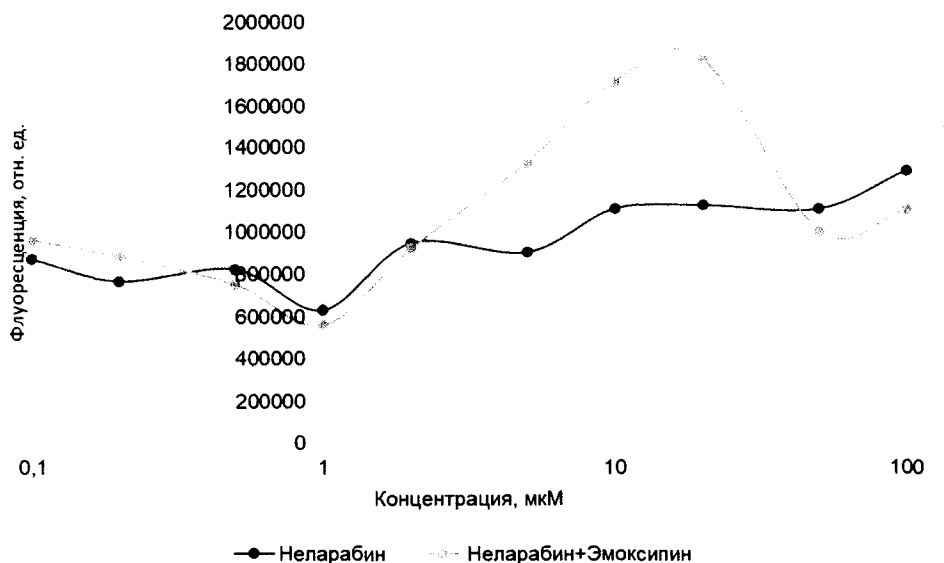


Рис. 4. Зависимость средней интенсивности флуоресценции DCF в клетках HepG2 от концентрации неларабина или комбинации неларабина с эмоксипином

Таким образом, установлено, что в условиях эксперимента *in vitro* на модели клеточной линии HepG2 эмоксипин в области низких и средних концентраций (2,0–20,0 мкМ) ведет себя как прооксидант, т. е. соединение, стимулирующее производство АФК в опухолевой клетке под воздействием цитостатика неларабина. А в области высоких концентраций (50,0–100,0 мкМ), наоборот, как антиоксидант, т. е. соединение, препятствующее производству АФК (или же как ловушка АФК).

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № М20МС-043).

Литература

1. Koltover V. K. // Russ. Chem. Bull. 2010. Vol. 59. P. 37–42.
2. Singh K., Bhoori M., Kasu Y. A. et al. // Saudi Pharm. J. 2018. Vol. 26. P. 177–190.
3. Nogueira V., Hay N. // Clin. Cancer Res. 2013. Vol. 19. P. 4309–4314.
4. Snezhkina A. V., Kudryavtseva A. V., Kardymon O. L. et al. // Oxid. Med. Cell. Longev. 2019. Vol. 2019. P. 6175804.
5. Glasauer A., Chandel N. S. // Biochem. Pharmacol. 2014. Vol. 92. P. 90–101.
6. Fuchs-Tarlovsky V. // Nutrition. 2013. Vol. 29. P. 15–21.
7. Kumari S., Badana A. K., Murali Mohan G. et al. // Biomark. Insights. 2018. Vol. 13. Art. 117727191875539.
8. Aggarwal V., Tuli H. S., Varol A. et al. // Biomolecules. 2019. Vol. 9. P. 735.
9. Tsesmetzis N., Paulin C., Rudd S. G., Herold N. // Cancers. 2018. Vol. 10, N 7. P. 240.
10. Hewish M., Martin S. A., Elliott R. et al. // Br. J. Cancer. 2013. Vol. 108, N 4. P. 983–992.
11. Simone C. B. 2nd, Simone N. L., Simone V., Simone C. B. // Altern. Ther. Health Med. 2007. Vol. 13. P. 22–28.
12. Simone C. B. 2nd, Simone N. L., Simone V., Simone C. B. // Altern. Ther. Health Med. 2007. Vol. 13. P. 40–47.

M. A. KHANCHEUSKI, I. V. KOKTYSH, T. A. ZHUKOVETS, A. G. SYSA, E. I. KVASYUK

PROLIFERATION OF CANCER CELLS (HepG2) UNDER CULTIVATION WITH NELARABINE AND EMOXIPINE

Summary

This paper is devoted to the study of the effect of emoxypine (a derivative of 3-hydroxypyridine, a compound with moderate antioxidant properties) on the antiproliferative properties of the antimetabolite of nelarabine (used in clinical practice as an antitumor drug). Nelarabine found to decrease in the cell viability (tumor cell line HepG2) by 70 % compared to the control. Next, the levels of reactive oxygen species (ROS) formed in the HepG2 tumor cell line under the nelarabine cultivation, as well as the ability of emoxipin to influence the ROS level, were determined. It was shown that emoxipin in the range of low and medium concentrations (2.0–20.0 μM) acted as a prooxidant, i.e. a compound that stimulated the production of ROS in a tumor cell under the nelarabine cultivation. And in the area of high concentrations (50.0–100.0 μM), on the contrary, as it was an antioxidant, i.e. a compound that interfered with the ROS generation.