

ВЛИЯНИЕ БЕТУЛИНА И АРАБИНОГАЛАКТАНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

Малышева Е.А.

Научный руководитель – доцент, к. б. н. Замай Т.Н.

Сибирский федеральный университет

Введение. Ежегодно в мире регистрируется около 8 миллионов случаев злокачественных новообразований и более половины из них с летальным исходом. Важная проблема при лечении онкозаболеваний – высокая степень токсичности противоопухолевых препаратов, поэтому создание нетоксичных или малотоксичных лекарственных средств становится одним из наиболее востребованных направлений биофармацевтики. В последнее время все большее внимание в лечении широкого спектра заболеваний уделяется природным соединениям – бетулину и арабиногалактану. Бетулин представляет собой пентациклический тритерпеновый спирт ряда лупана, содержащийся в березовой коре и обладающий противовоспалительным, антиоксидантным, антисептическим, антивирусным, гепатопротекторным, желчегонным, гипохолестеринемическим свойствами. Арабиногалактан, являющийся галактансодержащим полисахаридом, представляет собой эффективный иммуномодулятор. Макромолекула арабиногалактана из древесины лиственницы имеет высоко разветвленное строение; главная цепь ее состоит из звеньев галактозы, соединенных гликозидными связями в-(1→3), а боковые цепи со связями в-(1→6) – из звеньев галактозы и арабинозы, из единичных звеньев арабинозы, а также уроновых кислот, в основном глюкуроновой. Кроме того, имеются данные о противоопухолевых свойствах бетулина и арабиногалактана. Поэтому целью исследования стало изучение влияния бетулина и арабиногалактана на функциональное состояние асцитных клеток карциномы Эрлиха.

Методы и процедура исследования. Объектом исследования служили асцитные клетки карциномы Эрлиха, взятые на 9-ые сутки после ее трансплантации белым мышам-самцам ICR. Асцитные клетки промывались средой Хенкса, после чего использовались для исследования. Культивирование полученных клеток проводили в CO₂-инкубаторе в течение 24 часов. Для соблюдения стерильности все манипуляции при работе с клеточными культурами проводились в ламинар-боксе. Забранные клетки помещали в питательную среду. К ним добавляли FBS (эмбриональная бычья сыворотка) и в равной мере ампицилин и канамицин (что бы ни допустить случайного роста бактерий в культуре). Контрольная проба инкубировалась только в растворе Хенкса, в опытные пробы добавляли бетулин или арабиногалактан в концентрации бмг/мл. Размеры асцитных клеток и уровень клеток в состоянии некроза оценивали с помощью флуоресцентного микроскопа Olympus. $[Na^+]_{in}$, $[K^+]_{in}$, АФК и уровень пролиферации оценивали с помощью флуоресцентных зондов на проточном цитофлуориметре Beckman Culture FC500. $[Na^+]_{in}$, $[K^+]_{in}$ и АФК оценивали сразу, а уровень пролиферации клеток с помощью зонда FarRed после 24часового культивирования. Для исследования $[Na^+]_{in}$ и $[K^+]_{in}$ использовали два главных красителя, имеющие более или менее сходные свойства, поскольку они основаны на одной структуре: SBF1 для $[Na^+]_{in}$, и PBF1 для $[K^+]_{in}$.

Результаты исследований. Результаты исследований показали, что бетулин уменьшал размеры асцитных клеток и вызывал их агрегацию, что сопровождалось снижением содержания в клетках уровня АФК, $[Na^+]_{in}$ и увеличением $[K^+]_{in}$, тогда как арабиногалактан способствовал увеличению размеров опухолевых клеток. При этом было выяснено, что арабиногалактан не обладал антиоксидантными свойствами, т.е. не снижал уровня АФК в асцитных клетках.

Исследование содержания некротических клеток в опухоли с помощью флуоресцентного красителя Propidium iodide выявило, что под влиянием бетулина содержание клеток в состоянии некроза увеличилось на 69%, а под влиянием арабиногалактана – на 54%. При этом бетулин способствовал значительному снижению уровня пролиферации. Арабиногалактан обладал меньшей способностью подавлять клеточную пролиферацию.

Таким образом, проведенные исследования показали, что препараты растительного происхождения арабиногалактан и бетулин обладают ярко выраженным противоопухолевым эффектом.