

ЛИТЕРАТУРА

1. Метаболические препараты при лечении алкоголизма и различных заболеваний центральной нервной системы / В. Кунес [и др.] // Врач. – 2016. – №3. – С. 25-28.
2. Шейбак, В. М. Некоторые итоги изучения биологической активности композиции Тритарг / В. М. Шейбак, А. Ю. Павлюковец // Актуальные проблемы медицины: материалы еж. итоговой науч.-практ. конф., Гродно, 25-26 января 2018 г. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Учреждение образования "ГрГМУ" ; редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, Н. М. Курбат. – Гродно, 2018. – С. 841-844.
3. Лелевич, В. В. Эффективность композиций аминокислот при метаболической коррекции прерывистой морфиновой интоксикации // В. В. Лелевич, А. Г. Виницкая // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии: мат. респ. науч.-практ. конф., Гродно, 26 мая 2023 г. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Учреждение образования "ГрГМУ" ; отв. ред. В. В. Лелевич. – Гродно, 2023. – С. 191-199.

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРО- И НАНОФОРМ КУРКУМИНА И КВЕРЦЕТИНА В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Диковицкая К.Д.¹, Шутова Т.Г.², Потапович А.И.¹

¹ *Белорусский государственный университет;*

² *Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Актуальность. Рак груди является наиболее часто диагностируемым раком среди женщин во всем мире [1]. Современные химиотерапевтические препараты способны подавлять или убивать опухоли, однако существует проблема токсичности и побочных эффектов, что ограничивает клиническое применение этих препаратов. Поэтому природные соединения, способные воздействовать на раковые клетки, оказывая минимальное влияние на нормальные клетки, рассматриваются как перспективные для лечения рака. К таким соединениям относят флавоноид кверцетин и куркуминоид куркумин. Однако, терапевтическое применение куркумина и кверцетина ограничено низкой водорастворимостью и пероральной биодоступностью, поэтому получение микро- и наночастиц, повышающих биодоступность куркумина и кверцетина, и исследование их биологических эффектов в отношении раковых клеток представляется весьма актуальной задачей.

Цель исследования. Оценить влияние кверцетина и куркумина и их микро- и наноструктурированных форм на клетки рака молочной железы человека линии MCF-7.

Материалы и методы. Клетки культивировали во флаконах T25 (Sarstedt, США) в среде ДМЕМ, содержащей 10 % бычьей сыворотки в стандартных условиях (37 °C, 5 % CO₂). Экспозицию с исследуемыми

веществами проводили в 96- и 24-луночных планшетах (Sarstedt, США). Исследуемые препараты добавляли к среде инкубации, не содержащей сыворотки, и инкубировали с клетками 24 ч. Использовали свободный кверцетин и кверцетин загруженный в наночастицы желатина с диаметром 160-190 нм (Кв-ЖНЧ), свободный куркумин, комплекс куркумина с Mn^{2+} (Кур-Мн) и куркумин, покрытый оболочкой полиаллиламин гидрохлорид/полистиролсульфат (Кур-(ПАН/PSS)₄) или хитозан/декстран сульфат (Кур-(Hit/DS)₄) со средним размером $(1,1 \pm 0,3)$ мкм. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью реагента PrestoBlue™, повреждение кератиноцитов оценивали по выходу лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и методом двойного окрашивания (акридиновый оранжевый/этидиум бромид).

Результаты и обсуждение. Используя для оценки жизнеспособности клеток реагент PrestoBlue, установлено, что дозозависимое снижение количества метаболически активных клеток линии MCF-7, способных осуществлять энергозатратную реакцию восстановления индикатора жизнеспособности клеток резазурина в красный флуоресцентный пигмент резорурфин, выявлено только для куркумина и его комплекса с марганцем. Куркумин, включенный в микрочастицы Кур-(ПАН/PSS)₄ и Кур-(Hit/DS)₄, не оказывал цитотоксического действия через 24 ч инкубации (таблица 1).

Таблица 1 - Количество жизнеспособных клеток линии MCF-7 (в % к контролю), оцениваемое с помощью реагента PrestoBlue™ через 24 ч совместной инкубации с куркумином и его модифицированными формами

Препарат	Концентрация препаратов, мкмоль/л			
	25	50	100	200
Куркумин	97±8	32±8 [§]	0,0±0 [§]	н/о
Кур-(ПАН/PSS) ₄	103±8	115±21	118±15	н/о
Кур-(Hit/DS) ₄	110±22	111±15	106±13	н/о
Кур-Мн	94±11	70±10 [¥]	50±7 [§]	3±2 [§]

¥ - $p \leq 0,0001$; § - $p \leq 0,00001$ vs контроль

Цитотоксическое действие куркумина и его комплекса с марганцем в отношении клеток линии MCF-7 оценивали также по выходу из клеток в культуральную среду маркера повреждения плазматических мембран фермента ЛДГ. Установлено, что инкубация клеток в течении 24 ч с куркумином приводит к нарушению целостности мембран. При этом при концентрации куркумина 50 мкмоль/л количество клеток с поврежденной мембраной составляло 15 %, а при концентрации 100 мкмоль/л составляло 34 % (таблица 2). В тоже время при концентрации куркумина в среде инкубации 50 мкмоль/л количество метаболически активных клеток снижалось почти на 70 %, а при концентрации 100 мкмоль/л наблюдается полная потеря метаболической активности клеток MCF-7 через 24 ч (см. таблицу 1). Таким образом, можно сделать вывод, что метаболически мертвые клетки могут сохранять целостность плазматической мембраны. Этот вывод также подтверждают данные, характеризующие эффект комплекса Кур-Мн в концентрации

200 мкмоль/л на уровень метаболической активности и целостности клеток MCF-7, приведенные в таблицах 1 и 2, а именно полная метаболическая гибель клеток при сохранении целостности их мембран.

Таблица 2 - Количество неповрежденных клеток линии MCF-7 (в % к контролю), оцениваемое по выходу ЛДГ через 24 ч совместной инкубации куркумином и его комплексом с марганцем

Препарат	Концентрация препаратов, мкмоль/л			
	25	50	100	200
Куркумин	98±3	85±4 [¥]	66±11 [§]	5±8 [§]
Кур-Мн	н/о	103±3	103±1	100±1

[¥] - $p \leq 0,05$; [§] - $p \leq 0,0001$ vs контроль

О целостности плазматической мембраны клеток MCF-7 после их инкубации в течении 24 ч с куркумином (50 мкмоль/л) и Кур-Мн (200 мкмоль/л) свидетельствует и зеленая флуоресценция клеток при использовании метода двойного окрашивания (рисунок 1).

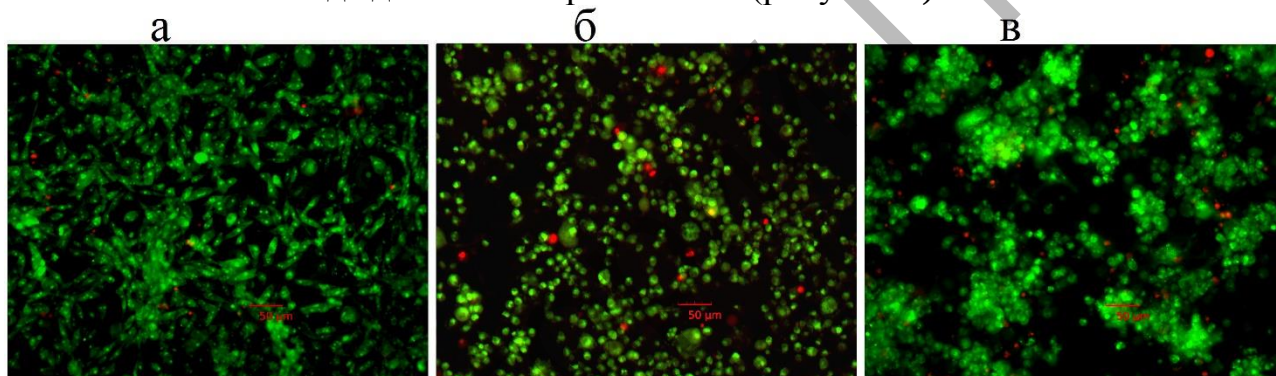


Рисунок 1 - Флуоресцентные микрофотографии клеток линии MCF-7, окрашенных системой акридиновый оранжевый/этидий бромид
(а) контрольные клетки; (б) клетки через 24 ч инкубации с куркумином (50 мкмоль/л);
(в) клетки через 24 ч инкубации с комплексом Кур-Мн (200 мкмоль/л)

В результате исследования цитотоксического действия свободного и включенного в желатиновые наночастицы кверцетина установлено, что инкубация клеток линии MCF-7 с этими препаратами в концентрации 50 мкмоль/л приводит через 24 ч к существенному снижению количества жизнеспособных клеток, при этом цитотоксическое действие этих агентов в отношении нормальных кератиноцитов человека линии HaCaT было незначительным (таблиц 3).

Таблица 3 - Количество жизнеспособных клеток (в % к контролю), оцениваемое с помощью реагента PrestoBlue™ через 24 ч совместной инкубации со свободным и наноструктурированным кверцетином

Условия эксперимента	Клеточная линия	
	MCF-7	Кератиноциты HaCaT
Контроль	100±6	100±9
Кверцетин, 50 мкмоль/л	38±6 [§]	83±5 [¥]
Кв-ЖНЧ, 50 мкмоль/л	31±5 [§]	91±8

[¥] - $p \leq 0,05$; [§] - $p \leq 0,00001$ vs контроль

Выводы. Установлено, что покрытие куркумина оболочкой (PAH/PSS)₄ или (Hit/DS)₄ повышает его водорастворимость, однако препятствует реализации цитотоксического действия. Включение кверцетина в наночастицы на основе желатина повышает его биодоступность при сохранении избирательного цитотоксического действия в отношении клеток рака молочной железы человека линии MCF-7.

ЛИТЕРАТУРА

1. GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 International Agency for Research on Cancer (IARC). Available: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МОДЕЛЕЙ СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Дробышевская А.А.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Влияние стресса на организм по сей день остается одной из актуальных проблем медицины [4]. Стрессоустойчивость является одним из основных критериев жизнеспособности организма и его приспособленности к изменению условий обитания, экстремальным ситуациям, а также при других стрессорных воздействиях [3]. Одним из широко используемых методов стрессирования крыс является метод принудительного плавания [1].

Цель. Проанализировать методики моделирования стресса у крыс.

Материалы и методы исследования. Были изучена и проанализирована литература, имеющая описание методов моделирования стресса у крыс и проведения эксперимента с использованием различных моделей стресса.

Результаты и обсуждение. Согласно литературным данным, основными моделями стресса являются комплексный, иммобилизационный, эмоционально-болевой, изоляционный, холодовой, радиационный, плавательный стресс, различные депривации, а также стресс, вызванный воздействием химических веществ [1].