

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние холодового стресса и острой алкогольной интоксикации на аминокислоты с разветвлённой углеродной цепью в тимусе крыс / Н. А. Валько, А. А. Дробышевская, Т. Р. Блошко [и др.] // Актуальные проблемы медицины : сб. материалов итоговой науч.-практ. конф., 29 янв. 2026 г. / отв. ред. И. Г. Жук. – Гродно : ГрГМУ, 2026. – С. 58-60.
2. Дорошенко, Е. М. Структура пула свободных аминокислот и их производных плазмы крови у пациентов с ишемической болезнью сердца и проявлениями хронической сердечной недостаточности / Е. М. Дорошенко, В. А. Снежицкий, В. В. Лелевич // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2017. – Т. 15, № 5. – С. 551-556.
3. Субботина, Т. Ф. Асимметричный диметиларгинин в качестве лабораторного критерия после корригирующей терапии у пациентов с аневризмой восходящего отдела грудной аорты / Т. Ф. Субботина, Н. Д. Гаврилюк, Т. А. Дружкова [и др.] // Атеросклероз и дислипидемии. – 2022. – Т. 1, № 46. – С. 40–46. – doi: 10.34687/2219-8202.JAD.2022.01.0004.
4. L-аргинин и артериальная гипертензия: клиничко-патогенетические взаимосвязи и коморбидность / В. А. Щербак, А. С. Медведева, Т. А. Аксенова [и др.] // Acta Biomedica Scientifica. – 2024. – Т. 9, № 1. – С. 32–41. – DOI: 10.29413/ABS.2024-9.1.4.
5. Fernandez, J. Transcriptional control of the arginine/lysine transporter, Cat-1, by physiological stress / J. Fernandez, A. B. Lopez, C. Wang [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2003. – Vol. 278, № 48. – P. 50000–50009. – doi: 10.1074/jbc.M306045200.
6. Plasma dimethylarginine levels and carotid intima-media thickness are related to atrial fibrillation in patients with embolic stroke / G. M. Grosse, S. Biber, J.-Th. Sieweke, J. Martens-Lobenhoffer [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – Vol. 20, № 3. – Art. 730. – doi: 10.3390/ijms20030730.
7. Asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginines in chronic kidney disease: a clinical approach / E. Oliva-Damaso, N. Oliva-Damaso, F. Rodriguez-Esparragon [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – Vol. 20, № 15. – Art. 3668. – doi: 10.3390/ijms20153668.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ МОДУЛЯТОРОВ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH И БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА РОСТ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК IN VITRO

Терпинская Т.И., Полукошко Е.Ф.

*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь*

Актуальность. Кислотно-щелочной гомеостаз является фундаментальным условием для поддержания жизнеспособности и роста клеток.

Для опухолевых клеток характерны изменения регуляции потоков ионов H^+ , способствующие приобретению злокачественных фенотипов, включая устойчивость к апоптозу, усиленную пролиферацию и метастазирование [7]. Регуляция кислотно-щелочного баланса оказывает влияние на митохондриальную динамику [4], пролиферацию и апоптоз [2]. Исходя из вышесказанного, вероятно, что регуляторы кислотно-щелочного гомеостаза будут влиять на рост опухолевых клеток, а также на противоопухолевое действие других соединений. Одним из соединений, оказывающих противоопухолевый эффект, индуцируя апоптоз с участием митохондриального пути и задержку клеточного цикла, является бетулиновая кислота [1]. Это позволяет предположить, что препараты, модулирующие кислотно-щелочной баланс, могут оказывать влияние на действие бетулиновой кислоты, ослабляя или усиливая клеточные механизмы защиты от повреждений и изменяя чувствительность клетки к цитостатическим и апоптотическим сигналам.

Целью данной работы явилось изучение влияния модуляторов внутриклеточного pH и их сочетания с бетулиновой кислотой на рост опухолевых клеток *in vitro*.

В качестве препаратов, изменяющих кислотно-щелочной баланс клетки, использовались монензин (антибиотик, применяемый в ветеринарии) – натрий-водородный ионофор, увеличивающий проницаемость клеточных мембран для ионов натрия и водорода, и 5-(N-этил-N-изопропил)амилорид (ЭИПА) – селективный ингибитор натрий-водородного обменника плазматической мембраны.

Материалы и методы.

Реактивы. Бетулиновая кислота (MLCKLIN, КНР), 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид (МТТ, Glentham Life Sciences, Великобритания), монензин (Sigma, США), ЭИПА (Sigma, США).

Клетки. Использовали клетки линий Hela и глиомы С6 из «Белорусской коллекции культур клеток человека и животных» РНПЦ эпидемиологии и микробиологии МЗ РБ.

Проведение экспериментов. Клетки высевали в лунки культуральных планшетов в среде ДМЕМ (Capricorn Scientific, Германия), дополненной 10 % ЭТС (Capricorn Scientific, Германия), культивировали 24 ч в инкубаторе при 5 % CO_2 и 37 °С. Затем вносили исследуемые препараты, через 48 ч анализировали рост клеток под микроскопом и проводили МТТ-тест.

Результаты. Результаты МТТ-теста, полученные на клетках Hela, показали, что монензин подавлял клеточный рост в 1,6 раза, а ЭИПА, как и бетулиновая кислота, – в 1,3 раза. Сочетанное действие бетулиновой кислоты с монензином или с ЭИПА способствовало подавлению роста клеток Hela в 1,9 – 2,0 раза (рисунок 1, а).

На клетках глиомы С6 получены сходные результаты – бетулиновая кислота, монензин и ЭИПА подавляли рост клеток в 1,4; 1,6 и 1,3 раза соответственно. Комбинации препаратов, особенно бетулиновой кислоты и монензина, действовали более выражено – их сочетание способствовало

подавлению роста клеток в 3,9 раза, а сочетание бетулиновой кислоты и ЭИПА – в 2,1 раза (рисунок 1, b).

Микроскопия подтвердила результаты МТТ-теста. Бетулиновая кислота, ЭИПА и монензин способствовали подавлению клеточного роста, что при световой микроскопии проявлялось, главным образом, в уменьшении количества клеток и изменении формы некоторых клеток. При действии комбинаций бетулиновой кислоты с ЭИПА или монензином наблюдалось не только гораздо более выраженное снижение количества клеток, но также их округление, открепление от подложки, грубое нарушение клеточной структуры и даже полное разрушение.

Противоопухолевое действие бетулиновой кислоты связано прежде всего с усилением окислительного стресса, торможением клеточного цикла и индукцией апоптоза как через внешний, так и через внутренний путь [1].

Монензин и ЭИПА способствуют закислению цитозоля, хотя и разными путями. Монензин, действуя как Na^+/H^+ антипортер, способствует (в обмен на Na^+) притоку ионов H^+ в цитоплазму из внеклеточного пространства, а также из кислых органелл, таких, как лизосомы. ЭИПА ингибирует выведение ионов H^+ из цитоплазмы, благодаря чему рН цитоплазмы сдвигается в кислую, а рН внеклеточной среды, напротив, в щелочную сторону. Это способствует нарушению митохондриальной динамики и функции митохондрий, подавлению клеточного цикла, ингибированию секреции белка, индукции окислительного стресса и апоптоза при действии ЭИПА [4, 2, 6] и монензина [5, 3].

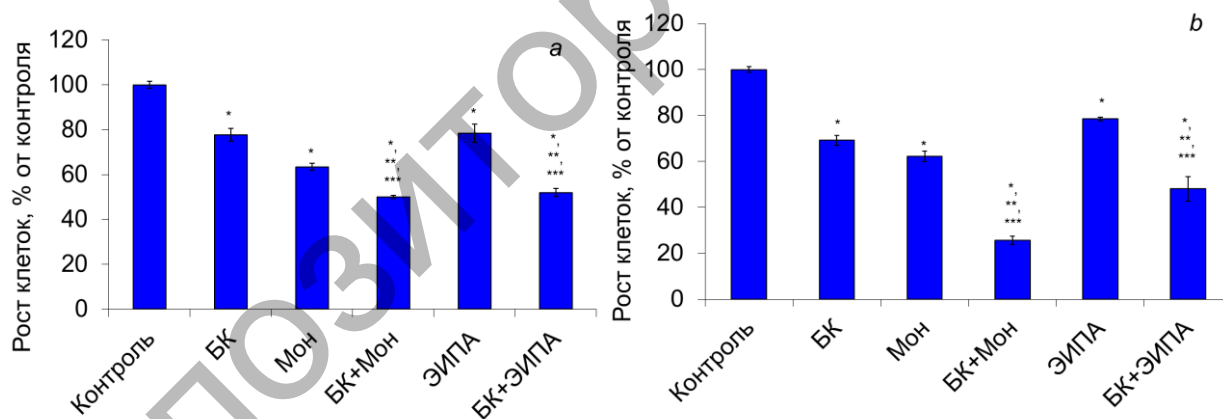


Рисунок 1 – Влияние бетулиновой кислоты (БК, 60 μM), монензина (Мон, 2,5 μM), 5-(N-этил-N-изопропил)амилорида (ЭИПА, 10 μM) на рост клеток Hela (a) и глиомы C6 (b); МТТ-тест, n = 12;

* $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** $p < 0,05$ при сравнении с БК; *** $p < 0,05$ при сравнении с Мон или ЭИПА (тест Стьюдента)

В данной работе впервые описано усиление противоопухолевого эффекта при использовании комбинации бетулиновой кислоты с монензином или ЭИПА. Такое действие при сочетанном применении препаратов, предположительно, может быть обусловлено усилением окислительного стресса, который индуцируется как бетулиновой кислотой, так и использованными нами

фармакологическими регуляторами кислотности цитозоля. В усилении клеточной гибели также может играть роль вызываемое препаратами нарушение работы митохондрий. Поскольку бетулиновая кислота индуцирует апоптоз через митохондриальный путь, а дисфункция митохондрий усугубляется при нарушении внутриклеточного pH, закисление цитоплазмы может снижать порог устойчивости клеток к апоптотическим сигналам. Точное выяснение механизмов действия бетулиновой кислоты с ЭИПА и монензином требует дальнейших, более детальных исследований.

Выводы. Показано, что монензин и ЭИПА подавляют рост опухолевых клеток, а сочетание каждого из этих соединений с бетулиновой кислотой способствует более выраженному эффекту, чем при применении препаратов по отдельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Betulinic acid and apoptosis-involved pathways: Unveiling its bidirectional regulatory role / Yi. Gao, D. Wang, Y. Zheng, H. Sun // *European Journal of Pharmacology*. – 2025. – Vol. 1008. – P. 178361.
2. Induction of apoptosis and differentiation by Na/H exchanger 1 modulation in acute myeloid leukemia cells / S. Y. Hyun, E. J. Na, J. E. Jang [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2019. – Vol. 519, № 4. – P. 887–893.
3. Monensin Inhibits Anaplastic Thyroid Cancer via Disrupting Mitochondrial Respiration and AMPK/mTOR Signaling / Y. Li, Q. Sun, S. Chen [et al.] // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. – 2022. – Vol. 22, № 14. – P. 2539–2547.
4. Ethyl isopropyl amiloride decreases oxidative phosphorylation and increases mitochondrial fusion in clonal untransformed and cancer cells / S. S. Manoli, K. Kisor, B. A. Webb, D. L. Barber // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2021. – Vol. 321, № 1. – P. C147–C157.
5. Investigation of the anticancer mechanism of monensin via apoptosis-related factors in SH-SY5Y neuroblastoma cells / S. Serter Kocoglu, C. Oy, M. Secme, F. B. Sunay // *Clinical and Translational Science*. – 2023. – Vol. 16, № 9. – P. 1725–1735.
6. Targeting Na-H exchanger 1 overcomes nuclear factor kappa B-mediated tumor resistance to radiotherapy / A. Son, S. Kang, S. Choi, S. Shin [et al.] // *Neoplasia*. – 2023. – Vol. 35. – P. 100862.
7. Tumor acidity: From hallmark of cancer to target of treatment / A. Bogdanov, A. Bogdanov, V. Chubenko, N. Volkov [et al.] // *Front Oncol*. – 2022. – Vol. 12. – P. 979154.