

Д. А. Готкович, В. В. Гутник
ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ α_2 -АДРЕНОМИМЕТИКОВ

*Научные руководители: ассист. Т. А. Казак,
канд. биол. наук., ведущий научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» М. О. Досина **

*Кафедра фармакологии,
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск

D. A. Gotkovich, V. V. Gutnik
ANTITUMOR ACTIVITY OF α_2 -ADRENOMIMETICS

*Tutors: assistant T. A. Kazak,
Candidate of Biological Sciences M. O. Dosina**

*Department of Pharmacology,
Belarusian State Medical University, Minsk*

**SSI «The Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk*

Резюме. Онкологические заболевания занимают второе место в структуре причин смертности жителей Республики Беларусь. Большое значение имеет разработка и внедрение новых методов лечения онкологических заболеваний. В настоящей работе представлено исследование противоопухолевой активности альфа2-адреномиметиков на примере клонидна.

Ключевые слова: клонидин, опухоль, клетки глиомы С6, пролиферативная активность, жизнеспособность, эффективная концентрация.

Resume. Oncological diseases takes second place in mortality causes among the Republic of Belarus residents. Importance leader in this sphere - new ways of cancer treatment. In this article you can find research of the antitumor activity of alpha2-adreonomimetrics using clonidine as an example.

Keywords: clonidine, tumor, C6 glioma cells, proliferative activity, viability, effective concentration.

Актуальность. Согласно официальной статистической отчетности онкологические заболевания занимают второе место в структуре смертности населения Республики Беларусь. Число умерших от онкологии в 2017 году составило 194,3 на 100000 населения (рисунок 1) [1].

Смертность населения Республики Беларусь от злокачественных новообразований (на 100 тыс. населения)

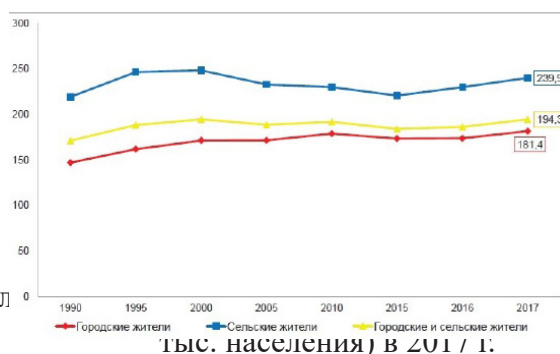


Рис. 1 – Смертность населенных новообразований (на 100 тыс. населения) в 2017 г.

Среди множества новообразований весьма актуальными являются новообразования центральной нервной системы [2]. Глиомы являются злокачественными формами

мами опухолей головного мозга и составляют около 30% всех новообразований [3]. Глиома является одним из самых опасных новообразований из-за плохой реакции на лечение, высокой частоты рецидивов и низких показателей продолжительности жизни [4].

Доказано, что на мембранах нейронов ряда опухолевых новообразований (в т.ч. глиальных) располагаются альфа-2 адренорецепторы. Агонистом данного типа рецепторов является широко известный препарат клонидин [5].

В связи с этим представляет интерес уточнение вопроса о реакции клеток глиальных опухолей при контакте их мембраны с раствором, содержащим разные концентрации клонидина.

Цель: определить влияние клонидина на процессы пролиферации и жизнедеятельность клеток глиальной опухоли головного мозга.

Задачи:

1. Провести аппликации клонидина на культуру опухолевых клеток;
2. Оценить пролиферативную активность и жизнеспособность опухолевых клеток после воздействия клонидина;
3. Проанализировать результаты исследования.

Материал и методы. Исследование было проведено на базе лаборатории нейрофизиологии ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси».

Для исследования использовалась перевиваемая культура клеток крысиной глиомы С6, полученная из Российской коллекции клеточных культур позвоночных (Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург) (рисунок 2).

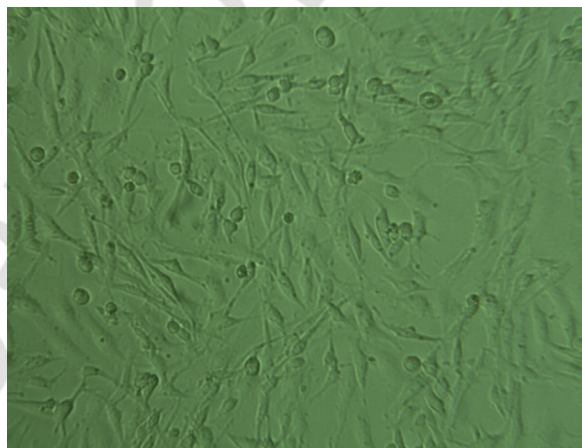


Рис. 2 - Микроскопическое изображение интактных клеток глиомы С6 крысы

Клетки глиомы культивировали (концентрация $2,0 \times 10^5$ клеток/мл) в чашках Петри с диаметром основания 30 мм в среде F10 (среда с глутамином, пируватом натрия, глюкозой, без NERES). В среду добавляли 10%-ную эмбриональную бычью сыворотку и раствора гентамицина сульфата в концентрации 10^{-4} мг/мл [6].

Чашки Петри помещали в CO_2 -инкубатор (ShellLab Series 3517, США) при 5% CO_2 и температуре $37^\circ C$. Через 24 часа после начала культивирования клеток добавляли в центральную часть чашки Петри клонидин в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл.

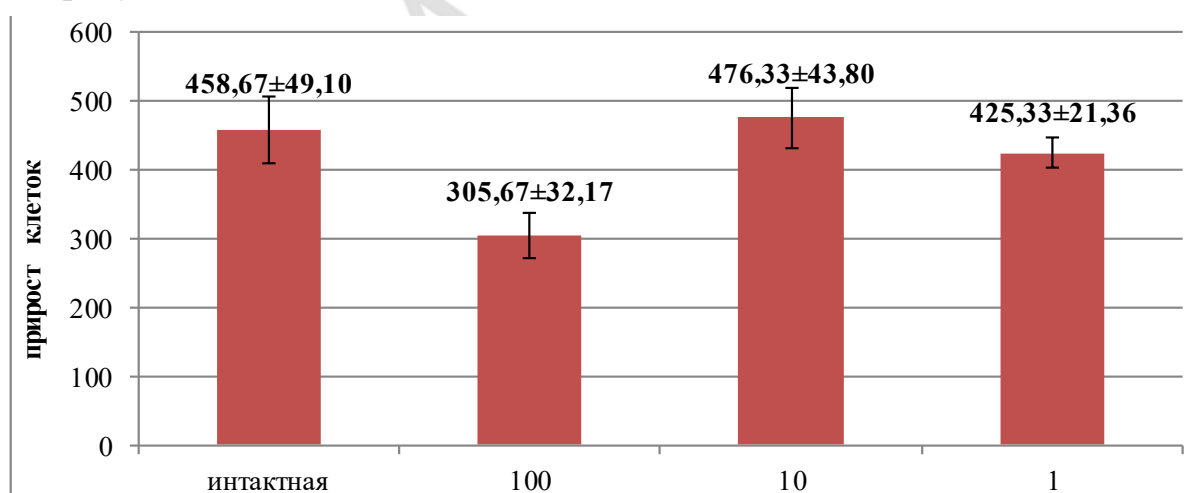
Для сравнения результатов использовали 4 чашки Петри:

- 1 чашка – интактная культура клеток (контроль);
- 2 чашка – аппликация в центральную часть чашки Петри клонидина в концентрации 100 мкг/мл;
- 3 чашка - аппликация в центральную часть чашки Петри клонидина в концентрации 10 мкг/мл;
- 4 чашка - аппликация в центральную часть чашки Петри клонидина в концентрации 1 мкг/мл.

Жизнеспособность клеток глиомы С6 после аппликации клонидина оценивалась на микроскопе Opton ISM-405 (Германия) путем подсчёта количества клеток. Для этого культуру клеток предварительно окрашивали трипановым синим, при этом жизнеспособные клетки не окрашивались.

Изменение пролиферативной активности клеток оценивалась путем анализа прироста клеточной массы. Для этого до начала эксперимента осуществляли фотографирование в месте метки трех случайно выбранных полей. Через 24 часа после аппликации клонидина осуществляли также фотографирование трех случайно выбранных полей.

Результаты и их обсуждение. При аппликации раствора клонидина в концентрации 100 мкг/мл пролиферативная активность опухолевых клеток значительно снизилась ($p < 0,05$) (в интактной группе прирост клеточной массы составил $458,67 \pm 49,10$ клеток, в группе 100 мкг/кг – $305,67 \pm 32,17$ клеток). А при добавлении раствора клонидина в концентрациях 1 и 10 мкг/мл пролиферативная активность не изменилась значительно (в группе 1 мкг/кг прирост клеточной массы составил $425,33 \pm 21,36$ клеток, в группе 10 мкг/кг – $476,33 \pm 43,80$ клеток). Таким образом, можно заключить, что влияние клонидина на пролиферативную активность клеток имеет дозозависимый эффект (рисунок 3).

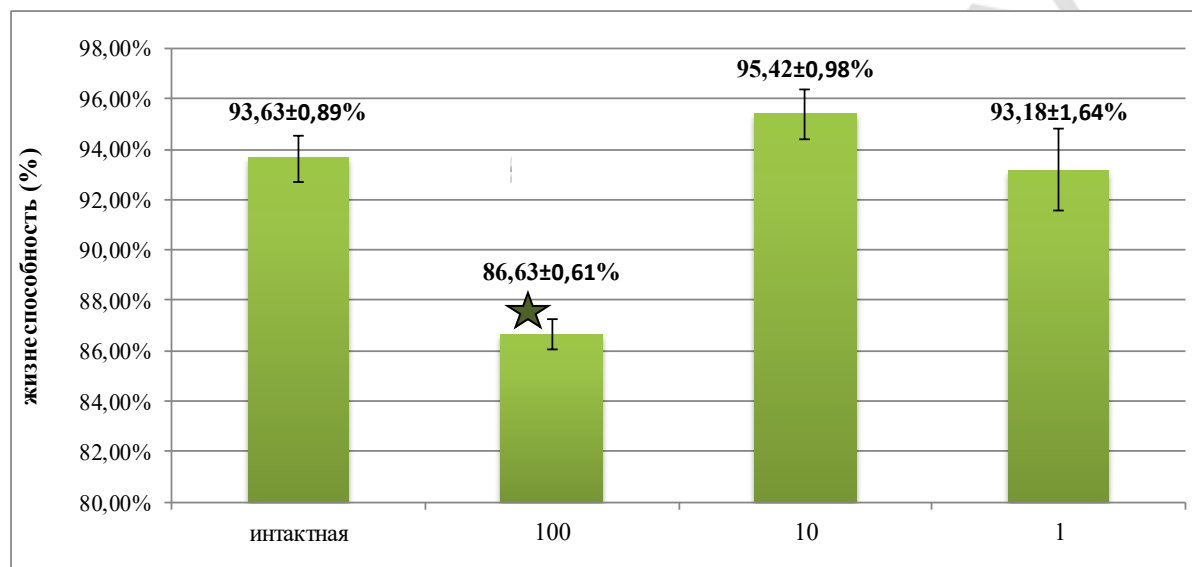


★ - $p < 0,05$ – различия статистически значимы

Рис. 3 - Изменение пролиферативной активности клеток после аппликации клонидина в различных концентрациях

Аналогичная тенденция выявлена и при оценке жизнеспособности после аппликации раствора клонидина в различных концентрациях. Так установлено, что внесение раствора клонидина в культуральную среду в концентрации 100 мкг/мл значительно снижает жизнеспособность опухолевых клеток по сравнению с интактными

клетками ($p < 0,05$) (в интактной группе жизнеспособность составила $93,63 \pm 0,89\%$, в группе 100 мкг/кг – $86,63 \pm 0,61\%$). А при добавлении раствора клонидина в концентрациях 1 и 10 мкг/мл жизнеспособность практически не изменилась (в группе 1 мкг/кг жизнеспособность составила $93,18 \pm 1,64\%$, в группе 10 мкг/кг – $95,42 \pm 0,98\%$) (рис. 4).



★ - $p < 0,05$ – различия статистически значимы

Рис. 4 - Изменение жизнеспособности клеток после аппликации клонидина в различных концентрациях

Таким образом, выявлены новые фармакологические эффекты клонидина, которые определяют его потенциальную эффективность в терапии глиальных опухолей и требуют дальнейшего изучения.

Выводы:

1 В эксперименте было изучено воздействие клонидина на культуру клеток крысиной глиомы С6. Исходя из полученных результатов следует, что раствор клонидина в концентрации 100 мкг/мл достоверно снижает жизнеспособность и пролиферативную активность опухолевых клеток.

2 Целесообразно продолжить изучение фармакологического действия клонидина на опухолевые клетки с целью возможного использования в терапии злокачественных новообразований.

Литература

1. Здравоохранение в Республике Беларусь [Электронное издание]: офиц. стат. сб. за 2017 г. — Минск: ГУ РНМБ, 2018. — 274 с.: табл.
2. Гольш, Н.Н. Опухоли головного мозга и нарушения мозгового кровообращения / Н.Н. Гольш, З.П. Крушинская // Современные проблемы нейрохирургии. - Л., 1977. – С.19.
3. Kiseleva E. V. Определение границы инфильтративно растущей опухоли на модели глиомы крысы методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии: пилотное исследование / E. V. Kiseleva и др. // Современные технологии в медицине. – 2018. – № 1. – С. 6-14.
4. Watkins S. Disruption of astrocytevascular coupling and the blood-brain barrier by invading glioma cells / S. Watkins // Nature Commun. – 2014. – Vol. 5. – P. 4196.

5. Токальчик Д. П. Эффекты клофелина при аппликации на слизистую оболочку полости носа наркотизированных крыс / Д. П. Токальчик, Ж. А. Гладкова // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя хімічных навук. – 2015. – № 2. – С. 86-88.

6. Буравлев, В.М. Руководство по культивированию нервной ткани. Методы, техника, проблемы / В. М. Буравлев [и др.]; отв. ред. Б. Н. Вепринцев. – М.: Наука, 1976. – 352 с.

Репозиторий БГМУ