

*Д. А. Готкович, В. В. Гутник*  
**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ  $\alpha_2$ -АДРЕНОМИМЕТИКОВ**

*Научные руководители: ассист. Т. А. Казак,*

*канд. биол. наук 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  $\alpha_2$ -ADRENOMIMETICS**

*Tutors: assistant T. A. Kazak,*

*PhD in Biology M. O. Dosina\**

*Department of Pharmacology,*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

*\*Institute of Physiology, NAS of Belarus, Minsk*

**Резюме.** Большое значение имеет разработка и внедрение новых методов лечения онкологических заболеваний. В настоящей работе представлено исследование противоопухолевой активности альфа2-адреномиметиков на примере клонидина.

**Ключевые слова:** клонидин, опухоль, жизнеспособность, эффективная концентрация.

**Resume.** 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, 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.

Среди множества новообразований весьма актуальными являются новообразования центральной нервной системы. Глиомы являются злокачественными формами опухолей головного мозга и составляют около 30% всех новообразований [1]. Глиома является одним из самых опасных новообразований из-за плохой реакции на лечение, высокой частоты рецидивов и низких показателей продолжительности жизни.

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 [2].

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.

**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).

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].

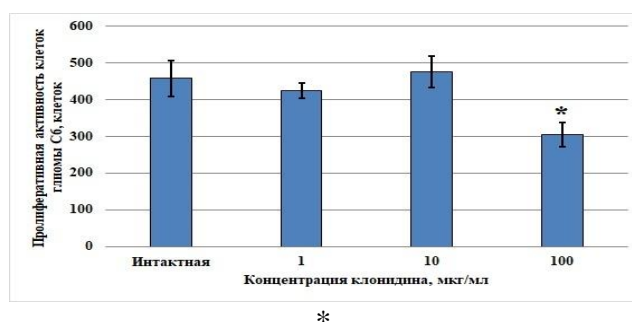
Чашки Петри помещали в  $\text{CO}_2$ -инкубатор (ShellLab Series 3517, США) при 5%  $\text{CO}_2$  и температуре  $37^\circ\text{C}$ . Через 24 часа после начала культивирования клеток добавляли в центральную часть чашки Петри клонидин в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл.

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.

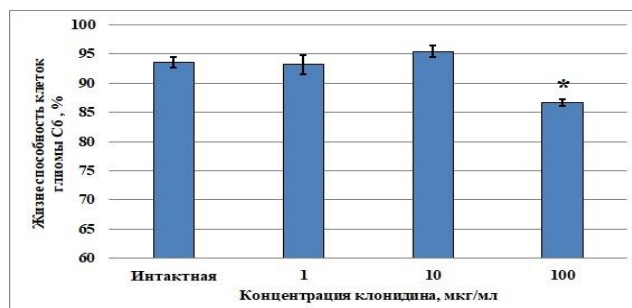
**Результаты и их обсуждение.** При аппликации раствора клонидина в концентрации 100 мкг/мл пролиферативная активность опухолевых клеток значительно снизилась ( $p < 0,05$ ) (в интактной группе прирост клеточной массы составил  $458,67 \pm 49,10$  клеток, в группе 100 мкг/мл –  $305,67 \pm 32,17$  клеток).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



**Рис. 1** – Изменение пролиферативной активности клеток после аппликации клонидина в различных концентрациях (\* –  $p < 0,05$  – различия статистически значимы)

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  $100 \text{ мкг/кг}$  –  $86,63 \pm 0,61\%$ ). А при добавлении раствора клонидина в концентрациях  $1$  и  $10 \text{ мкг/мл}$  жизнеспособность практически не изменилась (в группе  $1 \text{ мкг/кг}$  жизнеспособность составила  $93,18 \pm 1,64\%$ , в группе  $10 \text{ мкг/кг}$  –  $95,42 \pm 0,98\%$ ) (рисунок 2).



**Рис. 2** – Изменение жизнеспособности клеток после аппликации клонидина в различных концентрациях (\* –  $p < 0,05$  – различия статистически значимы)

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

**Заключение.** В эксперименте было изучено воздействие клонидина на культуру клеток крысиной глиомы С6. Исходя из полученных результатов следует, что раствор клонидина в концентрации  $100 \text{ мкг/мл}$  достоверно снижает жизнеспособность и пролиферативную активность опухолевых клеток. Целесообразно продолжить изучение фармакологического действия клонидина на опухолевые клетки с целью возможного использования в терапии злокачественных новообразований.

**Информация о внедрении результатов исследования.** По результатам настоящего исследования опубликовано 13 статей в сборниках материалов, 6 тезисов докладов, получено 2 акта внедрения в образовательный процесс (кафедра фармакологии, Белорусский государственный медицинский университет, кафедра патологической физиологии, Белорусский государственный медицинский университет).

### Литература

1. Гутник, В. В. Жизнеспособность клеток глиомы С6 крыс при аппликации клонидином / В. В. Гутник, Д. А. Готкович, С. Н. Чепелев // Актуальные вопросы медицинской науки: 3-ей Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки», посвященная 75-летию Ярославского государственного медицинского университета. – Ярославль, издательство «Аверс ПЛЮС», 2019. – С. 72.
2. Киселева Е. В. Определение границы инфильтративно растущей опухоли на модели глиомы крысы методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии: пилотное исследование / Е. В. Киселева // Современные технологии в медицине. – 2018. – № 1. – С. 6-14.