

# ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ И ИНГИБИРУЮЩЕЙ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ФИТОЛЕКТИНОВ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ IN VITRO

Л.Н. Николаевич, К.Н. Саунина, И.В. Руденкова  
Институт физиологии НАН Беларуси  
e-mail: [nikolarisa@tut.by](mailto:nikolarisa@tut.by)

**Введение.** Большинство используемых в онкологии препаратов растительного происхождения характеризуются высокой токсичностью и относительно слабой избирательностью действия. В связи с этим актуализируется необходимость поиска противоопухолевых средств, сочетающих высокую селективность и низкую токсичность. Одним из возможных подходов является использование полипептидов семейства фитолектинов. Лектины относятся к группе протеинов, характерной особенностью которых является способность специфически и обратимо связывать углеводные лиганды. [1]. При опухолевом процессе отмечают тенденцию к утрате дисахарида N-ацетилнейраминавая кислота – N-ацетилглюкозамин (NAcNeu-NAcGlc) – рецептора к лектину проростков пшеницы (WGA+) и увеличению на мембранах злокачественных клеток различного происхождения рецепторов к лектину сои (SBA+), арахиса (PNA+) и чечевицы (LCL+), связывающих соответственно N-ацетилгалактозамин, D-галактозу, D-маннозу [1]. Авторами показано, что на клетках глиом различной степени анаплазии экспрессируются рецепторы ко многим лектинам [1], при повышении степени анаплазии опухолей мозга пропорционально увеличивается количество клеток глиом с рецепторами, содержащими D-маннозу, связываемую лектином чечевицы (LCL) [1]. В связи с этим, представляется перспективным использовать фитолектины в качестве основы противоопухолевых препаратов растительного происхождения. Однако более широкое использование данных биомолекул в диагностике и терапии ограничивается недостаточными знаниями об их безопасности, механизме действия и эффективности на различные клеточные популяции опухолевых клеток.

Цель исследования – изучение особенностей цитотоксического действия лектинов на пролиферацию опухолевых клеток *in vitro*.

**Методы исследования.** Эксперименты проводили на модели *in vitro* – клеточные линии HeLa (карцинома шейки матки человека), С6 (глиома крысы), FL<sub>v</sub> (амниона человека), HepG2 (карцинома печени человека), Э138 (эпендимомы человека) и Э138 к/к (клон эпендимомы человека). Клетки культивировали в среде DMEM с F12 с добавлением 10% ЭТС в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> и температуре 37°C. Выживаемость клеток изучали методом МТТ-теста [2]. Для постановки эксперимента клетки высевали в 96-луночные планшеты в концентрации 500 000 клеток/мл по 100 мкл суспензии в лунку. Через сутки вводили в различных дозах исследуемые лектины. Спустя 24 часа в каждую лунку вносили раствор МТТ-красителя и инкубировали 4 часа, затем среду отбирали, образовавшийся формазан растворяли в диметисульфоксиде.

Оптическую плотность раствора формазана измеряли на ИФА-ридере при длине волны 505 нм. Выживаемость клеток рассчитывали согласно рекомендациям [2]. Ингибирующую антипролиферативную активность фитолектинов оценивали на модели *in vitro*. Лектины сои (SBA<sup>+</sup>), арахиса (PNA<sup>+</sup>), чечевицы (LCL<sup>+</sup>) и канавалии мечевидной (Con A<sup>+</sup>), связывающих соответственно N-ацетилгалактозамин, D-глюкозу и D-маннозу, вводили в монослойные культуры клеточных линий в дозах 20 и 40 мкг/лунку 24-луночных планшетов. Ингибирующую антипролиферативную активность рассчитывали по формуле [4]. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Excel и Statistica 7.0.

**Результаты и обсуждение.** Изучены особенности прямого цитотоксического действия лектинов сои (SBA<sup>+</sup>), арахиса (PNA<sup>+</sup>), чечевицы (LCL<sup>+</sup>), канавалии мечевидной (Con A<sup>+</sup>) на клетки различных клеточных линий *in vitro* в тестах с трипановым синим и по результатам колориметрического МТТ-метода. Установлено, что различные растительные лектины, взаимодействуя с опухолевыми клетками, могут вызывать как их гибель, так и повышать пролиферацию. Наиболее выраженный цитотоксический эффект действия лектинов на опухолевые клетки наблюдается при воздействии лектинов Con A, SBA, LCL. Показано, что диплоидные клетки амниона человека (клеточная линия FL) не чувствительны к воздействию фитолектинов.

Также выявлены различия в чувствительности опухолевых клеток эндимомы (опухоль головного мозга человека) и их клонов *in vitro*. Выявлено, что клоногенные опухолевые клоны в клонах *in vitro* наиболее чувствительны к лектинам из чечевицы и канавалии мечевидной и их выживаемость по отношению к контролю составляет 37- 44 %.

Показано, что лектин из сои, характеризуется высокой ингибирующей антипролиферативной активностью при воздействии в дозе 40 мкг на опухолевые клетки HeLa, HepG2, Э138 и Э138к/к .

**Заключение.** Результаты исследований свидетельствуют о том, что противоопухолевые свойства фитолектинов могут быть использованы для разработки лекарственных средств растительного происхождения.

### *Литература*

1. Лисяный Н.И. и др. Изучение противоопухолевого действия растительных лектинов на клетки глиом различной степени анаплазии // Український нейрохірургічний журнал – 2009, № 1. – С. 30-36.

2. Черепович В.С. и др. Оптимизация критических параметров МТТ-теста для оценки клеточной и лекарственной цитотоксичности // Медицинский журнал. - 2006. - № 2. - С. 106-108.

3. Балакина А.А. и др. Оценка цитотоксического действия экстрактов из лекарственных растений на клеточную линию HeLa // АгроЭкоИнфо. – 2015, № 5. – С. 5–12.

4. Таран А. С., Чепляева Н.И. Методы оценки дипептидилпептидаза-4 ингибирующей активности *in vitro*// Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2014. – С. 26 – 29.