



Мухаббатхон КАЛАНОВА,
Магистрантка Национального университета Узбекистана
E-mail: abbashanovamuhabbathon@gmail.com

Зайнат ХАШИМОВА,
Д.б.н., с.н.с. ИБОХ АН РУз

Камола КАХАРОВА,
PhD, с.н.с. ИБОХ АН РУз

Малика САЛАХУТДИНОВА,
м.н.с. ИБОХ АН РУз

Дилноза АМОНОВА,
PhD, с.н.с. ИБОХ АН РУз

Аббасхан ТУРАЕВ,
д.х.н., академик, директор ИБОХ АН РУз

Алишер МУХТОРОВ,
PhD, старший преподаватель кафедры ФЧЖ НУУз

На основе рецензии кандидата биологических наук, доцента кафедры физиологии человека и животных НУУз им. М.Улугбека Джаббаровоной Г.М.

POLISAXARIDLARNING SITOTOKSIK FAOLLIGINI HUYAYRA LINIYASIDA O'RGANISH

Annotatsiya

Ushbu maqolada HeLa va Akat uzluksiz hujayra liniyalarida an'anaviy o'smaga qarshi dorilar bilan polisaxaridlarning murakkab birikmalarining sitotoksik faolligi to'g'risida ma'lumotlar keltirilgan.

Kalit so'zlar: polisaxaridlar, sitostatik, sitotoksiklik, hujayra liniyasi, dokсорубитсин.

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИСАХАРИДОВ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

Аннотация

В статье приведены данные о цитотоксической активности комплексных соединений полисахаридов с конвенциональными противоопухолевыми препаратами на перевиваемой линии клеток HeLa и Akat.

Ключевые слова: полисахариды, цитостатик, цитотоксичность, культура клеток, доксорубин.

STUDYING THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF POLYSACCHARIDES IN CELL CULTURE

Annotation

This article presents information about the cytotoxic activity of complex compounds of polysaccharides with conventional antitumor drugs on a continuous cell lines HeLa and Akat.

Key words: polysaccharides, cytostatic, cytotoxicity, cell culture, doxorubicin.

Введение. Злокачественные новообразования, относящиеся к социально значимым заболеваниям, представляют одну из наиболее острых и важных проблем как для медицины, так и для фармацевтики, которые занимаются лечением и поиском эффективных средств борьбы с ними.

Несмотря на огромный арсенал средств для лечения онкологических больных, передовые методы лечения, химиотерапия остаются основной частью лечения данного заболевания. В настоящее время в ведущих институтах и научных центрах мира, одним из приоритетных направлений научных исследований в области химиотерапии опухолей является преодоление множественной лекарственной устойчивости, так как противораковые лекарства с течением времени оказались не эффективными из-за развития свойства резистентности опухоли по отношению к последним. Более того, многие препараты токсичны и проявляют побочные действия, т.е. плохо всасываются, поражают органы, такие как печень, почки и т.д.

Актуальность. В связи с вышеприведенными данными основной задачей химиотерапии опухолей является поиск, отбор биологически активных соединений растительного происхождения, в частности, полисахаридов [1,2] и создание на их основе макромолекулярных соединений с конвенциональными противоопухолевыми препаратами направленного противоопухолевого действия для дальнейшей разработки на их основе противоопухолевых систем таргетной доставки [3].

Исследования ведутся по нескольким основным направлениям. Одним из приоритетных направлений является адекватная система скрининга для отбора среди большого количества вновь полученных соединений биологически активные вещества, включая противоопухолевые. Такой системой является культура клеток [4].

Целью исследования является изучение цитотоксической активности комплексных соединений полисахаридов с конвенциональными противоопухолевыми препаратами на перевиваемой линии клеток HeLa и Akat.

Материалы и методы. Низкомолекулярные олигосахариды галактоманнана, комплексные соединения их с конвенциональными противоопухолевыми препаратами были получены и охарактеризованы в лаборатории биологически активных макромолекулярных систем [5].

Для получения комплексных соединений с олигосахаридами галактоманна были использованы противоопухолевые препараты доксорубин – противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда и фторурацил – противоопухолевый препарат из группы антиметаболитов, антагонистов пиримидинов.

HeLa – это «бессмертные» клетки, применяемые во множестве научных исследований в области биологии и фармакологии (рис. 1). Линия клеток HeLa была получена в 1951 году из раковой опухоли шейки матки пациентки по имени Генриетта Лакс (Henrietta Lacks), в честь которой клетки были названы так. Эти клетки, имитирующие организм человека *in vitro* «вечно» — они могут бесконечно делиться, результаты исследований с их использованием достоверно воспроизводятся в разных лабораториях. На поверхности клеток HeLa имеется универсальный набор рецепторов, что позволяет использовать их для исследования действия различных биологически активных веществ, от простых неорганических до

Эти клетки оказали значительное влияние в разработке вакцины от полиомиелита, в исследовании онкологических заболеваний, составлении генетических карт и решении множества других медико-биологических проблем.

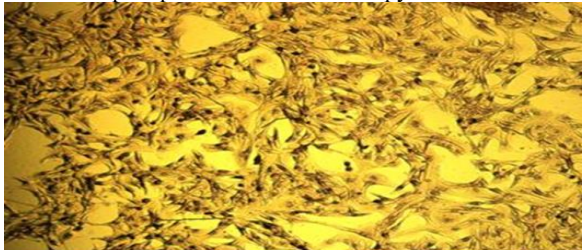


Рисунок 1 Клетки HeLa белков [6].

Клетки Акат выведены доктором биологических наук, старшим научным сотрудником З.С. Хашимовой с сотрудниками Института биоорганической химии им. академика А.С.Садыкова АН РУз из аденокарциномы тонкого кишечника мыши [7]. Клетки многоугольные, с ярко выделенными ядрами и похожи на эпителиальные клетки (рис. 2). Форма ядра овально-округлая и имеет две или три ядрышки. Клетки плотно прилегают к субстрату и к концу фазы роста образуют сплошной монослой. «Культура клеток Акат может быть использована для скрининга широкого круга биологически активных веществ, а также изучения механизма

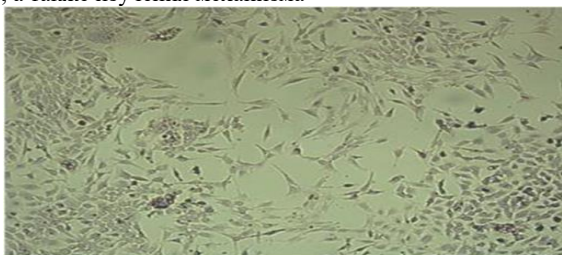


Рисунок 2 Клетки Акат действия веществ на клетки.»

Для определения цитотоксического действия галактоманна, цитостатиков и их комплексов, клетки рассеивали в 96-луночные планшеты в количестве 20-30 тыс. клеток/мл в 100 мкл среды RPMI 1640, который содержит глютамин, антибиотик - антимикотик с 10% сыворотки эмбриона телянка и культивировали при температуре 37°C в CO₂ – инкубаторе [8]. Через сутки вводили комплексы полисахаридов в дозах 100, 10 и 1 мкг/мл на 100 мкл среды, культивировали клетки в течение 24 часов и далее вводили в клетки МТТ- 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н тетразолновый краситель, который под воздействием ферментов митохондрий приобретает синюю окраску [9]. После часовой инкубации среду осторожно сливали, добавляли ДМСО и инкубировали 20 мин., затем измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 620нм [10].

Контролем были клетки без воздействия веществ. В качестве положительного контроля использовали цисплатин. «Цисплатин - синтетический противоопухолевый препарат, обладает свойствами бифункциональных алкилирующих агентов, образующих межнитевые и внутринитевые шивки в ДНК, тем самым нарушая ее функции, что приводит к гибели клеток [11].»

Результаты и их обсуждение. Ранее в лаборатории биологически активных макромолекулярных систем получены и охарактеризованы низкомолекулярные полисахариды, получены модифицированные цитотоксическими соединениями макромолекулярные комплексы различной конформации, связанные с цитотоксическими соединениями посредством различных химических связей.

В данной работе проведен скрининг некоторых полученных соединений в культуре клеток для выявления перспективных соединений.

Нами изучена цитотоксическая активность препаратов доксорубин, фторурацил, тозилхлорид и олигосахарид галактоманна на клеточной линии HeLa. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Действие веществ на перевиваемую клеточную линию HeLa

Образцы	мкг/мл	Подавление включения МТТ в клетки, %	
		100	10
Галактоманн (Г)		0 (105)	0 (100)
Доксорубин (Д)		76,4	34,2
Фторурацил (Фу)		82,3	28,5
Тозилхлорид (ТзСл)		38,6	38,7

Как следует из данных таблицы на клетках HeLa галактоманнан не проявляет цитотоксическую активность. Цитотоксическая активность при дозах 100 и 10 мкг/мл для доксорубина составила 76,4 % и 34,2%, фторурацила 82,3% и 28,5%, и тозилхлорида 38,6% и 38,7%, соответственно.

Изучено действие нижеследующих комплексных соединений на клетках HeLa. Данные приведены в таблице 2.

Таблица 2

Действие комплексных соединений на перевиваемую клеточную линию HeLa

Образцы	мкг/мл	Подавление включения МТТ в клетки, %	
		100	10
Г - Д		77,6	82,3
Г - Фу		56,4	27,3
Г - TsCl		180	130
Цисплатин		87,8	54,2

Как следует из данных таблицы 2, комплекс Г-Д при дозах 100 и 10 мкг/мл проявляет цитотоксическую активность в пределах 77,6 и 82,3, причем в низких дозах (10 мкг/мл) более подавляет рост клеток. Комплекс Г- Fu подавляет рост клеток на 56,4% и 27,3%, комплекс Г- TsCl наоборот стимулировал пролиферацию клеток и активность клеток в пределах 180% и 130%.

На клетках Акат галактоманнан проявил незначительную цитотоксическую активность в пределах 10-15%. Клетки Акат оказались менее чувствительным к доксорубину. Цитотоксическая активность находилась в пределах 52-57%. Комплексы также проявили небольшую цитотоксическую активность.

Вывод. Таким образом нами установлено, что наибольшую цитотоксическую активность проявил комплекс Г-Д, причем в низких дозах активность более выражена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Thetsrimuang, C.; Khammuang, S.; Chiablaem, K.; Srisomsap, C.; Sarnthima, R. Antioxidant properties and cytotoxicity of crude polysaccharides from *Lentinus polychrous* Lév. // *Food Chem.* 2011, 128, 634–639.
2. Zhao, T.; Yang, M.; Ma, L.; Liu, X.; Ding, Q.; Chai, G.; Lu, Y.; Wei, H.; Zhang, S.; Ding, C. Structural Modification and Biological Activity of Polysaccharides // *Molecules* 2023, 28, 5416.
3. Сафонова Е.А. Экспериментальное обоснование применения полисахаридов *Tussilago Farfara* L. В комплексной терапии опухолей // автореферат DS, 2021, Томск.
4. Ekwall B. Silano V., Paganuzzi-Stammati., Zucco F. Toxicity tests with mammalian cell cultures // *Short-term toxicity tests for non-genotoxic effects.* – 1990. – P. 75 - 98.
5. Амонова Д.М. Синтез и исследование макромолекулярных систем на основе галактоманнанов, обладающих противоопухолевой активностью // автореферат PhD, 2020, Ташкент.
6. Balan V., Nangia-Makker P., Raz A. Galectins as cancer biomarkers // *Cancers (Basel).* –2010. Vol. 2, № 2. –P. 592–610.
7. Хашимова З.С., Кахорова К.А., Сагдиев Н.Ж., Ибрагимов Ф.А., Берсенева Ю.В., Тураев А.С., Салихов Ш.И. Штамм культивируемых клеток рака тонкой кишки мышей АКАТ, клон E7 // Патент на изобретение РУз №IAP 05428 от 06.06.2017.
8. Хашимова З.С., Кахорова К.А., Салахутдинова М.Б., Ощепкова Ю.И., Салихов Ш.И. Выведение и культивирование перевиваемой культуры клеток // Учебно-методическое пособие, 2024, Ташкент.
9. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays// *J. Immunological Methods.* - USA, 1983. - Vol. 65. - P. 55-63.
10. Niks M. Towards an optimized MTT assay // *J. Immunological Methods.* 1990. - Vol. 130. - P. 149-151.
11. А.А.Вартанян, М.В.Огородникова Молекулярные механизмы действия препаратов платины // *Российский биотерапевтический журнал*, 2004, Москва.