

ВЛИЯНИЕ НАНОПРЕПАРАТА «СЕЛЕН» НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА (IN VIVO)

Проведено изучение противоопухолевой активности нанопрепарата «селен», применяемого в различных дозах у 40 беспородных мышей с перевитой внутрибрюшинно-асцитной карциномой Эрлиха. Оценивали объем асцитной жидкости, количество опухолевых клеток в 1 мл, продолжительность жизни, степень торможения роста опухоли и увеличение продолжительности жизни при внутрибрюшинном введении наноконпозита «Селен» при однократном применении через 24 часа после перепрививки. Эффекты сравнивали с асцитной карциномой Эрлиха. Отмечалось противоопухолевое действие нанопрепарата «Селен». Доказана перспективность дальнейшего изучения наноконпозита «Селен» с целью применения в качестве противоопухолевого средства.

Ключевые слова: арабиногалактан, нанопрепарат «Селен», асцитная карцинома Эрлиха, перепрививка, мыши, клетки.

E.A. Lozovskaya, I.I. Silkin, B.G. Sukhov

THE INFLUENCE OF THE NANO-PREPARATION «SELENIUM» ON THE FUNCTIONAL CONDITION OF CELLS OF THE EHRlich ASCITECARCINOMA (IN VIVO)

The study of the antineoplastic activity of the nano-preparation "Selenium" applied in various doses in 40 non-purebred mice with the intertwined intra-abdominal-ascite carcinoma of Ehrlich is carried out. The ascite liquid volume, the tumor cell quantity in 1 ml, the life duration, the extent of tumor growth inhibition and the increase in life duration at the intra-abdominal introduction of the nanocomposite "Selenium" in the single introduction in 24 hours after a re-inoculation were assessed. The effects were compared to the ascite carcinoma of Ehrlich. The antineoplastic action of the nano-preparation "Selenium" was noted. The perspective of the further research of the nanocomposite "Selenium" for the purpose of application as the antineoplastic preparation is proved.

Key words: arabinogalactan, nano-preparation "Selenium", ascite carcinoma of Ehrlich, re-inoculation, mice, cells.

Введение. Арабиногалактан – вещество, относящееся к группе полисахаридов, содержащееся в хвойных видах древесины. Арабиногалактаны содержатся практически во всех видах хвойных деревьев, их объединяет то, что все они обладают галактоновым кором, включающим боковые цепи, которые представлены преимущественно галактозой и арабинозой, в некоторых случаях еще галактуроновой и глюкуроновой кислотами [1, 7, 9]. Широкая биологическая активность арабиногалактанов связана, по-видимому, с широким спектром молекулярных масс, поскольку физиологическая активность хорошо коррелирует с величинами молекулярных масс. Например, низкомолекулярные арабиногалактаны (5000–15000) проявляют антикомплементарную активность, средней массы (15000–50000) – усиливают активность макрофагов, а высокомолекулярные полисахариды (75000–250000) стимулируют ретикулоэндотелиальную систему. Установлена противоопухолевая активность арабиногалактана. Он ингибирует рост и способствует разрушению клеток некоторых видов злокачественных опухолей [4, 5, 8].

Особый интерес представляют наноконпозитные препараты арабиногалактана и различных химических элементов. Как правило, при лечении той или иной патологии в организм больного вводится значительно большее количество веществ, чем необходимо для данной патологии органа или ткани. Такой подход к лечению заболеваний обуславливает проникновение лекарственных веществ в здоровые органы, ткани и клетки, что зачастую вызывает токсический эффект.

В связи с этим в медицине все большую популярность приобретают разработки адресной системы доставки лекарственных веществ с помощью наночастиц, вирусных частиц, липосом и т. п. [2, 3]. Данная идея новой системы доставки лекарственных веществ принадлежит онкологам. Известно, что препараты, применяемые для лечения онкологических заболеваний, характеризуются высокой степенью токсичности, а молекулы – высокой реакционной способностью. Поэтому стало необходимым создание особых систем направленной доставки, обеспечивающих, с одной стороны, физическую изоляцию активного начала от внешней среды на пути к мишени, а с другой – его высвобождение в пораженном участке или внутри него [6]. Положительные результаты показали наноконъюгатный препарат арабиногалактана и селена при токсическом повреждении печени [2].

Цель исследования: явилось комплексное изучение биологического действия нанопрепарата «Селен» на культуру клеток асцитной карциномы Эрлиха для возможного использования в будущем данного препарата при лечении онкологических заболеваний у животных.

Материал и методы исследования. Эксперименты были проведены в осенне-зимний период на белых нелинейных мышах массой тела 20 г, разводимых в питомнике Федерального государственного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Россия, Новосибирская область, поселок Кольцово), ветеринарный сертификат 254 № 0336050 от 28 июля 2010 г.

Животные были разделены на 4 группы. Всем животным внутрибрюшинно вводили культуру перепрививаемого штамма асцитной карциномы Эрлиха в дозе 3×10^8 клеток в 0,2 мл физиологического раствора. Первой контрольной группе вводили только культуру перепрививаемого штамма асцитной карциномы Эрлиха. Второй группе после перепрививки через 24 ч вводили внутрибрюшинно наноселен (нано-Se) однократно в дозе 2,5 мг Se на 1 кг живой массы из расчета 9,7 % содержания Se в наноконъюгатном препарате. Третьей группе животных вводили наноселен в дозе 5 мг селена на 1 кг живой массы, четвертой опытной группе вводили наноконъюгат в дозе 7,5 мг селена на 1 кг живой массы.

Положительный эффект лечения оценивали по снижению объема асцитной жидкости, увеличению продолжительности жизни лабораторных животных и уменьшению количества клеток карциномы Эрлиха в асцитной жидкости. Подсчет клеток вели в камере Горяева в пяти больших квадратах, предварительно асцитную жидкость разводили в 0,9 %-м растворе натрия хлорида в соотношении 1:25.

Все исследования выполнены в соответствии с этическими требованиями по работе с экспериментальными животными, которые изложены в следующих регламентирующих документах: «Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации» (2000); «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005); «Правила лабораторной практики» (приложение к Приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708 от 23 августа 2010 г.)

Результаты исследований. Существующие литературные данные и собственные исследования *in vitro*, свидетельствующие о цитотоксическом действии Se и арабиногалактана, позволили нам выдвинуть гипотезу, что позитивный эффект при введении наноконъюгатного препарата селена определяется адресной доставкой Se в онкоклетки при помощи арабиногалактана, что и определяет цитотоксическую активность.

День взятия материала определяли периодом логарифмического увеличения числа клеток (лог-фаза роста опухоли – 7–12-й день) после появления опухоли в организме, которым явился 10-й день с момента прививки.

Из результатов, представленных в таблице 1, можно видеть, что наблюдается тенденция к снижению объема асцитной жидкости и количества клеток карциномы в опытных группах по сравнению с контрольной группой (рис. 1, 2). Также отмечается увеличение продолжительности жизни онкобольных мышей. Другими словами, наноконъюгатный препарат селена обладает цитотоксиче-

скими свойствами по отношению к клеткам перепрививаемой асцитной карциномы Эрлиха, не давая интенсивно развиваться раковому процессу.

Сравнительный анализ между контрольными группами показывает, что при введении нанопрепарата селена в дозе 5 мг селена на 1 кг массы наблюдается самый высокий уровень продолжительности жизни мышей. В опытной группе № 4 с дозой препарата 7,5 мг селена на 1 кг массы показаны очень хорошие результаты по уменьшению асцитной жидкости и наивысшей степени торможения роста опухоли, но продолжительность жизни у животных данной группы наименьшая по сравнению с другими опытными группами.

Влияние нанокompозита селена на развитие асцитной карциномы Эрлиха

Срок забора материала	Группа экспериментальных животных	Исследуемый параметр				
		Объем асцитной жидкости, мл	Кол-во клеток карциномы Эрлиха в 1 мл асцитной жидкости	Торможение роста опухоли, %	Продолжительность жизни, дней	Увеличение продолжительности жизни, %
10-й день с момента прививки АКЭ	Опытная группа № 1 (контрольная группа)	5,5 ± 0,58	52537,5 ± 7073,87	-	15,6 ± 0,67	-
	Опытная группа № 2 (доза селена – 2,5 мг на 1 кг)	1,8 ± 0,31*	14175 ± 2058,94*	73	22,6 ± 1,53*	44,9
	Опытная группа № 3 (доза селена – 5 мг на 1 кг)	1,3 ± 0,31*	17118,8 ± 3382,06*	67,4	22,9 ± 1,35*	47
	Опытная группа № 4 (доза селена – 7,5 мг на 1 кг)	0,8 ± 0,26*	7837,5 ± 1281,11*	85	20,2 ± 1,26**	29,5

Примечание. Разница с контролем статистически значима: *при $P < 0,001$; **при $P < 0,01$.



Рис. 1. Контрольная группа. Камера Горяева. Клетки асцитной карциномы Эрлиха (разведение ×50). Об. 10×, ок. 10×



Рис. 2. Опытная группа № 3. Камера Горяева. Клетки асцитной карциномы Эрлиха (разведение $\times 50$). Об. $10\times$, ок. $10\times$

Выводы. Наноккомпозит селена обладает противоопухолевым действием на рост карциномы Эрлиха, перепривитой внутрибрюшинно мышам-самцам. Противоопухолевые эффекты при однократном введении были значительными, но не полными. Наноккомпозит селена перспективен для дальнейшего изучения с целью клинического применения в качестве противоопухолевого средства.

Литература

1. Галактаны и галактансодержащие полисахариды высших растений / А.Г. Арбузов [и др.] // Химия природных соединений. – 2000. – № 3. – С. 185–197.
2. Карлова Е.А. Морфофункциональные изменения в печени при токсическом поражении и при его коррекции: дис. ... канд. вет. наук. – Иркутск, 2014. – 133 с.
3. Ламажапова Г.П. Морфология органов иммуногенеза нерпы байкальской и экспериментальная оценка эффективности ее липидов при различных патологиях: дис. ... д-ра биол. наук. – Улан-Удэ, 2011. – 209 с.
4. Медведев Ю.В., Толстой А.Д. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. – М.: Терра-Календер и Промоушн, 2000. – 232 с.
5. Медведева С.А., Александрова Г.П., Танцырев А.П. Гель-проникающая хроматография арабиногалактана // ИВУЗ. Лесной журнал. – 2002. – № 6. – С. 108–114.
6. Новый биологически активный препарат на основе наночастиц селена / А.Г. Храпцов [и др.] // Вестн. СевКавГТУ. – 2010. – № 4 (25). – С. 122–125.
7. Ponder G.R. Arabinogalactan from Western larch. Part III. Alkaline degeneration revisited, with novel conclusions on molecular structure // Carbohydrate Polymers. – 1997. – Vol. 34. – № 4. – P. 251–261.
8. Ueda H.A., Yamazaki C., Yamazaki M. Hydroxyl group of flavonoids affect oral anti-inflammatory activity and inhibition of systemic tumor necrosis factor-alpha production // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2004. – Vol. 68. – № 1. – P. 119–125.
9. Willfor S., Holmbom B. Isolation and characterization of water-soluble arabinogalactans from the heartwood of Norway spruce and Scots pine // Proc. 10 Int. Symp. Wood Pulp. Chem., Yokohama, Japan. – 1999 – Vol. 2. – P. 32–34.