

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-335

МЕХАНИЗМ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ
ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ГОЛОТУРИИ *CUCUMARIA DJAKONOVII*
В ОТНОШЕНИИ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА*

MECHANISM OF ANTICANCER ACTION OF TRITERPENE GLYCOSIDES FROM THE SEA CUCUMBER
CUCUMARIA DJAKONOVII AGAINST HUMAN TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER

Е. С. Менчинская, Е. А. Чингизова, Е. А. Пислягин, А. С. Сильченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

E. S. Menchinskaya, E. A. Chingizova, E. A. Pisyagin, A. S. Silchenko

Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS, Vladivostok

✉ ekaterinamenchinskaya@gmail.com

Аннотация

Рак молочной железы считается самой распространенной формой онкологических заболеваний среди женщин во всем мире. Самый неблагоприятный для больных трижды негативный рак молочной железы (линия MDA-MB-231) наиболее чувствителен к химиотерапии. Целью данного исследования была идентификация путей, запускаемых и регулируемых гликозидами, кукумариозидом A_0-1 и дьяконовиозидом А, выделенными из голотурии *Cucumaria djakonovi* в клетках MDA-MB-231.

Abstract

Breast cancer is considered to be the most common form of cancer among women worldwide. Triple-negative breast cancer is the most unfavorable for patients, but also the most sensitive to chemotherapy. The aim of this study was to identify the pathways triggered and regulated by the glycosides, cucumarioside A_0-1 and djakonovioside A, isolated from the sea cucumber *Cucumaria djakonovi* in MDA-MB-231 cells.

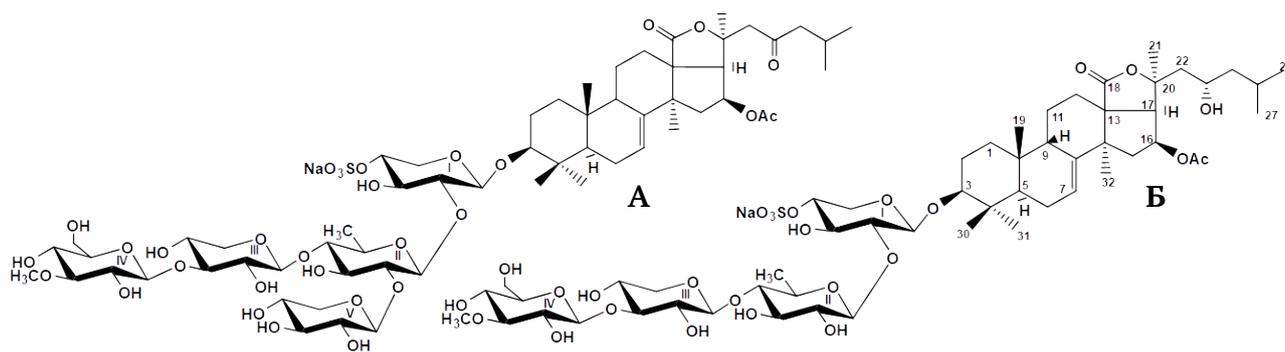
Известно, что трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) не поддается гормональному лечению из-за низкой экспрессии или полного отсутствия рецепторов к эстрогену (ER), прогестерону (PR) и эпидермальному фактору роста человека (HER2). Он обладает высоким уровнем инвазии и метастазирования в головной мозг, легкие и печень. Основным методом лечения ТНРМЖ остается химиотерапия, поэтому поиск соединений, способных заблокировать рост и прогрессирование данного вида опухолей является актуальным.

На первом этапе исследования была изучена цитотоксическая и антипролиферативная активность десяти тритерпеновых гликозидов, выделенных из голотурии *Cucumaria djakonovi*, в отношении трех линий рака молочной железы: MCF-7, T-47D и в том числе ТНРМЖ (MDA-MB-231).

Наиболее чувствительной клеточной линией оказалась MDA-MB-231, а самыми активными соединениями из серии — кукумариозид A_0-1 и дьяконовиозид А (см. рисунок), проявлявшие выраженную цитотоксическую и антипролиферативную активность в микромолярном диапазоне концентраций, с $EC_{50} \leq 10$ мкМ. Поэтому данные вещества были отобраны для установления механизмов противоопухолевого действия в отношении клеток ТНРМЖ.

Так, кукумариозид A_0-1 показал почти трехкратное увеличение активности с $EC_{50} = 6,04$ мкМ за 24 ч до $EC_{50} = 2,19$ мкМ за 72 ч инкубирования с клетками. Оба соединения достоверно блокировали формирование и рост колоний опухолевых клеток в концентрациях ниже EC_{50} . Кукумариозид A_0-1 в концентрации 0,5 мкМ ингибировал колониеобразование на 44 % по сравнению с контролем. Дьяконовиозид А тормозил рост колоний на 41 % от контроля при максимальной исследуемой концентрации 2 мкМ. Оба гликозида во всем исследуемом диапазоне концентраций ($0,05 \times 0,5$ мкМ для кукумариозида A_0-1 и $0,25 \times 2$ мкМ для дьяконовиозида А) ингибировали миграцию опухолевых клеток [1]. С помощью проточной цитометрии было изучено влияние гликозидов на блокирование клеточного цикла и индукцию апоптоза в клетках ТНРМЖ. Установлено, что кукумариозид A_0-1 в концентрациях 0,5 и 1 мкМ блокировал клеточный цикл в фазе G_2/M . В то время как дьяконовиозид А останавливал клеточный цикл в фазе S. Стимуляция клеток гликозидами в течение 24 ч достоверно увеличивала процент клеток в стадии раннего апоптоза Annexin V-FITC (+)/PI (-). Для установления участия каспаз-3/7 в индукции

* Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 23-13-00078).



Химические структуры кукумариозида A_0-1 (А) и дьяконовиозида А (Б), выделенных голотурии *Cucumaria djakonovi*

апоптоза под действием гликозидов был использован набор Muse Caspase-3/7 Kit и клеточный анализатор Muse. Доля клеток с активированными каспазами-3/7 составила 39 и 18 % при обработке кукумариозидом A_0-1 (1 мкМ) и дьяконовиозидом А (2 мкМ) в течение 24 ч, соответственно, тогда как количество апоптотических клеток в контроле составило 2,5 %. Анализ влияния тритерпеновых гликозидов на уровень АФК и мембранный потенциал митохондрий ($\Delta\psi_m$) изучался с помощью флуоресцентной спектроскопии. Показано, что оба гликозида стимулируют выработку АФК в клетках MDA-MB-231 уже через 6 ч инкубирования, снижая мембранный потенциал митохондрий ($\Delta\psi_m$). Эффект действия гликозидов зависел от дозы и времени. Деполяризация митохондриальной мембраны в результате действия кукумариозида A_0-1 и дьяконовиозида А приводила к повышению уровня Аraf-1 и цитохрома С, что, в свою очередь, стимулировало расщепление каспазы-9 и каспазы-3, что подтверждалось вестерн-блот анализом. Гликозиды оказывали влияние на уровень экспрессии белков Вах и Bcl-2, связанных с митохондриально-опосредованным путем апоптоза в клетках MDA-MB-231. Полученные результаты указывают на то, что кукумариозид A_0-1 и дьяконовиозид А запускают внутренний путь апоптоза в клетках тройного негативного рака молочной железы.

Литература

1. Silchenko A. S., Kalinovsky A. I., Avilov S. A., Popov R. S., Dmitrenok P. S., Chingizova E. A., Menchinskaya E. S., Panina E. G., Stepanov V. G., Kalinin V. I., Stonik V. A. Djakonoviosides A, A1, A2, B1–B4 — triterpene monosulfated tetra- and pentaosides from the Sea Cucumber *Cucumaria djakonovi*: the first finding of a hemiketal fragment in the aglycones; activity against human breast cancer cell // International Journal of Molecular Science. 2023. 24 (13). 11128.