



УДК 616-006:611.69:576.385.2:615.2:615.9

ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН У КЛІТИННИХ ЛІНІЯХ ССАВЦІВ ЗА ДІЇ ЕКСТРАКТІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН *IN VITRO*

Н. П. Шемедюк

Львівський національний університет
ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького
вул. Пекарська, 50, Львів 79010, Україна
e-mail: natshem@bigmir.net

У даній статті проаналізовано впливу екстрактів лікарських рослин, що містять біологічно активні речовини (БАР) – поліфенольні сполуки і терпеноїди. Домінування цих БАР зумовлює антипроліферативні та проапоптичні властивості препаратів, виготовлених на основі відповідних лікарських рослин. Оцінка морфофункціональних змін у культурі клітин ліній MDA-MB-231, 4T1, BALB 3T3 за дії екстрактів дає можливість проаналізувати перспективи застосування та спрогнозувати вплив екстрактів лікарських рослин: перстачу пряmostоячого (*Potentilla erecta*), софори японської (*Sophora japonica*) *in vivo*. Наслідком культивування клітин у середовищі з екстрактами *Potentilla erecta* (за дії 0,4 і 4 мкг/мл), *Sophora japonica* (0,44 і 4,4 мкг/мл) є поява гігантських форм клітин і проапоптичних змін у морфології клітин лінії 4T1, а також низький приріст кількості клітин у популяціях інших досліджуваних пухлинних клітин.

Ключові слова: біологічно активні речовини, лікарські рослини, культура клітин, морфологічні зміни.

ВСТУП

Моделльні тест-системи пухлинних клітин *in vitro* набули широкого використання починаючи з 1980-х років для вивчення механізму дії нових потенційних протипухлинних препаратів.

Метод клітинних культур *in vitro* дає змогу швидко, у широкому діапазоні концентрацій проводити скринінг великої кількості речовин на пухлинних клітинах тварин і людини, перш ніж переходити до проведення досліджень на тваринах (*in vivo*). Використання клітинних ліній із різним ступенем трансформованості фенотипу дає змогу здійснити експрес-оцінку селективності дії потенційного протипухлинного препарату щодо пухлинних клітин із мінімальними затратами часу та ресурсів [9].

Під час терапії злоякісних новоутворень неможливо уникнути побічної дії хіміотерапевтичних агентів на організм пацієнта, оскільки більшість застосову-

ваних на сьогодні протипухлинних засобів мають низьку вибірковість дії щодо нормальних і злоякісних клітин організму. Актуальність проблеми полягає у пошуку протипухлинних препаратів і, водночас, додаткових засобів для корекції токсичних проявів – наслідків перебігу захворювання, лікування. Особливе місце у вирішенні цієї проблеми займають засоби рослинного походження, яким властивий широкий спектр фармакологічної активності й біодоступність. Алтея лікарська, цмин пісковий, женьшень, звіробій звичайний, чистотіл великий, кульбаба лікарська, елеутерокок колючий застосовуються паралельно з токсичними препаратами як рослини, для яких властива імуномодулююча дія. Але пошук і створення препаратів на основі БАР рослин, що проявляють водночас протипухлинну, імуномодуляторну та цитопротекторну властивості *in vitro* та *in vivo* залишається актуальною проблемою [14].

Метою роботи є дослідження цитоморфологічних змін у культурах клітин із різним рівнем трансформованого фенотипу за дії екстрактів лікарських рослин: перстачу прямостоячого (*Potentilla erecta*), софори японської (*Sophora japonica*). Біологічно активні речовини (БАР) цих рослин – вітаміни, фенольні сполуки, терпеноїди – мають високий рівень антипроліферативних, антиоксидантних, проапоптотичних властивостей [1, 2, 10, 17], тому зроблено припущення про антипроліферативну активність екстрактів цих рослин щодо злоякісних клітин *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Приготування етанольних екстрактів лікарських рослин: перстачу прямостоячого (*Potentilla erecta*), софори японської (*Sophora japonica*). Етанольні екстракти готувались методом екстракції висушеної сировини: плодів софори японської та кореневищ перстачу прямостоячого. Екстрагент – етиловий спирт: 40% для екстрагування біологічно активних сполук перстачу прямостоячого, 56% – софори японської. Співвідношення екстрагента до повітряно-сухої маси сировини становило 5:1 (об'єм : повітряно-суха маса, мл: г). Екстракція відбувалася 14 днів за температури 20–22°C, відсутності світла, при частому помішуванні. Після закінчення процесу екстракт відфільтровано і тиждень витримано за 4°C. Після чергового фільтрування препарат зберігався у темному місці за температури 20–22°C. Після завершення процесу екстракції розчин випарювали і розраховували масу сухого залишку, який знову перерозчиняли у фіксованому об'ємі етанолу для визначення його концентрації.

Спектрофотометрію виготовлених екстрактів проводили в ультрафіолетовій ділянці спектра на спектрофотометрі BIO-RAD Smart Spec™3000. Ідентифікацію речовин в одержаних препаратах здійснювали за допомогою мас-спектрів на мас-спектрометрі 6С/MS Agilent Technologies 6890 N/5975 В.

Дослідження проводили на лініях пухлинних клітин MDA-MB-231 (аденокарцинома молочної залози людини), 4Т1 (аденокарцинома молочної залози мишей), BALB 3Т3 (деморталізовані фібробласти мишей).

Клітини лінії BALB 3Т3 були отримані з Клітинного банку ліній тканин людини і тварин Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України (Київ). Клітини ліній MDA-MB-231 та 4Т1 були отримані з Клітинного банку ліній клітин Вроцлавського природничого університету (Польща).

Клітини культивували у флаконах (20 см²) у середовищі Дульбекко в модифікації Ігла (DMEM, Sigma Chem. Co., США) з додаванням 10% ембріональної телячої

сироватки крові (Sigma Chem. Co., США) та 500 одиниць/мл гентаміцину (Sigma, США) при 37°C в атмосфері 5% CO₂ при 100% вологості. Пересів клітин здійснювали у співвідношенні 1 : 3 – 1 : 5 через кожні 2–3 дні.

Для досліду клітини висівали у 96-лункові планшети (Sarstedt, США) в кількості 5×10³ клітин на лунку. Результати впливу екстрактів на культуру клітин оцінювали на 24, 48, 72 годину та на 14 день культивування. Вносили екстракти у кількостях 0,1 мкл/мл, 1 мкл/мл та 10 мкл/мл середовища (що відповідає концентраціям перстачу: 0,4 мкг/мл екстрагента (низька); 4 мкг/мл екстрагента (середня); 40 мкг/мл екстрагента (висока); софори: 0,44 мкг/мл екстрагента (низька); 4,4 мкг/мл екстрагента (середня); 44 мкг/мл екстрагента (висока)) через 24 год після висіву клітин.

Контролем слугувала інтактна культура клітин. Також до уваги брались контролі з внесенням спирту (70%) у кількостях 10 мкл/мл, 1 мкл/мл та 0,1 мкл/мл середовища, контроль з внесенням 0,9% фізіологічного розчину NaCl – 10 мкл/мл середовища.

Дослід проводили у трьох паралелях. Цитотоксичну активність препаратів визначали за морфологічними змінами клітин, які оцінювали суправітально за допомогою мікроскопа.

Перед дослідженням до лунок з клітинами додавали флюорохроми акридин оранжевий (АО), DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole, 4', 6-діамідино-2-феніліндол) у кінцевій концентрації 0,3–1,0 мкг/мл та інкубували 15 хв. Досліджувані культури вивчали з використанням люмінесцентного мікроскопа МікМед-12 (ЛОМО, Санкт-Петербург, Росія) за збільшення ~500–1000 разів у ділянці збудження 450–480 нм та емісії 480–700 нм (для АО), в ділянці збудження 330–360 нм та емісії 420–500 нм (для DAPI). Також проводили фотографування клітин без барвників на інвертованому мікроскопі Біолам-Р (ЛОМО, Санкт-Петербург, Росія) при збільшеннях ~100–400 разів та МікМед-12 за збільшення ~200–400 разів на цифровий фотоапарат.

Для оцінки життєздатності клітин проводили забарвлення барвником трипановим синім (ТС). Метод ґрунтується на тому, що трипановий синій вільно проникає у мертві (некротичні) клітини, а живі й апоптичні клітини відкачують цей барвник у позаклітинне середовище і залишаються незабарвленими. Зливали середовище, прикріплені клітини в моношарових культурах відділяли від поверхні флакона розчином 1 мМ трипсину (Difco, США) – 0,25 % версену (Sigma, США). Готували суспензію клітин в 1 мл ФСБ-А (фосфатно-сольовому буфері). До 100 мкл отриманої суспензії додавали 10 мкл 0,4% розчину ТС, інкубували протягом 2–3 хв, 10 мкл клітин вносили в гемоцитометричну камеру Горяєва і здійснювали підрахунок живих і мертвих клітин у стандартному світловому режимі мікроскопа для спостереження поглинання ТС. За цих умов живі й апоптичні клітини відрізнялися від мертвих (некротичних) тим, що не поглинали барвник (ТС).

При фарбуванні АО апоптичні клітини відрізняли від живих за критеріями вираженої фрагментації ядра і цитоплазми, та зміни кольорової гами під флуоресцентним мікроскопом МікМед-12 (ЛОМО, Санкт-Петербург, Росія) при збільшенні ~200–400 разів [3, 5, 12, 16].

Дослід проводили у трьох паралелях. Результати опрацьовано за критерієм *t*-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Клітини ліній MDA-MB-231 (аденокарцинома молочної залози людини), 4Т1 (аденокарцинома молочної залози миші) – епітеліоцити, швидко утворюють моно-

шар. Ці клітини щільно спаяні одна з одною внаслідок міцних міжклітинних взаємодій. Клітини лінії BALB 3T3 – фібробласти, які набувають у культурі витягнутої форми та утворюють систему з паралельно розташованих довгих клітин (рис. 1). Добре виражене явище контактного інгібування проліферації фібробластів.

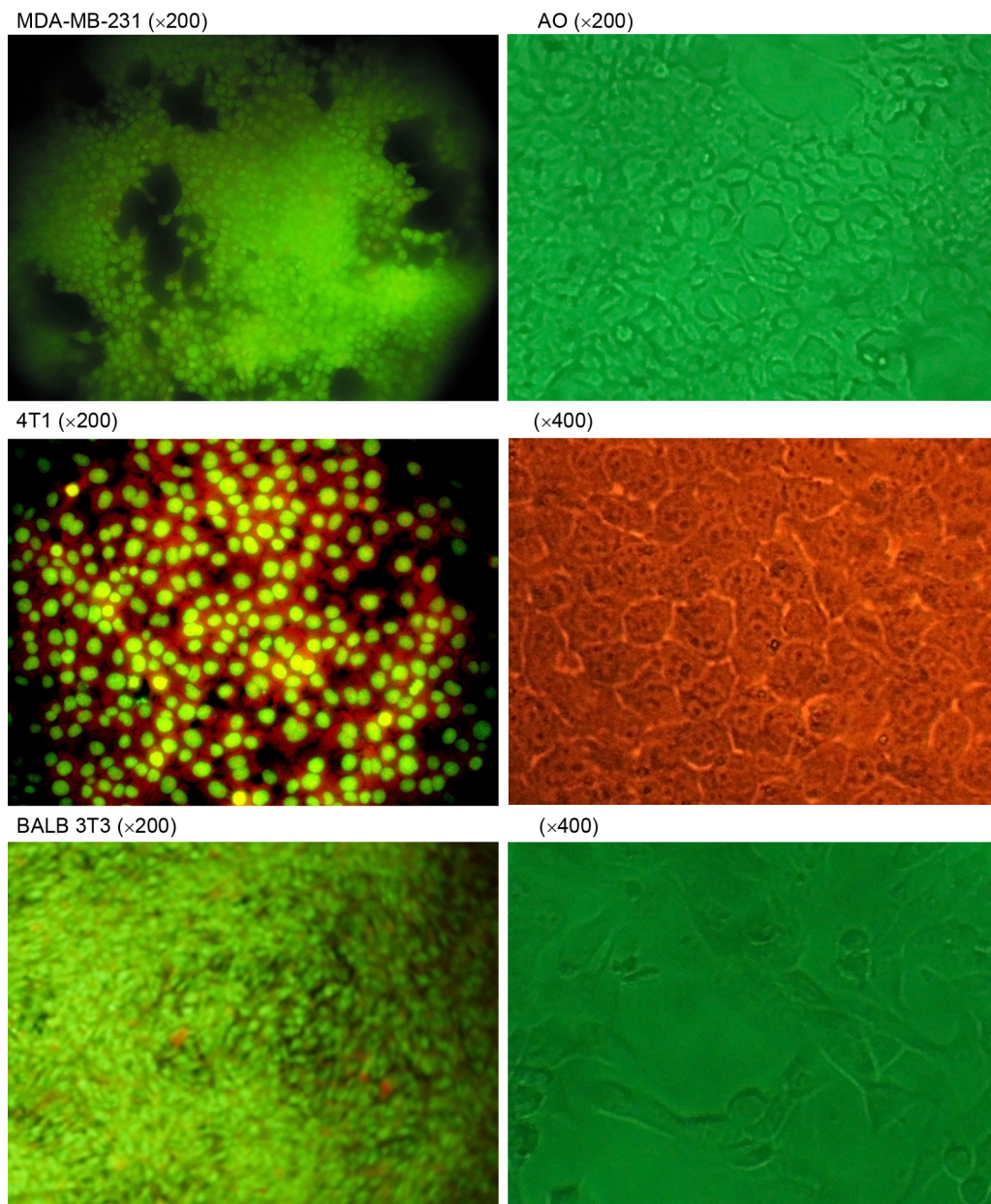


Рис. 1. Морфологічні ознаки досліджуваних ліній клітин (контрольні зразки) (світлова мікроскопія)

Fig. 1. Morphological characteristics of cell lines in concern (control samples) (light microscopy)

У дослідженнях використано екстракти перстачу прямостоячого (*Potentilla erecta*), софори японської (*Sophora japonica*). У плодах *Sophora japonica* виявлено флавоноїди (рутин, софорафлавозид, софорабіозид, софорокозид, кемпферол, геністеїн, кемпферол-3-софорозид, кверцетин-3-рутинозид), вуглеводи (софороза і рутиноза). Насіння містить алкалоїд стизоламін, олеїнову, лінолеву і ліноленову кислоти, лектини насіння [8]. Препарати з плодів софори японської використовуються в народній медицині як ранозагоювальні, протизапальні, гіпотензивні [11, 13, 15]. Кореневища *Potentilla erecta* містять 15–30% дубильних речовин, серед яких переважають конденсовані, а також тритерпенові сапоніни (торментозид), флавоноїди (кемпферол, кверцетин, астрагалін, гіперозид і лютеолін) та фенолкарбонові кислоти: елагову, галову, п-оксикоричну кислоти, глюкозид торментилін, червоний флобафен (до 31%), катехін (22%), сангвінарин [11, 13, 15]. Екстракт із кореневища *Potentilla erecta* здавна використовується як противиразковий, загальнозмцнювальний засіб та як додатковий засіб для корекції токсичних проявів. Алкалоїд сангвінарин має широку антимікробну та протизапальну активність. Так, показано, що патогенні бактерії при експонуванні з сангвінарином агрегуються і стають морфологічно безладними. У дослідженнях відзначено спорідненість сангвінарину до ДНК. Досліджено протипухлинний ефект сангвінарину як найбільш активного алкалоїду чистотілу [6, 7]. Народна медицина рекомендує *Potentilla erecta* як протипухлинний засіб. Водно-спиртові витяжки із різних видів перстачів мають антимікробну активність, підвищують імунний статус організму. Флавонові глікозиди лютеолін і апігенін мають протівірусну, спазмолітичну, жовчогінну і протизапальну дію [4, 11, 13, 15].

За умов екстракції етиловим спиртом у отримані екстракти переходять глікозиди, флавоноїди, сапоніни, частково алкалоїди [11, 15].

Згідно з наявною базою даних, у мас-спектрометрі в екстракті софори японської ідентифіковані піки речовин найближчих за структурою до: 2-фурилметанолу, ксилітолу, гептанової кислоти, пропілвалерату, етилформіату, цитозину, карванілу, тіазолу, похідного піролідину, гамма-амінобутиролактаму, лактону G, D-рибонолактону та цілого ряду інших.

Вивчаючи УФ-спектри поглинання екстрактів, спостерігаємо максимуми поглинання на кривій у короткохвильовій ділянці ультрафіолетового спектра за $\lambda=220\text{--}270$ нм та повторення у довгохвильовій ділянці ультрафіолетового спектра за $\lambda=360\text{--}385$ нм (рис. 2). Це відповідає довжинам поглинання флавонів, флавононів та їх глікозидів (рутину, лютеоліну, кемпферолу, морину, кверцетину).

За дії екстракту *Potentilla erecta* у концентрації 40 мкг/мл вже на 24 год спостерігається повна загибель популяцій досліджуваних ліній MDA-MB-231 і BALB 3T3, та виражене пригнічення росту клітин 4T1, що проявляється у зниженні їх приросту і у втраті їх типової форми. У свою чергу, клітини MDA-MB-231 за дії екстракту *Potentilla erecta* теж змінюють свою форму й утворюють кластери з кількох клітин (рис. 3). Отже, дана концентрація є токсичною щодо досліджуваних клітинних ліній.

Найбільш чутливими до дії екстракту *Potentilla erecta* виявилися клітини аденокарциноми молочної залози людини лінії MDA-MB-231. Вже на 24 год за дії низької концентрації екстракту спостерігається зниження приросту клітин MDA-MB-231, а за дії середньої, високої концентрацій спостерігається повна загибель популяції цих клітин. Також спостерігається зміна їх форми й утворення кластерів із кількох клітин.

У той же час клітини карциноми молочної залози миші лінії 4T1, навпаки, є більш резистентними до цих БАР. Зокрема, за концентрації 0,4 мкг/мл спостерігаються клітини 4T1 з проапоптичними змінами в морфології (рис. 4), за збільшення її до 4 мкг/мл виявлено зниження проліферації клітин 4T1, а за концентрації 40 мкг/мл – втрата їх типової форми та суттєве зниження їх приросту. Найменш чутливими до дії досліджуваного екстракту виявилися ембріональні фібробласти миші лінії BALB 3T3. За концентрації 0,4 мкг/мл відсутнє зниження приросту кількості цих клітин відносно контролю, за концентрації 4 мкг/мл також не спостерігається помітних змін приросту кількості клітин щодо контролю (72 год після додавання екстракту). В той же час за дії концентрації екстракту *Potentilla erecta* 40 мкг/мл зафіксовано повне вимирання клітин BALB 3T3 вже на 24 год дії. Дані дослідження можуть свідчити про вибірковість дії екстракту *Potentilla erecta* за концентрації 4 мкг/мл, що залежить від рівня трансформації клітин.

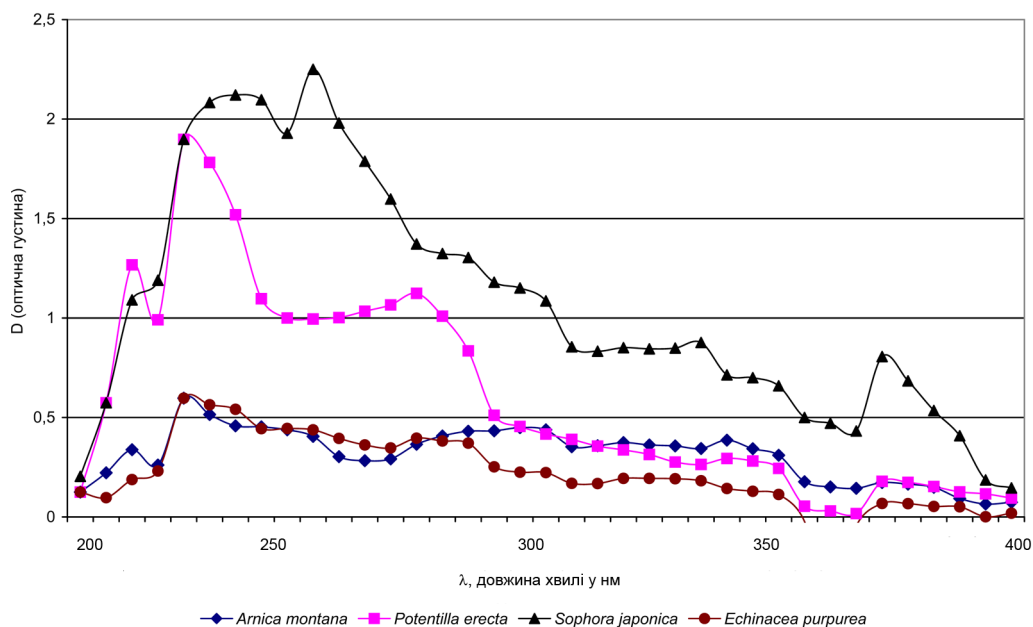


Рис. 2. УФ-спектри поглинання екстрактів рослин
Fig. 2. UV-spectrum of absorption of extracts of medicinal herbs

Характерним явищем для клітин лінії 4T1 є поява гігантських клітин (рис. 5) як наслідок культивування клітин у середовищі з екстрактом *Potentilla erecta*. Очевидно, БАР *Potentilla erecta* впливають на процес мітозу клітин лінії 4T1. Зростання кількості гігантських клітин у популяції характеризує неоптимальні умови росту культури.

Отже, аналізуючи результат впливу високої концентрації екстракту *Potentilla erecta*, спостерігаємо його некротичну дію на усі досліджувані клітинні лінії. Зміна приросту кількості клітин у популяціях досліджуваних ліній має дозозалежний характер. Наслідком культивування клітин у середовищі з екстрактом *Potentilla erecta* за концентрацій 0,4 мкг/мл, 4 мкг/мл є поява проапоптичних змін у морфології 4T1 та гігантських клітин.

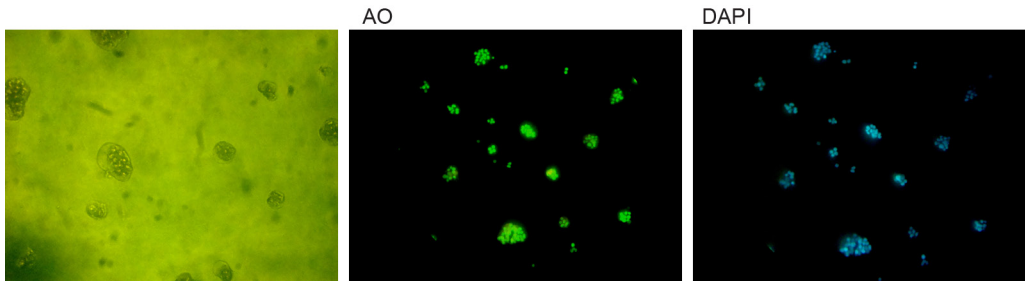


Рис. 3. Вплив екстракту *Potentilla erecta* (40 мкг/мл) на клітини лінії MDA-MB-231 (72 год) (флуоресцентна мікроскопія, $\times 400$)

Fig. 3. Effect of extract of *Potentilla erecta* (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on cells of MDA-MB-231 line (72 h) (fluorescent microscopy, $\times 400$)

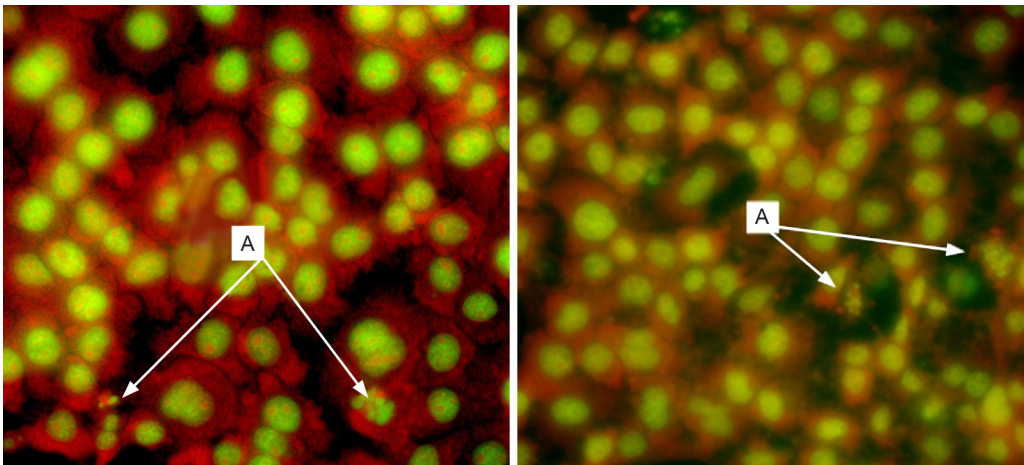
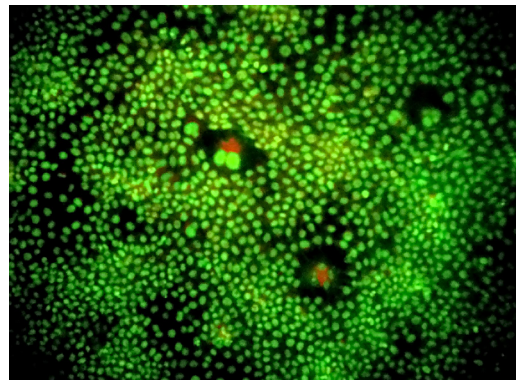


Рис. 4. Проапоптичні зміни в клітині 4T1 (фарбування акридин оранжевим) (флуоресцентна мікроскопія, $\times 400$): А – апоптичні клітини

Fig. 4. Proapoptotic changes in cells of 4T1 (acridin orange staining) (fluorescent microscopy, $\times 400$): A – apoptotic cells

Рис. 5. Гігантські клітини у популяції 4T1 (фарбування акридин оранжевим) (флуоресцентна мікроскопія, $\times 200$)

Fig. 5. Giant 4T1 cells in the population of (acridin orange staining) (fluorescent microscopy, $\times 200$)



Отриманий результат впливу зумовлений токсичністю високої концентрації. Вплив інших концентрацій, очевидно, зумовлений вмістом біологічно активних сполук *Potentilla erecta*, яким властиві антиоксидантні, антипроліферативні, протипухлинні властивості щодо пухлинних клітин. *Potentilla erecta* вважається протипухлинним засобом, оскільки одною з БАР є сангвінарин, який, можливо, є причиною проапоптичних змін, низького приросту кількості клітин у популяціях пухлинних клітин. Катіони сангвінарину здатні: 1) інтеркалювати у двоспіральні ДНК, РНК та інгібувати реакції, що відбуваються на ДНК та РНК як матриці; 2) порушують синтез АТФ у мітохондріях завдяки нейтралізуванню негативних зарядів зовнішнього боку мембран мітохондрій, що виникають при їх енергізації; 3) модифікують тіолові групи органічних сполук завдяки реакції нуклеофільного заміщення при взаємодії тіолових груп органічних речовин з імінною групою; 4) інгібують ферменти лізосом [4, 14]. Порівнюючи власні отримані результати дослідження з літературними даними [6, 7], можна зробити висновок, що саме сангвінарин є основним діючим компонентом екстракту перстачу, який спричиняє апоптоз.

Досліджуючи вплив екстракту *Sophora japonica* на лінії клітин MDA-MB-231, 4T1 за дії концентрацій 4,4 мкг/мл, 44 мкг/мл, спостерігається незначний приріст кількості клітин на 24 год у популяціях, який залишається майже незмінним упродовж 72 годин (рис. 6). Некротичні процеси не спостерігаються. Незначні відмінності у характері впливу на клітини BALB 3T3 концентрацій 4,4 мкг/мл, 44 мкг/мл), щодо контролю (рис. 7). Дані дослідження можуть свідчити про вибірковість дії екстракту *Sophora japonica* за концентрацій 0,44 мкг/мл, 4,4 мкг/мл, 44 мкг/мл, що залежить від рівня трансформації клітин.

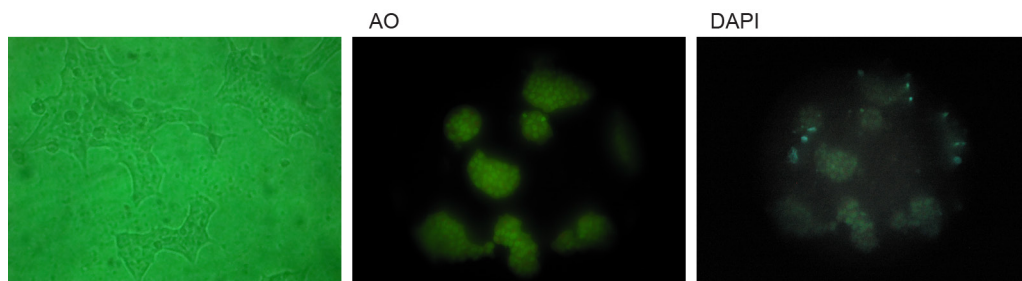


Рис. 6. Вплив екстракту *Sophora japonica* (4,4 мкг/мл) на клітини лінії MDA-MB-231 (24 год) (флуоресцентна мікроскопія, $\times 200$)

Fig. 6. Effect of extract of *Sophora japonica* (4.4 $\mu\text{g/mL}$) on cells of MDA-MB-231 (24 h) (fluorescent microscopy, $\times 200$)

Отже, характер дії екстракту *Sophora japonica* на пухлинні клітини MDA-MB-231 проявляється у пригніченні процесів проліферації, що свідчить про його цитостатичний ефект. Для популяції 4T1 характерні проапоптичні зміни в морфології клітин, цитостатичний характер впливу за дії концентрацій 4,4 мкг/мл, 44 мкг/мл (рис. 8).

Характер впливу екстракту *Sophora japonica* меншою мірою пов'язаний з токсичністю рослини. Протипухлинна дія *Sophora japonica*, можливо, пов'язана з лектином насіння [8]. Алкалоїди софокаргін, оксиматрин, поліфенольні сполуки можуть бути причиною антипроліферативної активності, проапоптичних змін клітин у популяціях пухлинних клітин. Сесквітерпенові лактони, що досліджені

у екстракті, флавоноїди здатні до інгібування сульфгідрильних комплексів цистеїну, який входить до активних центрів ферментів, пригнічують активність ферментних систем аеробного й анаеробного окиснення, швидкість поділу та синтезу білків у пухлинних клітинах.

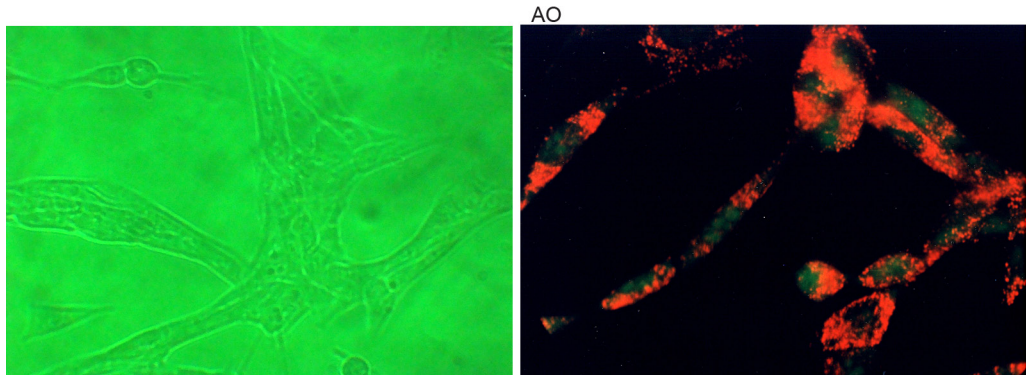


Рис. 7. Вплив екстракту *Sophora japonica* (44 мкг/мл) на клітини лінії BALB 3Т3 (24 год) (флуоресцентна мікроскопія, $\times 400$)

Fig. 7. Effect of extract of *Sophora japonica* (44 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on cells of BALB 3T3 line (24 h) (fluorescent microscopy, $\times 400$)

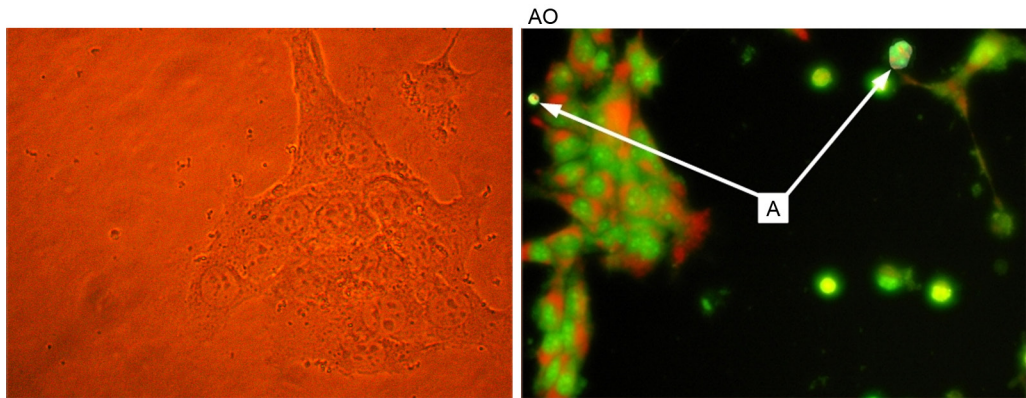


Рис. 8. Проапоптичні зміни в клітинах 4Т1 (фарбування акридин оранжевим) (флуоресцентна мікроскопія, $\times 400$): А – апоптичні клітини

Fig. 8. Proapoptotic changes in 4T1 cells (acrydin orange staining) (fluorescent microscopy, $\times 400$): A – apoptotic cells

Механізми дії флавоноїдів (високим вмістом цих речовин характеризуються обидва екстракти) включають модуляцію сигнальних шляхів, залучених до регуляції проліферації пухлинних клітин, індукцію апоптозу або диференціювання клітин, а також інгібування ангіогенезу та подолання лікарської резистентності. Флавоноїди можуть інгібувати процеси канцерогенезу завдяки: інгібуванню процесів метаболічної активації проканцерогенів у реактивні інтермедіати, індукції й активації ферментів, що каталізують процеси детоксикації та безпосередньої хімічної взаємодії з активними канцерогенами, перешкоджаючи їхній дії на молекули ДНК, РНК і білків. За рахунок існування семіхінонних, хінонних форм поліфенольні сполуки (флавоноїди) здатні нейтралізувати вільні радикали, переривати ланцюг реакцій їх

утворення у пухлинній клітині, тим самим пригнічуючи процеси росту і розмноження. Також вони блокують тканинні дихальні ферменти, що відповідають за синтез білків (особливо тих, які містять тіолові групи) і нуклеїнових кислот, вступаючи у відносно міцний зв'язок з центрами ферментів [17].

ВИСНОВОК

Екстракт з *Potentilla erecta* за дії концентрацій 0,4 мкг/мл, 4 мкг/мл має антипроліферативну активність щодо клітин з високим рівнем експресії трансформованого фенотипу, очевидно, завдяки дії біологічно активних сполук, що проявляють антиоксидантні та протипухлинні властивості, зокрема, сангвінарину.

Екстракт *Sophora japonica* проявляє цитостатичний ефект щодо клітин MDA-MB-231, а також 4T1 за дії вищих концентрацій (0,44 мкг/мл, 4,4 мкг/мл).

Наслідком культивування клітин у середовищі з екстрактами *Potentilla erecta*, *Sophora japonica* за дії низької середньої концентрацій є поява проапоптичних змін у морфології 4T1 та гігантських форм клітин, низький приріст кількості клітин у популяції пухлинних клітин.

1. Briskin D. P. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant Physiol**, 2000; 124: 507–514.
2. Burda S., Oleszek W. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. **J. Agric. Food Chem**, 2001; 49(6): 2774–2779.
3. Darzynkiewicz Z., Bruno S., Del Bino G. et al. Features of apoptotic cells measured by flow cytometry. **Cytometry**, 1992; 13(8): 795–808.
4. Godowski K.C. Antimicrobial action of sanguinarine. **J. Clin. Dent**, 1989; 1(4): 96–101.
5. Harsman K.D., Dervan P.B. Molecular recognition of B-DNA by Hoechst 33258. **Nucleic Acids Res**, 1985; 13: 4825–4835.
6. Kaminsky V., Kulachkovsky O., Stoika R. A decisive role of mitochondria in defining rate and intensity of apoptosis induction by different alkaloids. **Toxicol. Lett**, 2008 Apr 1; 177(3): 168–81.
7. Kaminsky V.O., Lootsik M.D., Stoika R.S. Correlation of the cytotoxic activity of four different alkaloids, from *Chelidonium majus* (greater celandine), with their DNA intercalating properties and ability to induce breaks in the DNA of NK/Ly murine lymphoma cells. **Central European Journal of Biology**, 2006; 1(1): 2–15.
8. Антонюк В.О. **Лектини та їх сировинні джерела**. Львів: Кварт, 2005. 554 с.
9. **Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів** [під ред Коцюмбаса І.Я.]. Львів: Тріада, 2006. 359 с.
10. Залесский В.Н., Великая Н.В. Антиапоптотические, проапоптотические, антитоксические реакции молекул флавоноидов – растительных фенолов. **Совр. проблемы токсикологии**, 2003; (3): 64–72.
11. Кобзар А.Я. **Фармакогнозія в медицині**. Київ, 2004. 280 с.
12. Левина В.В., Варфоломеева Е.Ю., Нарыжный С.Н. **Процесс „очистки ДНК” от нековалентно связывающихся молекул в клетках млекопитающих *in vivo***. II съезд биофизиков России. Тезисы. М., 1999. (раздел 2: Структура и динамика нуклеиновых кислот и их комплексов).
13. **Лікарські рослини**: Енцикл. дов. [відп. ред. А.М. Гродзинський]. Київ: Голов. ред. УРЕ, 1989: 544 с.
14. Разина Т.Г., Зуева Е.П., Амосова Е.Н. Роль биологически активных веществ лекарственных растений в повышении эффективности цитостатической терапии перевиваемых опухолей. **Бюл. Эксп. Биол. и Мед**, 2005; (1): 335–41.

15. Солодовніченко Н.М., Журавльов М.С., Ковальов В.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати. 2-ге видання. Харків: Вид-во НФаУ; МТК-книга, 2003. 408 с.
16. Фильченков А.А., Стойка Р.С. Апоптоз (физиологическая гибель клетки). Киев: Наукова думка, 1995. 24 с.
17. Фільченков О.О., Завелевич М.П. Порівняльний аналіз дії різних флавоноїдів на проходження клітинного циклу та індукції апоптозу у клітинах лінії МТ-4 гострої лімфобластної лейкемії людини. *Укр. біохім. журнал*, 2009; 81(5): 33–39.

STUDY OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN MAMMALIAN CELL LINES UNDER ACTION OF MEDICINAL HERB EXTRACTS *IN VITRO*

N. Shemediuk

*Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology by S. Z. Ghzitskij
50, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine
e-mail: natshem@bigmir.net*

The present article deals with analysis of effect of herb extracts containing biologically active substances (BAS) such as polyphenol compounds and terpenoids. The prevalence of the BASs determines antiproliferative and proapoptotic properties of extracts prepared from respective medicinal herbs. The evaluation of morpho-functional changes in cells of MDA-MB-231, 4T1, BALB 3T3 lines under the action of extracts allows to analyze application perspectives and prediction of anticancer effect of studied extracts from *Potentilla erecta* and *Sophora japonica in vivo*. Cell cultivation in the medium containing extracts of *Potentilla erecta* (0.4 and 4 µg/ml) and *Sophora japonica* at the concentration of 0.44 and 4.4 µg/ml results in appearance of giant cells, proapoptotic changes in the morphology of 4T1 cells and inhibition of proliferation of other studied tumors cells.

Keywords: cell culture, morphologic changes, medicinal herbs, biologically active substances.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ *IN VITRO*

Н. П. Шемедюк

*Львовский национальный университет
ветеринарной медицины и биотехнологии им. С. З. Гжицкого
ул. Пекарская, 50, Львов 79010, Украина
e-mail: natshem@bigmir.net*

В данной статье внимание уделено анализу влияния экстрактов лекарственных растений, содержащих комплекс биологически активных веществ (БАВ), содержащих полифенольные соединения и терпеноиды. Доминирование этих БАВ предопределяет антипролиферативные свойства препаратов, изготовленных на основе соответствующих лекарственных растений. Оценка морфофункциональных изме-

нений в культуре клеток линий MDA-MB-231, 4T1, BALB 3T3 в условиях действия этих экстрактов позволяет проанализировать перспективы применения экстрактов лекарственных растений: лапчатки прямостоящей (*Potentilla erecta*), софоры японской (*Sophora japonica*) *in vivo*. Следствием культивирования клеток в среде с экстрактами *Potentilla erecta* (0,4 и 4 мкг/мл), *Sophora japonica* (0,44 и 4,4 мкг/мл) является появление гигантских клеток и изменений проапоптического характера в морфологии клеток линии 4T1, низкий прирост количества клеток в популяциях остальных исследуемых линий опухолевых клеток.

Ключевые слова: биологически активные вещества, лекарственные растения, культура клеток, морфологические изменения.

Одержано: 01.02.2012