

Ю.В. Яніш¹,
<https://orcid.org/0009-0006-8485-1233>

С.П. Залеток¹,
<https://orcid.org/0000-0002-1910-1341>

О.К. Вороніна²,
<https://orcid.org/0000-0002-7065-374X>

І.О. Сумнікова¹,
<https://orcid.org/0009-0004-1382-0507>

О.О. Кленов¹,
<https://orcid.org/0009-0003-6630-1607>

В.О. Стащенко¹,
<https://orcid.org/0009-0007-5163-2410>

¹ Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

² ННЦ “Інститут біології та медицини” Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2026.01.017>

КОМБІНОВАНА ДІЯ СИЛІБІНІНУ І СПЕРМІНУ НА ЦИТОМОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛІТИН РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

Досліджені морфологічні зміни клітин раку передміхурової залози людини (РПЗ) *in vitro* при комбінованому застосуванні сперміну (Spr) та інгібітора альдегіддегідрогенази (ALDH) рослинного походження силібініну (Sil). **Мета:** вивчити модифікації цитоморфологічних ознак клітин РПЗ, викликані дією Sil окремо та при поєднанні його зі Spr. **Матеріал і методи:** об'єктами досліджень були високодиференційовані андрогенчутливі клітини лінії LNCaP та низькодиференційовані андрогенрезистентні — лінії DU-145. Цитоморфологічні зміни досліджували за допомогою оптичного мікроскопа на фіксованих препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином. **Результати:** Sil продемонстрував антипроліферативну та проапоптотичну дію на клітини LNCaP, пропорційно залежну від його концентрації. Комбінований вплив Sil і Spr викликав морфологічні зміни, що свідчили про порушення клітинного циклу та мітозу: збільшення розмірів клітин та мультядерність. У клітин DU-145 під впливом Sil спостерігалось порушення мітотичної активності і зупинка клітинного циклу, з'являлися апоптотичні, двоядерні та гігантські клітини. Під комбінованим впливом Sil і Spr значна частина клітин DU-145 входила в апоптоз, а решта перебувала на початкових його етапах. **Висновки:** в андрогенчутливих клітинах LNCaP чистий Sil реалізував свій ефект переважно через активацію апоптотичних шляхів, в той час як у DU-145 — через порушення клітинного циклу та цитокінезу. Інгібітор ALDH Sil та екзогенний Spr при комбінованому впливі як на андрогенчутливі, так і на андрогенрезистентні клітини РПЗ навзаєм підсилювали власні цитотоксичний та проапоптотичний ефекти. Комбінована дія була максимально вираженою в андрогенрезистентних клітинах DU-145.

Ключові слова: рак передміхурової залози, клітинні лінії LNCaP та DU-145, спермін, силібінін, клітинний цикл, цитотоксичність, апоптоз.

Альдегіддегідрогенази (aldehyde dehydrogenase, ALDH) відіграють помітну роль у злякисному рості. Ізоферменти підродино ALDH1A, зокрема ALDH1A3, сприяють прискореній проліферації, хіміорезистентності та інвазивності пухлинних клітин [1]. Показано, що надмірна експресія ALDH пов'язана зі стійкістю до терапії та захистом ракових клітин від окисного стресу [2]. Вплив на активність цих ферментів являє потенційний шлях подолання лікарської резистентності у клінічній онкології [3]. Цілком логічним виглядає вибір інгібітора ALDH з-поміж препаратів рослинного

походження. Інгібітор ALDH рослинного походження силібінін (silibinin, Sil) належить до родини флавонолігнанів і є основним діючим чинником стандартизованого екстракту з насіння розторопші плямистої (*Silybum marianum* L.) силімарину, який широко застосовується як гепатопротектор. Дана робота органічно доповнює низку досліджень, виконаних в межах НДР за темою № 2.2.5.444, результати яких опубліковані раніше (2023–2025). Реєстрація цитоморфологічних змін входить до комплексу методів, застосованих нами при вивченні комбінованої дії сперміну (spermine, Spr),

Ц и т у в а н н я: Яніш Ю.В., Залеток С.П., Вороніна О.К., Сумнікова І.О., Кленов О.О., Стащенко В.О.. Комбінована дія силібініну і сперміну на цитоморфологічні характеристики клітин раку передміхурової залози. Онкологія. 2026. 28, № 1. С. 17–23. <https://doi.org/10.15407/oncology.2026.01.017>

© РН “Akadempriodyka” of the NAS of Ukraine, 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

модуляторів його катаболізму та інгібіторів *ALDH* на біохімічні, електрокінетичні та інші показники клітин РПЗ. Всі експерименти виконувалися на двох клітинних лініях раку передміхурової залози (РПЗ) людини — LNCaP і DU-145, які відрізняються не тільки чутливістю до андрогенів, але і ступенем диференціювання та характером росту [4, 5].

Мета роботи: вивчити модифікації цитоморфологічних ознак клітин РПЗ, викликані дією Sil окремо та при поєднанні його зі Spn.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджували *in vitro* дію Sil (Thermo Scientific, Китай) і Spn (AppliChem, Німеччина) на клітини РПЗ людини. В якості тест-об'єктів використовували культури двох клітинних ліній — андрогенчутливої високодиференційованої LNCaP [4] та андрогенрезистентної низькодиференційованої DU-145 [5]. Клітини, отримані з Банку клітинних ліній з тканин людини та тварин ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України, вирощували в культуральних флаконах (SPL, Корея). Умови культивування та режими внесення досліджуваних препаратів детально описано у [3]. Sil вносили в наступних концентраціях: 0,5 мМ та 0,98 мМ для клітин LNCaP; 0,62 мМ для клітин DU-145. При комбінованому застосуванні Sil і Spn вносили в концентраціях 0,26 та 1,1 мМ відповідно (для LNCaP); 0,46 та 0,83 мМ відповідно (для DU-145).

Морфофункціональні зміни, які відбувалися в клітинах під дією Sil, Spn або їх комбінації, вивчали за допомогою оптичного мікроскопа Zeiss Axio Imager 2 з використанням імерсійної олії Imersol 518N Zeiss (Carl Zeiss AG, Німеччина) на фіксованих препаратах клітин, вироще-

них окремо на покривних скельцях у 6-лункових планшетах і забарвлених гематоксиліном та еозинном [6].

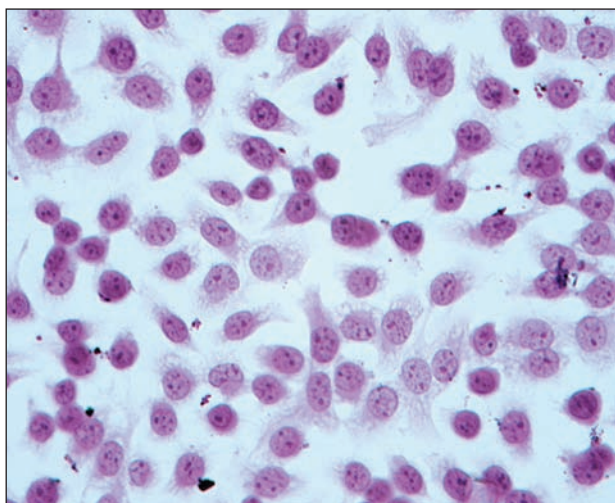
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вплив Sil та комбінації Sil + Spn на цитоморфологічні характеристики андрогенчутливих клітин РПЗ лінії LNCaP.

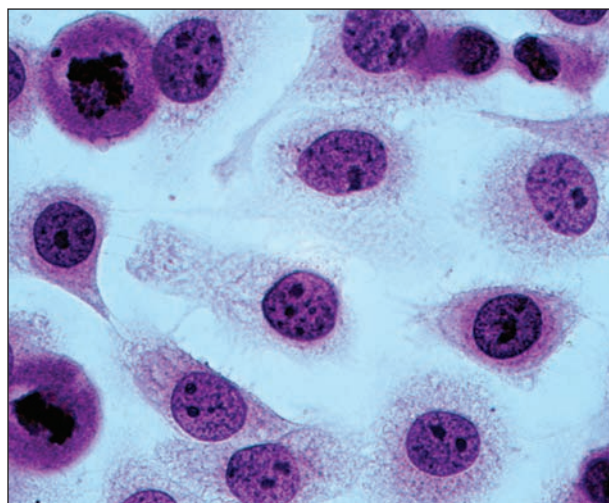
В *контрольній культурі* лінії LNCaP переважали великі клітини полігональної форми з псевдоподіями, що мало важливе значення для їх міграції та адгезії. Ядра займали більшу частину клітинного об'єму, були округлої форми, з 1–4 чітко візуалізованими ядерецями (*рис. 1А*). Деконденсований еухроматин вказував на високий рівень транскрипційної активності. Більшість клітин перебувала в інтерфазі, але виявлялися й мітотичні фігури: метафазні пластинки, анафазні хромосоми і цитокінез (*рис. 1Б*). Клітини в мітозі мали округлу форму, що характерно для клітин, готових до поділу.

Отже, андрогенчутливі клітини РПЗ лінії LNCaP за відсутності впливу будь-яких додаткових препаратів демонстрували високу синтетичну і проліферативну активність.

Sil викликав дозозалежне зниження життєздатності клітин LNCaP та їх транскрипційної активності у кожному з досліджених варіантів. Наявність в культуральному середовищі Sil призводила до зупинки клітинного циклу: клітини перебували переважно в інтерфазі, мітотичних фігур не спостерігалось, а частина клітин переходила до загибелі шляхом апоптозу. У певній частині клітин LNCaP культивування в присутності вже 0,5 мМ Sil (половина IC_{50} Sil, застосованого окремо [3]) викликало появу апоптотичних змін, хоча переважна більшість клітин зберігала свою типову форму (*рис. 2А*). Ядра залишалися активними —

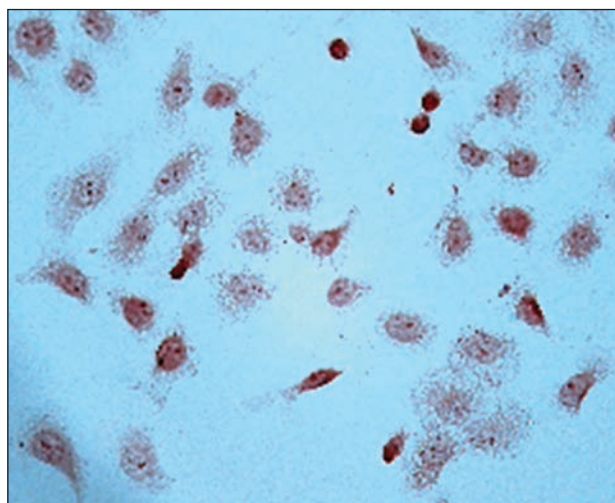


А. Клітини в інтерфазі з чіткими ядерецями в ядрах, полігональної форми. Зб. $\times 400$

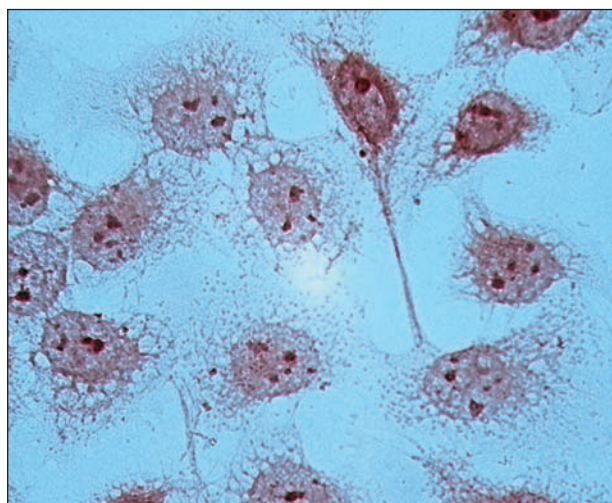


Б. Присутні клітини на різних стадіях клітинного циклу: в анафазі, телофазі. Зб. $\times 900$

Рис. 1. Морфологія клітин лінії LNCaP в контролі. Забарвлення гематоксиліном та еозинном



А. Клітини типової форми та частина клітин в апоптозі. Зб. $\times 400$



Б. Великі світлі, транскрипційно активні ядра клітин. Зб. $\times 900$

Рис. 2. Зміни морфології клітин лінії LNCaP внаслідок культивування в присутності Sil в концентрації 0,5 мМ. Забарвлення гематоксиліном та еозином

еухроматичними, з чіткими ядерцями. Цитоплазма клітин була вакуолізованою (рис. 2Б).

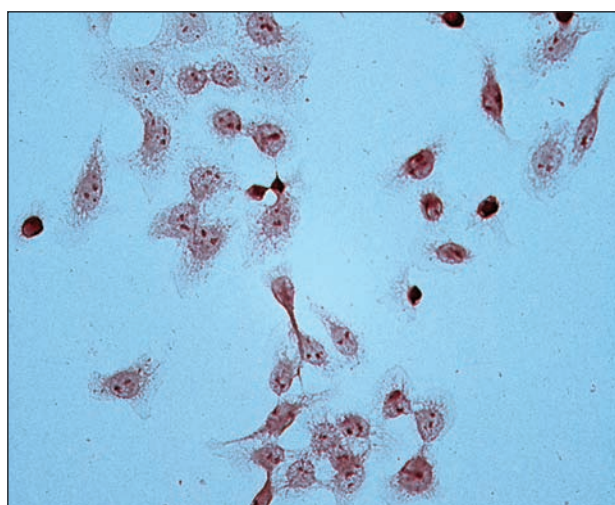
При культивуванні клітин LNCaP в присутності 0,98 мМ Sil (IC_{50} , [3]) спостерігалось пригнічення синтетичних процесів в клітинах та зниження їх життєздатності, при цьому кількість апоптотичних клітин в культурі зростала (рис. 3).

Дослідження продемонстрували антипроліферативну та проапоптотичну дію Sil, що пропорційно залежала від його концентрації в культуральному середовищі андрогенчутливих клітин РПЗ лінії LNCaP.

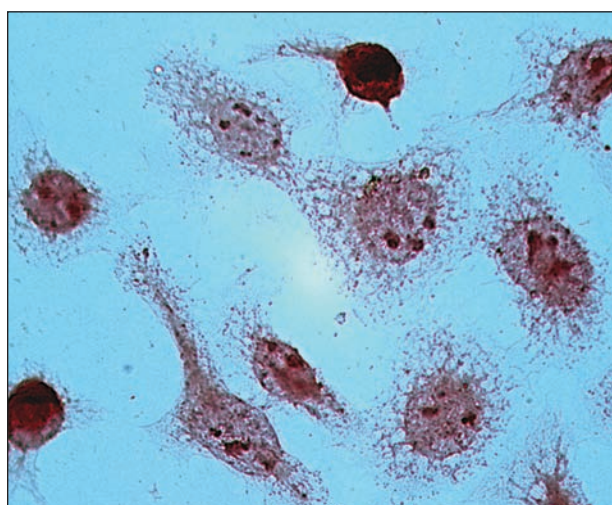
У випадку комбінованого впливу *Sil + Spn*, застосованих в концентраціях 0,26 та 1,1 мМ відпо-

відно (IC_{50} , визначені для суміші даних сполук [3]), спостерігали морфологічні зміни, що свідчили про порушення клітинного циклу та мітозу: збільшення розмірів клітин та мультіядерність. Спостерігали гігантські клітини, які значно перевищували за розмірами клітини контролю. У багатьох клітинах виявляли 2–5 і більше ядер, що займали весь об'єм клітини. Ядра мали різну форму та розміри — від округлих до витягнутих або неправильної форми (рис. 4).

Поява мультіядерних та гігантських клітин вказувала на порушення цитокінезу або ендоредуплікацію, викликані комбінованим впливом досліджуваних сполук.

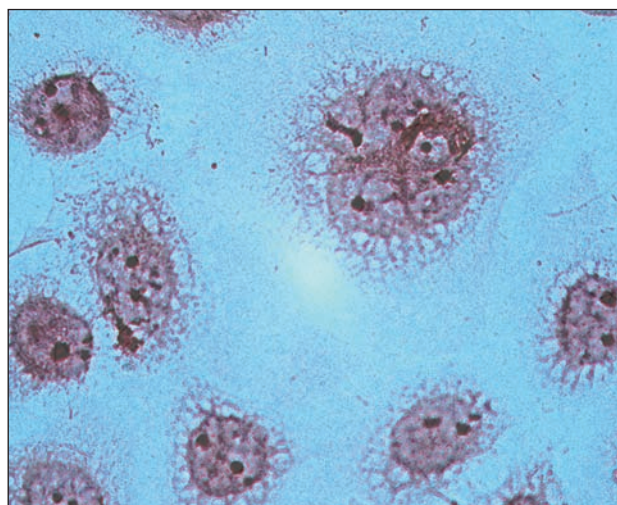


А. Частина клітин переходить до апоптотичної загибелі. Зб. $\times 400$

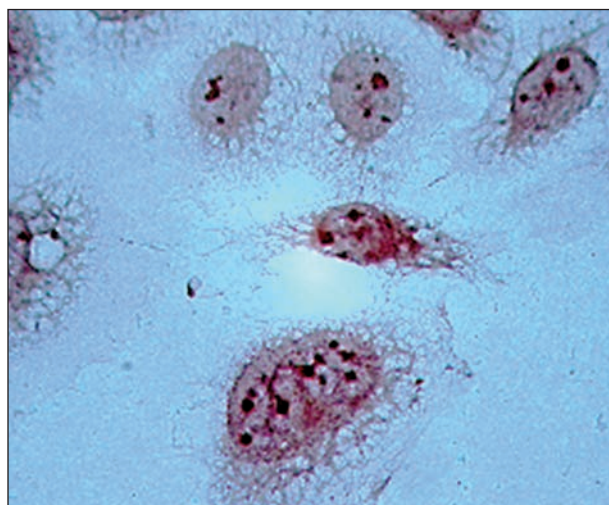


Б. Гіперхромні ядра, втрата форми клітинами — ознаки апоптозу. Зб. $\times 900$

Рис. 3. Зміни морфології клітин лінії LNCaP внаслідок культивування в присутності Sil в концентрації 0,98 мМ. Забарвлення гематоксиліном та еозином



А. Поява гігантських мультіядерних клітин. Зб. $\times 900$



Б. Великі поліплоїдні клітини. Зб. $\times 900$

Рис. 4. Зміни морфології клітин лінії LNCaP внаслідок культивування одночасно з Sil і Spn (0,26 та 1,1 мМ відповідно). Забарвлення гематоксилином та еозином

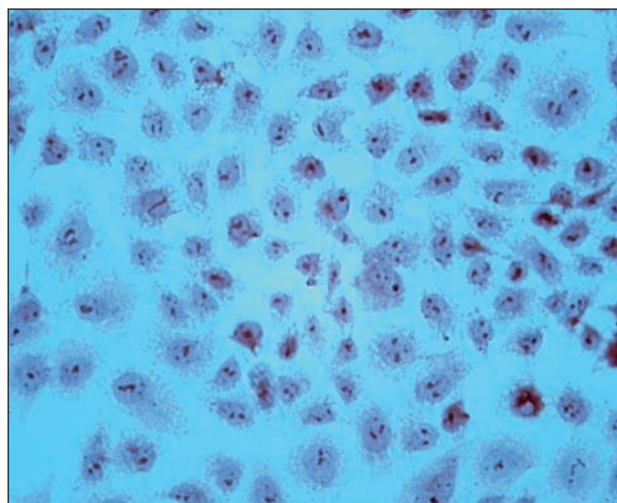
Вплив Sil та комбінації Sil + Spn на цитоморфологічні характеристики андрогенрезистентних клітин РПЗ лінії DU-145.

В *контрольній культурі* DU-145 клітини мали типову для даної лінії будову з переважанням веретеноподібних і полігональних форм. Вони утворювали щільний моношар з добре вираженими міжклітинними контактами, філоподіями та тонкими цитоплазматичними відростками (рис. 5А). Цитоплазма клітин світла, дрібнозерниста, слабо базofilна. Ядра великі, еухроматинові, з високим ядерно-цитоплазматичним індексом та 2–3 виразними ядерцями (рис. 5Б). Добре розвинений цитоскелет забезпечував утворення численних філоподій та ламеллоподій, що свідчило про високу міграційну активність клітин. У полі зору реест-

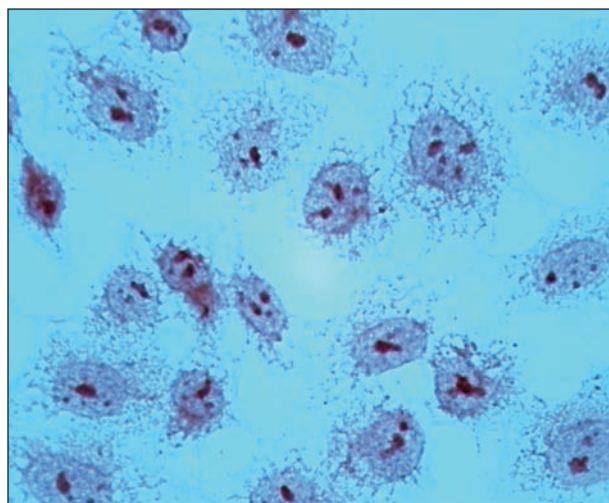
рувалися поодинокі мітози, що підтверджувало активну проліферацію.

Під впливом *Sil* (0,62 мМ, IC_{50} Sil, застосованого окремо [3]) у більшості клітин DU-145 спостерігалась втрата відростків та міжклітинних контактів, що супроводжувалося переходом клітин від типової веретеноподібної форми до округлої або сферичної. У полі зору зростала кількість темних, щільних клітин з компактним, інтенсивно забарвленим хроматином, без видимих ядерць, що було характерною ознакою апоптозу (рис. 6А, 6Б).

Цитоплазма значно зменшувалася в об'ємі або виглядала як тонка смужка навколо ядра, у частини клітин вона була вакуолізованою, що відображало розвиток дегенеративних процесів (рис. 6В). Згідно даних літератури, вакуолізація пов'язана зі зміна-

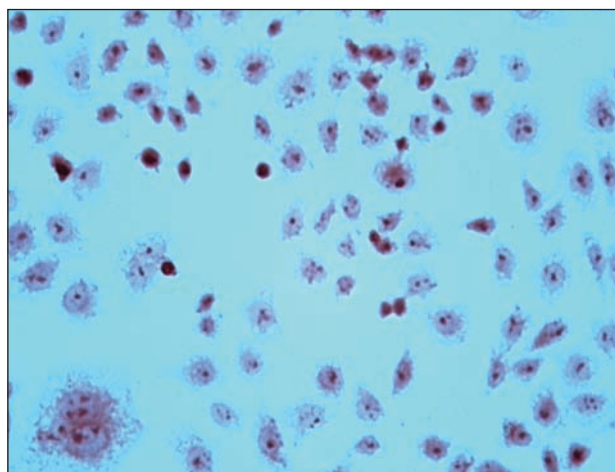


А. Клітини полігональної форми, з великими світлими ядрами. Зб. $\times 400$

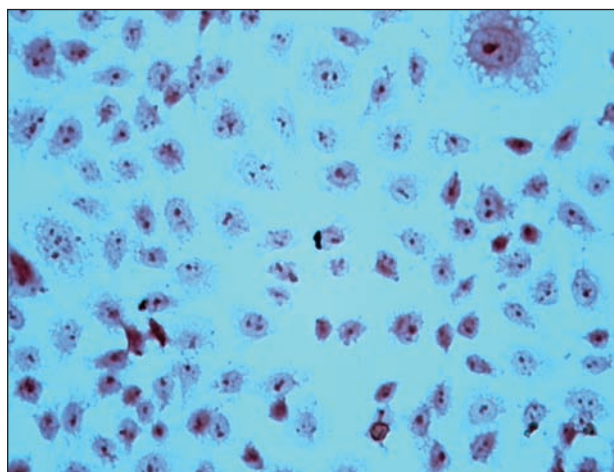


Б. Клітини в інтерфазі, з чіткими ядерцями. Зб. $\times 900$

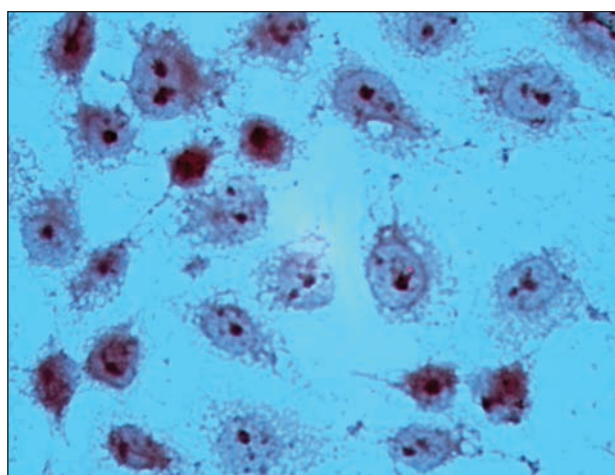
Рис. 5. Морфологія клітин лінії DU-145 в контролі. Забарвлення гематоксилином та еозином



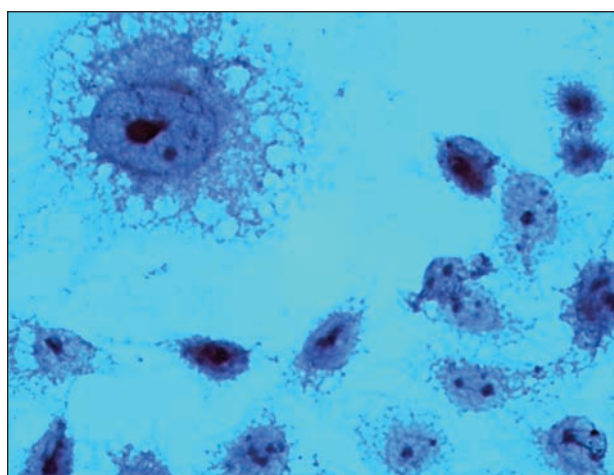
А. Клітини стають округлими. Помітні двоядерні клітини. Зб. $\times 400$



Б. Клітини частково округлої і частково полігональної форми. Зб. $\times 400$



В. Клітини з апоптотичними змінами. Зб. $\times 900$



Г. Поява в культурі великих клітин. Зб. $\times 900$

Рис. 6. Зміни морфології клітин лінії DU-145 внаслідок культивування в присутності Sil в концентрації 0,62 мМ. Забарвлення гематоксиліном та еозином

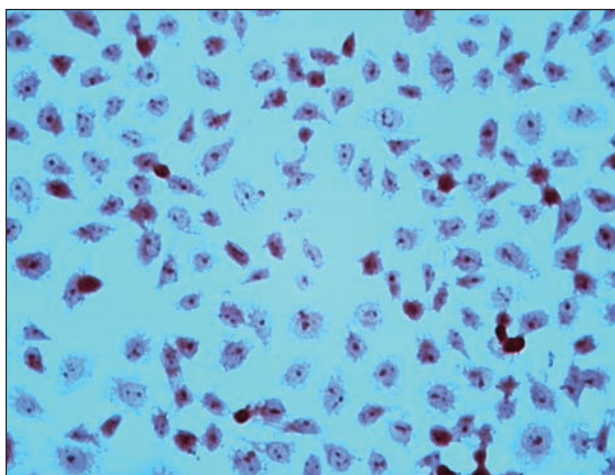
ми в ендоплазматичному ретикулумі та апоптозом [7], або іншим механізмом клітинної смерті — цитоплазматичної вакуолізованої смерті клітин (основними цитопатологічними характеристиками цього типу клітинної смерті є цитоплазматична вакуолізація, що переважно є наслідком стресу ендоплазматичного ретикулуму (ER-стресу), відсутність активації каспази та підвищене убіквітування білка 15) [8].

Відзначали появу численних апоптотичних, а також двоядерних та гігантських клітин — як наслідок порушення цитокінезу та можливого виникнення поліплоїдії (рис 6Б, 6Г). Поява таких великих або двоядерних клітин є механізмом їх виживання під дією цитотоксичних сполук через можливі механізми пригнічення циклін-залежних кіназ та зупинки проліферації, або поліплоїдизації та порушення цитокінезу. Добре помітним було повне пригнічення мітотичної активності: клітини перебували переважно в інтерфазі, мітотичних фігур не виявляли, що узгоджувалося з зупинкою клітинного циклу

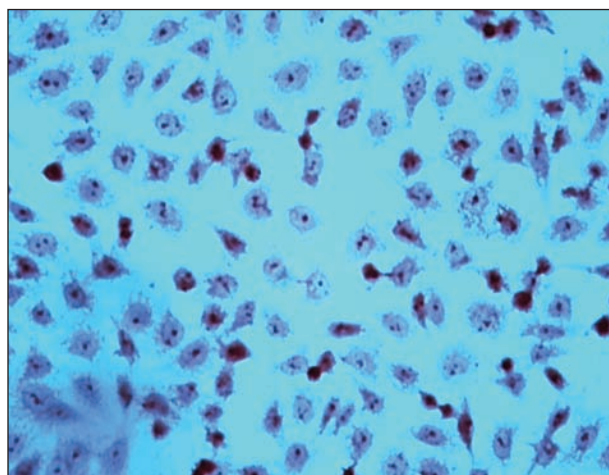
під дією Sil (рис. 6Б). Отже, морфологічна картина свідчила, що під дією Sil (0,62 мМ) у клітинах DU-145 відбувалося виражене пригнічення проліферації з переходом значної частини клітин до апоптозу, що проявлялося у цитоскелетній деградації, втраті адгезії, порушеннях клітинного циклу, появі апоптотичних структур і загалом відображало чіткий цитостатичний та проапоптотичний ефект цієї сполуки в зазначеній концентрації.

Як видно з рис. 7А–Г, під одночасним впливом Sil та Spn значна частина клітин DU-145 зазнавала апоптотичних змін, а інша перебувала на початкових стадіях апоптозу.

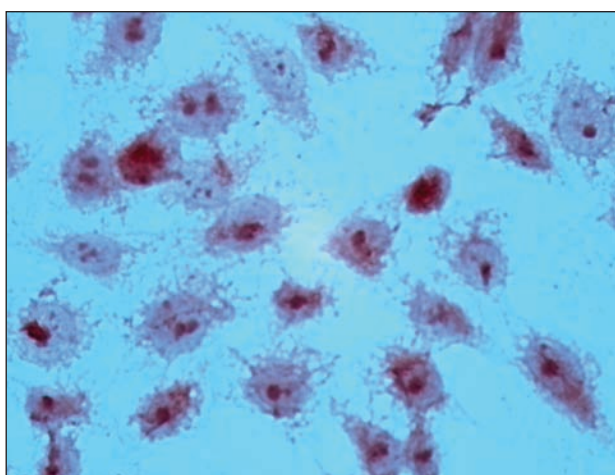
Отже, в клітинній лінії DU-145 самостійний вплив Sil проявлявся переважно у цитостатичному ефекті, який супроводжувався появою не тільки багатоядерних, але й певної кількості апоптотичних клітин. Можливе пояснення полягає в тому, що Sil викликав порушення клітинного циклу та цитокінезу, і це призводило до формування багатоядерних клітин. Комбіноване застосування



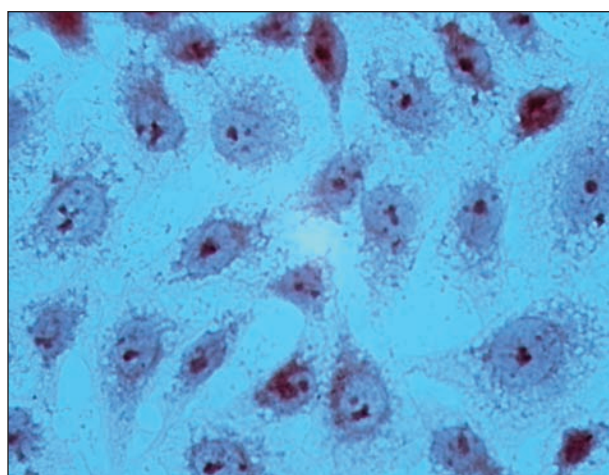
А. Клітини втрачають типову форму, стають округлими. Зб. $\times 400$



Б. Клітини частково округлої і частково полігональної форми. Зб. $\times 400$



В. Клітини з апоптотичними змінами: втрата відростків, конденсований хроматин. Зб. $\times 900$



Г. Поява в Г. Стоншення та вакуолізація цитоплазми клітинах. Зб. $\times 900$ культури великих клітин. Зб. $\times 900$

Рис. 7. Зміни морфології клітин лінії DU-145 внаслідок культивування одночасно з Sil і Spn (0,46 і 0,83 мМ). Забарвлення гематоксиліном та еозином

Sil та Spn, ймовірно, посилювало у клітин лінії DU-145 оксидативний стрес, що надавало змогу подолати природну резистентність та індукувати апоптоз [9].

За умови одночасної дії Sil і Spn на клітини РПЗ обох тестованих ліній виникало явище, для якого нами була запропонована назва *тандемного альдегідного шоку* [3]. Подібний ефект спостерігався і з іншими інгібіторами *ALDH* [10], тому можна припустити, що він є універсальним механізмом дії сполук, які пригнічують її активність.

ВИСНОВКИ

1. Інгібітор *ALDH* Sil та екзогенний Spn при комбінованому впливі як на андрогенчутливі, так і на андрогенрезистентні клітини РПЗ навзаєм підсилювали власні цитотоксичний та проапоптотичний ефекти.

2. Sil, ймовірно, блокував в клітинах РПЗ *ALDH*-залежні шляхи детоксикації альдегідів, що нако-

пичувалися в процесі катаболізму екзогенного Spn при його комбінованому застосуванні з Sil.

3. Цитотоксичний та проапоптотичний ефекти комбінації Sil зі Spn були максимально виражені в культурі андрогенрезистентних клітин DU-145.

4. Sil в андрогенчутливих клітинах LNCaP реалізував свій ефект переважно через активацію апоптотичних шляхів, а в андрогенрезистентних клітинах DU-145 — через порушення клітинного циклу та цитокінезу, що приводило до формування багатоядерних клітин.

5. Комбінація Sil зі Spn, ймовірно, посилювала оксидативний стрес у культурах обох ліній, причому у клітин DU-145 це дозволило подолати природну резистентність і запустити апоптоз.

Подяка за консультативну і практичну допомогу висловлюється співробітникам ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України — к.б.н., с.н.с. О.О. Лиховій, к.б.н., с.н.с. Н.П. Юрченко і інженеру В.Г. Лупан.

Дослідження виконані в межах НДР за темою № 2.2.5.444 “Комбінована дія сперміну і модуляторів його катаболізму як перспективна модель лікування раку передміхурової залози” (2022–2026).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Magrassi L, Pinton G, Luzzi S, *et al.* A new vista of aldehyde dehydrogenase 1A3 (ALDH1A3): new specific inhibitors and activity-based probes targeting ALDH1A3 dependent pathways in glioblastoma, mesothelioma and other cancers. *Cancers* 2024, **16**: 2397. <https://doi.org/10.3390/cancers16132397>.
2. Kargbo R. Discovery of selective aldehyde dehydrogenase inhibitors for the treatment of cancer. *ACS Med Chem Lett* 2023, **14**: 131–32. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.2c00543>.
3. Yanish YuV, Zaletok SP, Voronina OK, *et al.* Combined action of a plant-original aldehyde dehydrogenase inhibitor and spermine on prostate cancer cells. *Онкологія* 2025; **27**(4): 223–31. <https://doi.org/10.15407/oncology.2025>. (in Ukrainian).
4. Horoszewicz J, Leong S, Kawinski E, *et al.* LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer research* 1983; **43**(4): 1809–18. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6831420/>
5. Stone K, Mickey D, Wunderli H, *et al.* Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU 145). *International journal of cancer* 1978; **21**(3): 274–81. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910210305>.
6. Rutland CS. *Histological and histochemical methods: Theory and practice*. 4th ed. Bloxham. UK: Scion, 2008. 571 p. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2008.00957.x>.
7. Tyagi AK, Singh RP, Agarwal C, *et al.* Silibinin strongly synergizes human prostate carcinoma DU-145 cells to doxorubicin-induced growth inhibition, G2-M arrest, and apoptosis. *Clin Cancer Res* 2002; **8**(11): 3512–9. <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/8/11/3512/289111/Silibinin-Strongly-Synergizes-Human-Prostate>
8. Seo MJ, Lee DM, Kim IY, *et al.* Gambogic acid triggers vacuolization-associated cell death in cancer cells via disruption of thiol proteostasis. *Cell Death Dis* 2019; **10**(3): 187. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1360-4>.
9. Lee WJ, Chien MH, Chow JM, *et al.* Nonautophagic cytoplasmic vacuolation death induction in human PC-3M prostate cancer by curcumin through reactive oxygen species-mediated endoplasmic reticulum stress. *Sci Rep* 2015; **27**(5): 10420. <https://doi.org/10.1038/srep10420>.
10. Yanish YuV, Zaletok SP, Voronina OK, *et al.* The effect of disulfiram, gossypol, spermine and their combinations on human prostate cancer cells in vitro. *Oncology* 2025; **27**(1): 27–43. <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.01.027> (in Ukrainian).

COMBINED EFFECT OF SILIBININ AND SPERMINE ON CYTOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PROSTATE CANCER CELLS

Y.V. Yanish¹, S.P. Zaletok¹, O.K. Voronina², I.O. Sumnikova¹, O.O. Klenov¹, V.O. Stashenko¹

¹ R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine,

² NSC “Institute of Biology and Medicine” of Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Summary. Morphological changes in human prostate cancer (PCa) cells in vitro were studied with the combined use of spermine (Spn) and the plant-derived aldehyde dehydrogenase (ALDH) inhibitor silibinin (Sil). **Aim:** to study the modifications of cytomorphological features of PCa cells caused by the action of Sil alone and in combination with Spn. **Material and methods:** the objects of the study were highly differentiated androgen-sensitive cells of the LNCaP line and poorly differentiated androgen-resistant cells of the DU-145 line. Cytomorphological changes were examined using an optical microscope on fixed preparations stained with hematoxylin and eosin. **Results:** Sil demonstrated antiproliferative and proapoptotic effects on LNCaP cells, proportionally dependent on its concentration. The combined effect of Sil and Spn

caused morphological changes indicating cell cycle and mitosis disorders: increased cell size and multinucleation. In DU-145 cells, under the influence of Sil, inhibition of mitotic activity and cell cycle arrest were observed, and apoptotic, binucleate and giant cells appeared. Under the combined influence of Sil and Spn, a significant part of DU-145 cells entered apoptosis, and the rest were in its initial stages. **Conclusions:** in androgen-sensitive LNCaP cells, pure Sil exerted its effect mainly through the activation of apoptotic pathways, while in DU-145 cells, through the disruption of the cell cycle and cytokinesis. The ALDH inhibitor Sil and exogenous Spn, when combined with their effects on both androgen-sensitive and androgen-resistant prostate cancer cells, mutually enhanced their own cytotoxic and proapoptotic effects. The combined effect was maximally expressed in androgen-resistant DU-145 cells.

Keywords: prostate cancer, LNCaP and DU-145 cell lines, spermine, silibinin, cell cycle, cytotoxicity, apoptosis.

Адреса для листування:

Яніш Ю.В.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: yanish.yuriy@gmail.com

Одержано: 09.02.2026

Рекомендовано до друку: 26.03.26

Підписано до друку: 17.04.2026