

Т.А. Федотчева^{1,2}, О.П. Шейченко¹, К.Е. Широких²

ЦИТОСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АЛКАЛОИДА КУБЫШКИ ЖЕЛТОЙ НУФЛЕИНА

¹ФГБНУ ВИЛАР, Москва;

²ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»

Минздрава России, Москва

Введение. Основной задачей при создании противоопухолевых соединений является их высокая избирательная активность по отношению к опухолевым клеткам и наименьшее цитотоксическое действие по отношению к нормальным клеткам. Такими свойствами могут обладать алкалоиды, полученные из лекарственных растений. Достаточно хорошо изученным алкалоидом является препарат лютеурина, полученный из кубышки желтой (*Nuphar luteae* (L.) Smith syn. *Nuphar luteum* L.) сотрудниками ВИЛАР и представляющий собой сумму гидрохлоридов димерных серосодержащих фуранохинолизидиновых алкалоидов из корневищ кубышки желтой семейства кувшинковых. Один из алкалоидов в составе лютеурина — нуфлеина бисангидродигидрохлорид (нуфлеин) — был выделен и очищен, выявлено его бактериостатическое действие на трихомонады, высокая активность в отношении грамположительных микробов и патогенных грибов типа кандиды. Исходя из этих данных, было выдвинуто предположение о наличии цитостатической активности у нуфлеина.

Цель исследования — анализ цитостатической активности нуфлеина на клетках рака шейки матки человека HeLa и фибробластах кожи крыс в сравнении с цисплатином.

Материалы и методы. Для оценки цитотоксического действия нуфлеина инкубировали клетки в течение 48 ч в присутствии различных концентраций препарата (диапазон 10^{-9} – 10^{-2} М). Жизнеспособность клеток оценивали методом МТТ. Параметр IC_{50} — концентрацию препарата, вызывающую гибель 50 % клеток, — определяли с помощью программы Graphpad Prism 6.0.

Результаты. Нуфлеин эффективно подавляет жизнеспособность клеток HeLa с $IC_{50} = 2,9 \times 10^{-8}$ М, в то время как цисплатин в таких же условиях менее эффективен ($IC_{50} = 6,2 \times 10^{-6}$ М). На модели нормальных клеток — фибробластов кожи крыс IC_{50} для нуфлеина и цисплатина составили $1,94 \times 10^{-6}$ и $1,47 \times 10^{-5}$ М соответственно.

Заключение. Нуфлеин обладает высокой цитостатической активностью на клетках рака шейки матки человека, превосходящей активность цисплатина в 200 раз. На нормальных клетках нуфлеин оказывал в 100 раз менее выраженное цитотоксическое действие, чем на опухолевых клетках, что очень ценно в плане повышения избирательности химиотерапии опухолей.

Н.В. Филатова, В.А. Мумятова, А.А. Балакина,
В.Д. Сень, А.А. Терентьев

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ И ЯДЕРНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ БЕЛКА P53 ПРИ ДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ

ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Опухолевый супрессор белок p53 регулирует транскрипцию ряда генов, продукты которых вовлечены в регуляцию клеточного цикла, репарацию ДНК, апоптоз, ингибирование ангиогенеза.

Цель исследования — изучить динамику экспрессии и ядерной транслокации белка p53 в опухолевых клетках MCF-7 (аденокарцинома молочной железы человека) при действии аминонитроксильных комплексов платины (IV) (BC118 — *e*-аммин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-*a*,*f*-бис(ацетат)-*b*,*c*-дихлороплатина (IV); BC146 — *e*-аммин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-*a*,*f*-бис(бутаноат)-*b*,*c*-дихлороплатина (IV); BC131 — *e*-аммин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-*a*,*f*-бис(пентаноат)-*b*,*c*-дихлороплатина (IV); BC149 — *e*-аммин-*d*-(3-амино-2,2,5,5-тетраметилпирролин-1-оксил)-*a*,*f*-бис(бутаноат)-*b*,*c*-дихлороплатина (IV).

Материалы и методы. Экспрессию белка p53 определяли с помощью денатурирующего электрофореза белков в полиакриламидном геле с последующим иммуоблоттингом. В качестве препаратов сравнения исследовали цисплатин и сатраплатин. Цисплатин, сатраплатин и аминонитроксильные комплексы платины (IV) наносили в концентрации, вызывающей гибель 50 % клеток, с экспозицией 6–24 ч.

Результаты. Обнаружено, что при действии всех исследуемых соединений максимум накопления белка p53 наблюдается после 12 ч действия комплекса. Накопление p53 в ядрах начинается уже после 6 ч экспозиции и снижается к 24 ч. Максимум накопления белка p53 в цитозоле наблюдается после 12–18 ч. Все изученные комплексы платины показали сходное действие на процесс внутриклеточного накопления p53, однако характер распределения белка между цитозолем и ядром при действии разных комплексов различается. Так, при действии цисплатина белок p53 появляется в цитоплазме через 12 ч и через 18 ч после введения обнаруживается слабо. Сходная динамика была обнаружена для сатраплатина и комплекса BC149. При действии комплексов BC118, BC146 и BC131 максимум проявления белка p53 в цитозоле приходится на 12 ч после введения.

Заключение. Динамика накопления белка p53 в ядре сходна для разных комплексов платины, однако его экспрессия в цитозоле при этом различна. Это свидетельствует о разной динамике синтеза белка p53 в ходе клеточного ответа на действие комплексов платины разной структуры.

Е.В. Филоненко, О.В. Чулкова, Л.Г. Серова
ВОЗМОЖНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ И РАКА ВУЛЬВЫ
МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ НМИРЦ
Минздрава России, Москва

Введение. Злокачественные опухоли вульвы занимают 4-е место и составляют 2,5–5,0 % злокачественных онкогинекологических заболеваний. Средний возраст больных раком вульвы составляет $67,0 \pm 1,5$ года. Включение фотодинамической терапии (ФДТ) в арсенал хирургических методов лечения в гинекологии расширило возможности радикальной и одновременно органосохраняющей терапии заболеваний вульвы.

Цель исследования — изучение эффективности ФДТ у пациенток с предраком и раком вульвы.

Материалы и методы. ФДТ была проведена 42 пациенткам с доброкачественными заболеваниями, предраком

(так называемые интраэпителиальные неоплазии вульвы) и раком вульвы. Из них у 13 (30,9 %) пациенток был диагностирован крауроз вульвы, у 8 (19,1 %) — интраэпителиальные неоплазии вульвы I–III степени, у 21 (50 %) — плоскоклеточный рак. Все пациентки были разделены на 2 группы: в 1-й ($n = 29$) препарат на основе хлорина еб (фотолон) вводили внутривенно капельно в дозе 1 мг/кг массы тела; во 2-й ($n = 13$) препарат на основе 5-аминолевулиновой кислоты (аласенс) наносили аппликационно в виде 20 % мази. Длительность лечения составляла 20–40 мин. Плотность энергии — 100–350 Дж/см.

Результаты. Лечебный эффект после ФДТ при патологии вульвы оценивался визуально, субъективно (отсутствие жалоб на зуд) и по данным цитологического или морфологического исследования через 3–6 мес после ФДТ. Положительный лечебный эффект был достигнут у всех пациенток через 3 мес. Полная клиническая ремиссия через 1 год после проведения сеанса ФДТ была достигнута у 40 (95,2 %) больных. У 2 (4,7 %) пациенток было проведено повторное лечение в связи с рецидивом заболевания. У 1 пациентки с диагнозом дисплазии вульвы III степени через 1 год по данным гистологического исследования диагностирована дисплазия вульвы II степени, и у 1 больной с дистрофическим заболеванием вульвы (крауроз) через 6 мес зарегистрированы клинические проявления болезни (зуд) и гиперкератоз плоского эпителия по данным гистологического исследования. Побочные проявления заключались в болевом синдроме после проведения ФДТ, который купировался приемом нестероидных противовоспалительных средств.

Заключение. Таким образом, полученные результаты ФДТ с использованием препаратов фотолон и аласенс при лечении пациенток с дистрофическим изменениями, интраэпителиальными неоплазиями и раком вульвы показали высокую лечебную эффективность с минимальным количеством побочных эффектов и отсутствием осложнений после проведенного лечения. Метод ФДТ позволил выполнить органосохраняющее лечение у больных с заболеваниями вульвы без ухудшения качества их жизни.

А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹,

С.Л. Рыбалко², Д.Б. Федорченко², Д.Ю. Блохин³

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ВИРУСАМ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП КЛЕТОК JURKAT/A4 С ФЕНОТИПОМ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

¹ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина;

²НИИ эпидемиологии и инфекционных заболеваний АМН Украины, Киев, Украина;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В лейкозных клетках с фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) апоптотический ответ при действии химиотерапевтических препаратов существенно снижен. Использование моделей лейкозных клеток со стабильным фенотипом МЛУ позволяет анализировать механизмы, препятствующие запуску в них программы апоптоза. Вместе с тем апоптоз, как известно, является одним из механизмов цитопатогенного действия многих вирусов. Определение чувствительности к вирусам

клеток с фенотипом МЛУ позволяет расширить наши представления о роли различных компонентов системы апоптоза как в реализации МЛУ, так и в развитии цитопатогенного эффекта при действии вирусов.

Цель исследования — сравнить чувствительность клеток линии Jurkat и ее клональной сублинии Jurkat/A4 с фенотипом МЛУ к вирусу простого герпеса (ВПГ), вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ) и вирусу диареи крупного рогатого скота (BVDV).

Материалы и методы. Линии клеток Jurkat, Vero, MT-4 и MDBK получены из банка клеточных линий ИЭПОР НАНУ. Клональная сублиния Jurkat/A4, полученная селекцией при действии на клетки Jurkat агонистических анти-CD95-антител, была предоставлена авторами. В работе использованы штамм ВН ВПГ 2-го типа и ВИЧ-1, продуцируемый клетками культуры MT4/BPII (НИИ вирусологии им. Д.И. Иванковского), BVDV (Институт ветеринарной медицины УААН). Вирусами заражали культуры Jurkat и Jurkat/A4, после чего определяли титр вирусов по цитопатогенному действию на чувствительных линиях клеток Vero (для ВПГ через 72 ч) и MDBK (для BVDV через 24 ч). О репродукции ВИЧ судили по уровню p24 в культуральной жидкости, после чего определяли инфекционный титр ВИЧ на чувствительных клетках MT-4 на 5-е сутки. Содержание гиподиплоидных клеток и клеток с активной формой каспазы-3 определяли с помощью цитофлуориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США) и набора Caspase-3, Active Form, mAb Apoptosis Kit: FITC (BD Bioscience Pharmingen, США).

Результаты. Инфекционные титры исследуемых вирусов оказались следующими: ВПГ — 4,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat и 5,5 lgID₅₀ в клетках Jurkat/A4; BVDV — 3,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat и 4,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat/A4; ВИЧ — 3,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat и 3,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat/A4. Инфицирование ВПГ увеличивало содержание гиподиплоидных клеток и клеток с активной формой каспазы-3 в равной степени в линиях Jurkat и Jurkat/A4.

Заключение. Клетки Jurkat и Jurkat/A4 оказались чувствительными к инфицированию ВПГ, ВИЧ и BVDV. При этом клетки Jurkat/A4 с фенотипом МЛУ более чувствительны к инфицированию ВПГ и BVDV в сравнении с клетками исходной линии Jurkat. Индукция каспазозависимой гибели клеток Jurkat/A4 при продуктивной инфекции ВПГ свидетельствует об активации в них эффекторных механизмов апоптоза.

Ю.П. Финашутина, В.А. Мисюрин, Е.Н. Пушкова,

Н.А. Лыжко, В.В. Тихонова, О.Н. Солопова, А.В. Мисюрин

ЭКСПРЕССИЯ И ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНОГО РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНОГО АНТИГЕНА GAGE1

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Белки семейства GAGE насчитывают около 16 членов и относятся к раково-тестикулярным антигенам, экспрессирующимся в различных опухолях. Экспрессия белков GAGE у здоровых людей происходит только в семенниках, однако было обнаружено, что активация экспрессии группы генов GAGE может происходить при различных раковых заболеваниях, и их экспрессия коррелирует с плохим прогнозом у больных раком желудка, раком пи-