

УДК 616.441.-006.6-092.9:615.252

В. В. ПУШКАРЬОВ, О. І. КОВЗУН

В. М. ПУШКАРЬОВ, М. Д. ТРОНЬКО

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», Київ

ПРОТЕКТОРНИЙ ЕФЕКТ ПАКЛІТАКСЕЛУ ЩОДО ГАММА-ВИПРОМІНЮВАННЯ В КЛІТИНАХ АНАПЛАСТИЧНОЇ КАРЦИНОМИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

PROTECTIVE EFFECT OF PACLITAXEL AGAINST GAMMA-RADIATION IN AMAPLASTIC THYROID CARCINOMA CELLS

Паклітаксел (Ptx) — один з найбільш ефективних протипухлинних препаратів, що використовується для лікування деяких видів злоякісних пухлин, включаючи рак легенів, грудної залози, сечового міхура, яєчників, голови та шиї, а також меланоми [1, 2]. У попередніх роботах ми показали його ефективність разом з іонізуючою радіацією (ІР) при лікуванні анапластичної карциноми щитоподібної залози (АТЦ) *in vivo* [3]. Іонізуюча радіація посилювала дію Ptx і, після 20 днів лікування мишей, пухлини зникали. Комбінована дія хіміотерапії та агентів, що ушкоджують ДНК, виявилась ефективним поєднанням для лікування АТЦ. У цьому дослідженні зроблено спробу з'ясувати механізми взаємодії Ptx і ІР на клітини АТЦ *in vitro*.

Матеріали та методи. Клітини культивували в середовищі RPMI-1640, що містило 5 % бичачої сироватки, 1 % пеніциліну/стрептоміцину, в атмосфері з 5 % CO₂ при 37 °С протягом 2 днів, двічі промивали PBS-буфером і замінювали середовище. Через 24 год внесли розчинений у диметилсульфоксиді (ДМСО) паклітаксел фірми Wako Chemicals (Японія) та збирали клітини через визначені проміжки часу. В контрольні проби вносили в такій же кількості ДМСО. Вестерн-блотинг проводили за методикою, описаною раніше [4].

Клітини опромінювали на установці потужністю 1 Гр/хв фірми Rony (Японія), модель PS-3100SB з джерелом випромінювання ¹³⁷Cs (γ; 0,662 МеВ). Дози опромінення 0,5–20 Гр.

Одержані дані представлені у вигляді M ± SD та опрацьовані статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента. Критичний рівень вірогідної значущості приймали за 0,05. Для оцінки ефекту Ptx щодо цитотоксичності ІР використовували регресійний аналіз.

Результати та їх обговорення. Вивчення комбінованої дії Ptx та ІР на виживання клітин показало, що остаточний ефект залежить від концентрації Ptx. Після 72 год інкубації клітин Ptx послаблює ефект ІР при 1 і 25 нмоль/л Ptx, а при 5 нмоль/л зниження виживаності клітин зі збільшенням дози ІР не спостерігалось. Ці дані підтверджуються

результатами регресійного аналізу, за яким цитотоксичний ефект ІР при цій концентрації Ptx був невірогідним (табл).

Ефект гамма-випромінювання та паклітакселу на життєздатність клітин анапластичної карциноми щитоподібної залози

Доза випро- мінен- ня, Гр	Відсоток живих клітин			
	Контроль	Паклітаксел, нмоль/л		
		1	5	25
0	100	90,56±2,6	23,06±2,23	15,94±0,72
2	92,34±4,32*	87,55±2,98	19,93±3,19	14,67±0,55
5	82,65±3,21*	83,8±2,02*	21,38±2,4	13,2±1,49*
10	74,66±3,83*	74,89±2,55*	20,21±2,43	11,06±1,77*

Примітки. Дані представлені у вигляді M ± SD (n = 6).

* — відміни від контролю (0 Гр) вірогідні, P < 0,05 (парний *t*-тест).

Оскільки Ptx послаблює цитотоксичність ІР, важливо було визначити стан основних регуляторів апоптозу при дії цих агентів як окремо, так і в комбінації. З рисунка видно, що у присутності обох агентів відбувалося зменшення кількості проапоптичного білка Вах і збільшення кількості антиапоптичного білка сурвайвіну порівняно з ефектом, зокрема ІР. І хоча активація каспаз при комбінованій дії обох агентів дещо посилювалася, підсумковий ефект їх дії, як видно з рисунка, був антиапоптичним.

Можливо, це пов'язано з конкуренцією за загальні сигнальні каскади, які активуються у відповідь і на генотоксичний стрес, і на стрес, обумовлений порушенням структури цитоскелета.

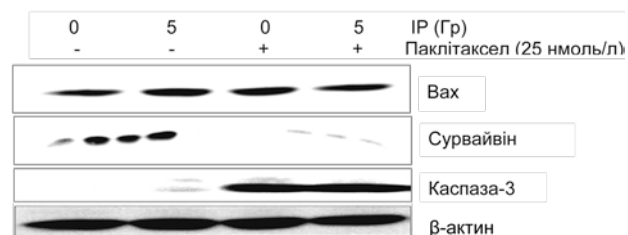


Рис. 1. Вплив Ptx та γ-опромінення на фактор апоптозу

Висновок. Таким чином, у концентраціях 1 нмоль/л та 25 нмоль/л паклітаксел послаблює, а при 5 нмоль/л повністю знімає ефект опромінення щодо життєздатності клітин анапластичної карциноми щитоподібної залози.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Rowinsky E. K. // *Ann. Rev. Med.* — 1997. — Vol. 48. — P. 353–374.
2. Kingston D. G. I. // *Phytochemistry.* — 2007. — Vol. 68. — P. 1844–1854.
3. Pushkarev V. M., Starenki D. V., Saenko V. O. et al. // *Exp. Oncol.* — 2011. — Vol. 33, N 1. — P. 24–27.
4. Пушкарьов В. М., Ковзун О. І., Тронько М. Д. та ін. // *Укр. біохім. журн.* — 2005. — Т. 77, № 1. — С. 65–71.
5. Levine A.J., Hu W., Feng Z. // *Cell Death Differ.* — 2006. — Vol. 13. — P. 1027–1036.

Резюме. Мета дослідження — вивчити біохімічний вплив препарату паклітаксел гамма-випромінювань (ІО) та їх комбінацію при лікуванні недиференційованих клітин щитоподібної залози, уражених раком. Спостерігалось явне протиріччя між паклітакселом і гамма-випромінюваннями у відношенні регуляторів клітинного циклу — онкосупресора p53 і c-Abl. Кінцевий результат цих досліджень під час першого періоду інкубації у 48 годин можна розглядати як антиапоптичний — паклітаксел знизив цитотоксичний ефект іонізуючого опромінення.

Ключові слова: паклітаксел, іонізуюче опромінення, рак щитоподібної залози, апоптоз, клітинний цикл.

Резюме. Цель исследования — изучить биохимическое воздействие препарата паклитаксел гамма-излучений (ИО) и их комбинацию при лечении недифференцированных клеток щитовидной железы, пораженных раком. Наблюдалось явное противоречие между паклитакселом и гамма-излучениями в отношении регуляторов клеточного цикла — онкосупрессора p53 и c-Abl. Конечный результат этих исследований во время первого периода инкубации в 48 часов можно рассматривать как антиапоптотический — паклитаксел снизил цитотоксический эффект ионизирующего облучения.

Ключевые слова: паклитаксел, ионизирующее облучение, рак щитовидной железы, апоптоз, клеточный цикл.

Summary. The aim of the paper was to study the biochemical effects of Paclitaxel (Ptx), γ -irradiation (IR) and their combination in undifferentiated thyroid cancer cells (ATC). There was a clear antagonism between Ptx and IR relative to cell cycle regulators — tumor suppressor p53, CHK2 and c-Abl. The net effect of these events during the first 48 h of cells incubation can be considered as antiapoptotic — Ptx attenuated cytotoxic effect of IR.

Keywords: Paclitaxel, ionizing radiation, thyroid cancer, apoptosis, cell cycle.