

Литература

1. Pessarakli M., Handbook of Photosynthesis, Third Edition. M. Pessarakli / CRC Press – 2016 – P. 846.
2. Juszczuk I.M., Effect of mitochondrial genome rearrangement on respiratory activity, photosynthesis, photorespiration and energy status of MSC16 cucumber (*Cucumis sativus*) mutant. I. M. Juszczuk, J. Flexas, B. Szal et al. // *Physiologia Plantarum* – 2007 – Vol. 131 – pp 527-541.
3. Usatov A. V., Spontaneous and Nitrosomethylurea-Induced Reversions in Plastome Chlorophyll Mutants of Sunflower *Helianthus annuus* L. A. V. Usatov, E. K. Razoriteleva, E. V. Mashkina, I. I. Ulitcheva // *Russian Journal of Genetics* – 2004 – Vol. 40 – No. 2 – pp. 186–192.
4. Bock R., Cell and Molecular Biology of Plastids R. Bock / Springer – 2007 – P. 524.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БЛЕББИСТАТИНА НА РАКОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА

Микулич А.В.¹, Kavaliauskiene S.², Juzenas P.²

¹*Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

²*Институт исследования рака, Больница университета г. Осло, Осло, Норвегия*

Онкологические заболевания являются одной из основных причин заболеваемости и смертности во всем мире — в 2012 году произошло около 14 миллионов новых случаев заболевания и 8,2 миллиона случаев смерти, связанных с раком [1]. Ожидается, что за ближайшие 20 лет число новых случаев заболевания возрастет примерно на 70%. Для Республики Беларусь данная проблема является особенно актуальной. Так, заболеваемость злокачественными заболеваниями в Республике Беларусь за последние 40 лет увеличилась в 3 раза: в 1971 г. она составляла 157 случаев на 100 000 населения, тогда как в 2012 г. — 456 случаев [2]. Поэтому ведется постоянный поиск и исследование новых высокоэффективных препаратов и методов лечения онкологических заболеваний. Одним из таких терапевтических препаратов может стать блеббистатин - соединение, получившее свое название из-за способности блокировать процесс известный как блеббинг. Данный процесс — обычное явление при цитокинезе и зависит от активности миозина. В серии экспериментов было обнаружено, что блеббистатин является ингибитором активности немышечного миозина II,

играющего важную роль в процессах клеточного деления, миграции, адгезии. Именно это позволило широко использовать его в качестве эффективного средства при изучении механизма динамических процессов цитокинеза. Вместе с тем, мало известно о фотосенсибилизирующих свойствах блеббистатина.

В настоящей работе исследовано фотодинамическое действие блеббистатина по отношению к раковым клеткам человека.

Использовали блеббистатин (кат. № B0560) от Sigma-Aldrich Norway AS (Норвегия). В качестве объектов исследования были выбраны культуры клеток человека: раковые – аденокарцинома простаты (Du145 и LNCaP), глиобластома (U87), меланома (FEMX-I); здоровые - иммортализованные фибробласты (F-11hTERT). Оценку цитотоксических эффектов блеббистатина проводили через 3 и 24 часа после добавления в 96-луночных планшетах с плоским дном. Фотодинамическое действие блеббистатина на культуры клеток исследовали при их облучении с помощью установки из 4 флуоресцентных ламп со спектром излучения 390 – 470 нм с максимумом $\lambda = 420$ нм (плотность мощности действующего излучения – 11 мВт/см²). Для оценки выживаемости клеток использовали колориметрические методы.

Анализ цитотоксического действия блеббистатина на культуры клеток в условиях *in vitro* при их инкубации в диапазоне концентраций 0-200 мкМ показывает, что выживаемость клеток для концентраций блеббистатина до 100 мкМ после 3 ч инкубации находится в пределах $90 \pm 10\%$. Применение максимальной концентрации (200 мкМ) увеличивает цитотоксичность до $75 \pm 10\%$. При инкубации блеббистатином в течение 24 ч наблюдается зависимое от концентрации изменение цитотоксического действия. При этом при концентрации блеббистатина 200 мкМ выживаемость клеток составляет 20% для F11-hTERT, 30% для U87, ниже 10% для Du145, FEMX-I и LNCaP. Таким образом, цитотоксическое действие блеббистатина при инкубации в течение 24 ч увеличивается по сравнению с инкубацией в течение 3 ч.

Фотодинамическое действие блеббистатина на раковые и здоровые клетки человека исследовали при концентрации 25 мкМ с целью минимизации цитотоксических эффектов (рисунок 1). Из рис.1 следует, что облучение культур клеток, инкубированных блеббистатином в течение 24 ч, вызывает фотодинамический эффект, причем выживаемость клеток при облучении в отсутствие блеббистатина изменяется незначительно. Кроме этого, наблюдается ярко выраженное различие в фотодинамическом действии блеббистатина на культуры раковых (Du145, LNCaP, FEMX-I) и

здоровых(F-11hTERT) клеток (рис.1, Е). Следует отметить, что фотодинамическое действие на клетки U87 практически не отличается от действия на клетки F11-hTERT. Возможным объяснением таких различий могут быть морфологические особенности и степень подвижности указанных клеток.

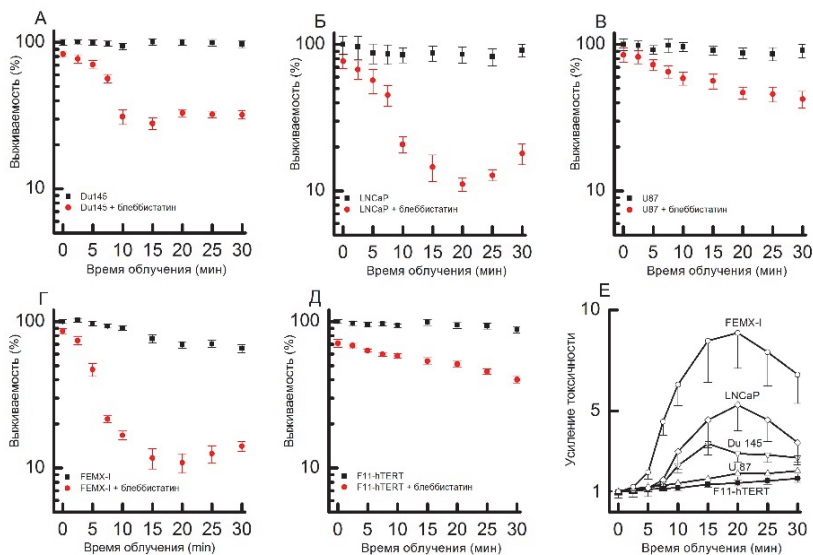


Рисунок 1. Фотодинамическое действие блеббистатина (25 мкМ) на культуры клеток человека: А) Du145, Б) LNCaP, В) U87, Г) FEMX-I, Д) F11-hTERT. Е) Усиление токсичности, вызываемое облучением, вычислено по отношению к группам с блеббистатином без облучения.

Клетки Du145, LNCaP, FEMX-I проявляют меньшую подвижность по сравнению с клетками U87 и F11-hTERT. Известно, что концентрация блеббистатина 5 - 25 мкМ оказывает стимулирующее действие на подвижность клеток астроцитомы (клетки U87, U251, SNB19, T98), увеличивая при этом активность миозина II. Можно предположить, что ослабление фотодинамического действия в случае клеток U87 и F11-hTERT связано с ингибированием активности миозина II.

Наши данные показывают, что возможным механизмом фотодинамического действия блеббистатина являются процессы с образованием ради-

кальных форм кислорода, о чем свидетельствует резкое изменение оптических характеристик флуоресцентного зонда дигидрородамина 123 (DHR 123), который, как известно, чувствителен к образованию пероксинитрита (ONOO^-), и практически отсутствие такого изменения для зонда Singlet Oxygen Sensor Green (SOSG), селективного к образованию синглетного кислорода – $^1\text{O}_2$. Кроме того, воздействие оптическим излучением на буферные растворы блеббистатина приводит к образованию фотопродукта(ов), что подтверждается присутствием изобестической точки в спектре поглощения блеббистатина при длине волны $\lambda = 365$ нм и увеличением степени поглощения в УФ-области при увеличении времени облучения, а также изменением флуоресцентных характеристик блеббистатина при возбуждении с длинами волн $\lambda_{\text{возб.}} = 330$ нм и 400 нм.

Таким образом, при воздействии оптическим излучением блеббистатин проявляет фотосенсибилизирующие свойства с выраженным эффектом по отношению к раковым клеткам человека.

Литература

1. World Cancer Report 2014 / ed.: B. W. Stewart, C. P. Wild. - Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2014. - 630 p.
2. Суконко, А. Г. Улучшение онкологической службы и совершенствование медицинской науки республики / О.Г. Суконко, С.А. Красный, А.И. Ролевич // Здравоохранение. – 2014. - № 9. - С. 16-23.