

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ИНГИБИТОРОВ РАЗЛИЧНЫХ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ КЛЕТКИ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛЕТОК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЦИТАРНОМ ЛЕЙКОЗЕ

В.В. Пасюков, Н.А. Федуро, О.В. Сергиевич, Н.А. Дрейчук, И.Б. Тарас, Н.В. Гончарова, А.В. Бакун, А.И. Свирновский

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий

Несмотря на то, что одной из основных причин случаев неэффективности терапии опухолевых заболеваний по-прежнему считается развитие лекарственной резистентности, современный уровень знаний о множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) часто не позволяет успешно находить способы ее преодоления [1, 2]. Известно, что в организме клетки опухоли взаимодействуют с ростовыми и антиапоптотическими факторами, продуцируемыми микроокружением органов, в частности, клетками стромы костного мозга. При этом микроокружение опухоли играет решающую роль в ее судьбе, и появляется все больше доказательств того, что окружающие стромальные клетки являются одной из главных причин химиорезистентности опухолей, рецидивов новообразований и их неизлечимости [6]. При повреждении опухолевых клеток в них запускаются несколько репаративных систем, специфически восстанавливающих определенный тип повреждений [3]. В частности, репарация нарушений ДНК, повышенная активность детоксицирующих систем глутатиона и гиперэкспрессия белков множественной лекарственной устойчивости обеспечивают формирование нечувствительности опухолевых клеток к терапевтическим воздействиям химической и физической природы [4, 5]. Очевидно, что использование сочетания терапевтических воздействий в комплексе с ингибиторами различных защитных систем клетки, влияющих как на внутриклеточные механизмы клеточной защиты, так и на их взаимодействие с микроокружением, то есть на фундаментальные механизмы выживания клеток, может усилить ответ лейкозных клеток на лекарственные средства в зависимости от механизма их действия.

Исходя из этого, целью нашего исследования явилась оценка возможности подавления механизмов лекарственной резистентности клеток при хроническом лимфоцитарном лейкозе (ХЛЛ) с использованием совместного действия противоопухолевых лекарственных средств и ингибиторов различных защитных систем клетки, таких как ингибиторы белков множественной лекарственной резистентности, системы метаболизма глутатиона, репарации ДНК, межклеточных взаимодействий. Основной же задачей в перспективе является разработка системы максимального подавления резистентности лейкозных клеток к лекарственным средствам, применяемым при ХЛЛ в клинике.

Материал и методы. В исследовании использовали образцы клеток периферической крови пациентов с ХЛЛ, получавших лечение в гематологических отделениях 9-й клинической больницы г. Минска. Лекарственную чувствительность опухолевых клеток в условиях сочетанного воздействия лекарственных средств, циклоспорина А (CsA), бутионин сульфоксимины (BSO), ингибиторов ДНК протеинкиназы (NU7026), каталитической субъединицы ДНК протеинкиназы (ванилина), PI3-К киназы (кофеина), ATM/ATR киназ (CGK 733) и леналидомида определяли с помощью стандартных методов проточной цитофлуориметрии (с использованием Annexin V и 7-AAD) и теста на цитотоксичность (с помощью 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиум бромида (МТТ-тест).

Результаты и их обсуждение. Обнаружено влияние стромального фактора на изменения чувствительности клеток пациентов с ХЛЛ к ряду лекарственных средств. С использованием МТТ-теста показано, что выживаемость лейкозных клеток на стромальном монослое на 20–30% выше, чем у клеток в суспензии. При этом подобная тенденция отмечена не у всех пациентов, что свидетельствует об индивидуальных различиях в чувствительности пациентов и необходимости учета возможного влияния стромального фактора при доклинических исследованиях при прогнозировании устойчивости ХЛЛ к химиотерапии.

При действии отдельных ингибиторов совместно с лекарственными средствами обнаружено незначительное усиление действия некоторых противоопухолевых лекарственных средств (флударабела, лейкокладина, иматиниба) для разных образцов клеток при добавлении в среду культивирования клеток CsA, в то время как BSO достоверно на изменения чувствительности клеток не влиял. Влияние отдельных ингибиторов репарации ДНК на действие определенных лекарственных средств, в частности флударабела, было разнонаправлено в случае с кофеином и NU 7026, при этом флударабел увеличивал гибель клеток в комплексе с ванилином и CGK 733 (рисунок).

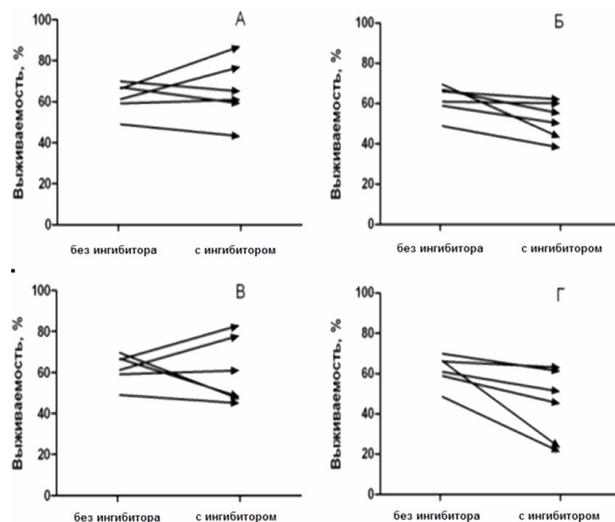


Рисунок — Влияние отдельных ингибиторов репарации ДНК на действие определенных лекарственных средств

В качестве ингибитора межклеточных контактных взаимодействий использовали лекарственное средство леналидомид, который является представителем класса противоопухолевых иммуномодуляторов, оказывает иммуномодулирующее и антиангиогенное действие. При действии леналидомида и противоопухолевых лекарственных средств оценивали количество позитивных клеток по 7AAD среди клеток, инкубированных на строме. При этом наблюдали тенденцию к увеличению количества клеток в стадии некроза при совместном действии леналидомида и таких цитостатических средств, как флударабел, винкристин, этопозид, дексаметазон. Таким образом, леналидомид, нарушая либо ингибируя межклеточные контакты между лейкозными клетками и стромой, способствует ускорению апоптотического процесса и переходу в его поздние стадии, усилению некроза и гибели опухолевых клеток в отношении ряда химиопрепаратов.

Наиболее эффективными с точки зрения подавления стромально обусловленной лекарственной резистентности оказались сочетания ингибиторов различных защитных систем клетки в комплексе с лекарственными средствами. Так, при действии сочетаний ингибиторов белков множественной лекарственной резистентности и системы метаболизма глутатиона наблюдается значительное усиление чувствительности ХЛЛ-клеток к большинству лекарственных средств во всех проанализированных образцах. Чувствительность к некоторым лекарственным средствам (флударабелу, лейкокладину, доксорубину, иматинибу) усиливается более чем в два раза и зависит от исходной индивидуальной чувствительности образца ХЛЛ-клеток. Использование сочетаний действия ингибитора белков множественной лекарственной резистентности и ингибиторов репарации ДНК (кофеина и NU 7026) также усиливало действие противоопухолевых лекарственных средств, в частности к иматинибу, флударабелу, лейкокладину. Максимальным действием обладали сочетания CsA+кофеин. Вместе с тем усиление действия лекарственных средств за счет сочетанного применения ингибиторов зависит от исходной лекарственной чувствительности образцов ХЛЛ-клеток. Результаты НИР используются в учебном процессе кафедры экологической медицины и радиобиологии Международного государственного экологического университета им. А.Д. Сахарова (акт внедрения в учебный процесс от 27.04.2012), в учебном процессе кафедры клинической гематологии и трансфузиологии БелМАПО (акт внедрения в учебный процесс от 11.10.2013).

Заключение. Показан достоверный эффект совместного действия противоопухолевых лекарственных средств и ингибиторов различных защитных систем клетки для преодоления лекарственной резистентности клеток при ХЛЛ. Использование комплекса ингибиторов защитных систем клетки более эффективно, нежели их использование по отдельности.

THE COMBINED ACTION OF ANTICANCER DRUGS AND INHIBITORS OF DIFFERENT CELL PROTECTIVE SYSTEMS FOR OVERCOMING MECHANISMS OF DRUG RESISTANCE IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA IN VITRO

V.V. Pasyukov, N.A. Feduro, O.V. Sergievich, N.A. Dreychuk, I.B. Taras, A.I. Svirnovski, N.V. Goncharova, A.V. Bakun

Field of application: oncohaematology, pharmacology.

Proposals for co-operation: further research in this area may be carried out in the cooperation with hematological departments of institutions of health.

Литература

1. c-Abl regulates Mcl-1 gene expression in chronic lymphocytic leukemia cells / J.C. Allen [et al.] // *Blood*. – 2011. — Vol. 117, № 8. — P. 2414–2422.
2. Brandford, S. Mutational analysis in chronic myeloid leukemia: when and what to do? / S. Brandford, T.P. Huges // *Cur. Opin. Hematol.* — 2011. — Vol. 18, № 2. — P. 111–116.
3. Ecker, G. Development of modulators of multidrug resistance: A pharmacoinformatic approach / G. Ecker, P. Chiba // *Pure Appl. Chem.* — 2004. — Vol. 76, № 5. — P. 997–1005.
4. DNA-PK, ATM and MDR proteins inhibitors in overcoming fludarabine resistance in CLL cells / A.I. Svirnovki [et al.] // *Exp. Oncol.* — 2010. — Vol. 32, № 4. — P. 258–262.
5. Yang, P. Role of the glutathione metabolic pathway in lung cancer treatment and prognosis: a review / P. Yang // *J. Clin. Oncol.* — 2006. — Vol. 24, № 11. — P. 1761–1769.
6. Свирновский, А.И. Хронический лимфоцитарный лейкоз: парадигмы и парадоксы / А.И. Свирновский // *Мед. новости*. — 2008. — № 13. — С. 7–19.