



ДОКСОРУБИЦИН ПОВЫШАЕТ ЭКСПРЕССИЮ МАРКЕРОВ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛИОБЛАСТОМЕ 101/8



А.И.Алексеева^{1,2*}, А.С.Халанский¹, С.Ф.Дрозд³, Н.С.Осипова^{4,5}, А.М.Косырева¹, Г.В.Павлова^{2,3}

¹ ФГБНУ «НИИ морфологии человека им. ак. А.П.Авцына», Москва, Россия

² ФГБНУ Институт Высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

³ ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им Н.Н. Бурденко, Москва, Россия

⁴ ООО «Технология лекарств», Химки, Московская область, Россия

⁵ РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Мультиформная глиобластома – злокачественное новообразование ЦНС астроцитарного происхождения. Средняя продолжительность жизни пациентов без лечения составляет 13 месяцев с момента постановки диагноза. К причинам низкой эффективности лечения относят позднюю диагностику, невозможность полного иссечения опухоли и низкую эффективность химиотерапевтических препаратов, обусловленную как лекарственной устойчивостью опухолевых клеток, так и наличием гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), препятствующего проникновению цитостатиков в опухоль. В результате неэффективного лечения происходит повторное развитие опухоли из единичных клеток, не поддающееся лечению.

Доксорубицин – противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда, используемый для терапии солидных новообразований. Доксорубицин не используется для терапии глиобластомы, так как он не проникает в опухоль с интактным ГЭБ, однако, в экспериментах *in vitro* показана его высокая антипролиферативная активность. Недостатком доксорубицина, как и большинства цитостатиков является быстрое формирование множественной лекарственной устойчивости (МЛУ).

Цель работы. Изучение изменения экспрессии маркеров множественной лекарственной устойчивости глиобластомы 101/8 после терапии доксорубицином.

Материалы и методы. В эксперименте использовали самцов крыс Вистар (m=200-250 гр, n=20). Животным имплантировали глиобластому 101/8 в количестве 0,8-1,0 млн. клеток. Крысы были разделены на две группы: «Без лечения» (n=10) и »Докс» (n=10). Животным группы «Докс» в/в вводили водный раствор доксорубицина («Тева», Израиль) в дозе 1,5 мг/кг на 8, 11 и 14 дни после имплантации (таблица). На 18 день животных обеих групп забивали путём передозировки золетила (Virbas, Франция) и выделяли опухоль. Для анализа методом RT-PCR отбирали образцы центральной и периферической части опухоли (рис. 1). Для оценки изменения экспрессии генов МЛУ исследовали следующие маркеры: ABCB1b, MGMT и Wnt3 (праймеры «Евроген», Россия; реагенты для проведения ПЦР «Синтол», Россия; амплификатор Bio-Rad CFX-96, США).

Статистический анализ проводили с помощью непараметрического критерия Коновера, различия считали достоверными при $p<0,05$.

Таблица. Схема эксперимента

Группа	Шифр на рис. 2,3	Кол-во животных, n	Схема терапии
1. Контроль	Контроль	10	-
2. Глиобластома 101/8 (без лечения)	ГБМ 101/8 б/леч.	10	-
3. Глиобластома 101/8 -докс	ГБМ 101/8 -докс	10	Доксорубицин 1,5 мг/кг на 8,11,14 день после имплантации

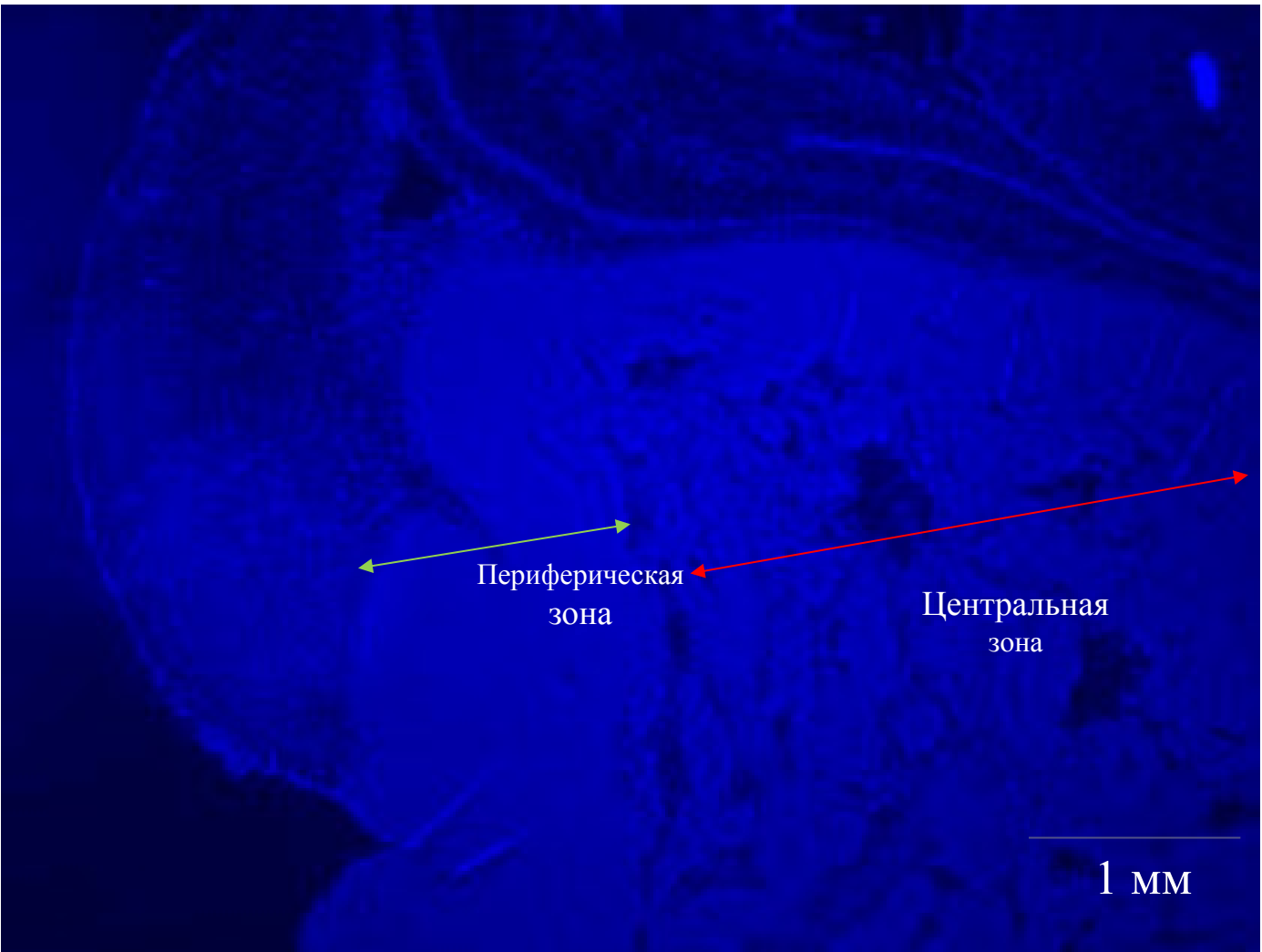


Рисунок 1. Глиобластома 101/8 без лечения на 14 день роста после имплантации. Окрашивание бисбензими́дом

Результаты и обсуждение. Введение доксорубицина крысам с глиобластомой вызывает значительное повышение экспрессии маркеров МЛУ в центральной части опухоли (рис.2) по сравнению с контрольной группой и не лечеными животными: в 53,5 раз увеличивается экспрессия гена MGMT, который кодирует белок репарации ДНК, удаляющий алкилирующие агенты (в том числе цитостатики) из клетки, приводя к формированию и росту МЛУ. Также в центральной области опухоли в 5,8 раз возрос уровень экспрессии ABCB1b, кодирующего р-гликопротеин - белок МЛУ, а гена Wnt3, участвующего в эмбриогенезе и являющегося протоонкогеном - в 7,5 раз.

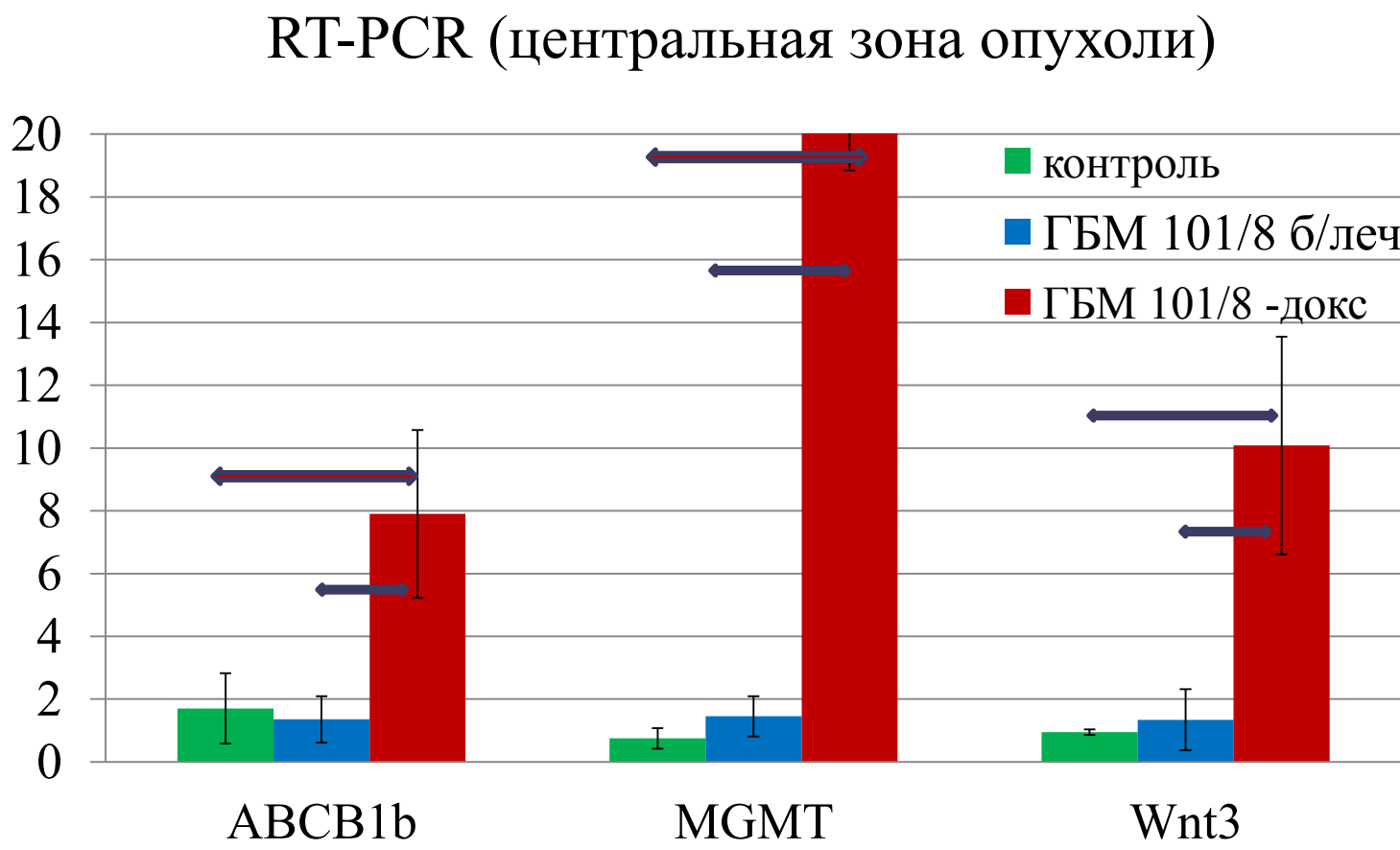


Рисунок 2. Уровень экспрессии маркеров МЛУ в центральной зоне глиобластомы 101/8 после лечения доксорубицином. $p<0,05$

Важно отметить, что изменение уровня экспрессии всех исследуемых маркеров в периферической области (рис.3) было выражено слабо (MGMT – не изменился, ABCB1b – увеличение в 1,4 раза и Wnt3 – увеличение в 2,8 раза). Выявленные различия уровня экспрессии маркеров МЛУ в центральной части опухоли и на периферии, возможно, связаны с увеличением проницаемости ГЭБ в центральной части опухоли, в которой наблюдаются обширные некрозы и кровоизлияния, и сохранением ГЭБ на периферии, что препятствует проникновению цитостатика в опухолевые клетки периферической области.

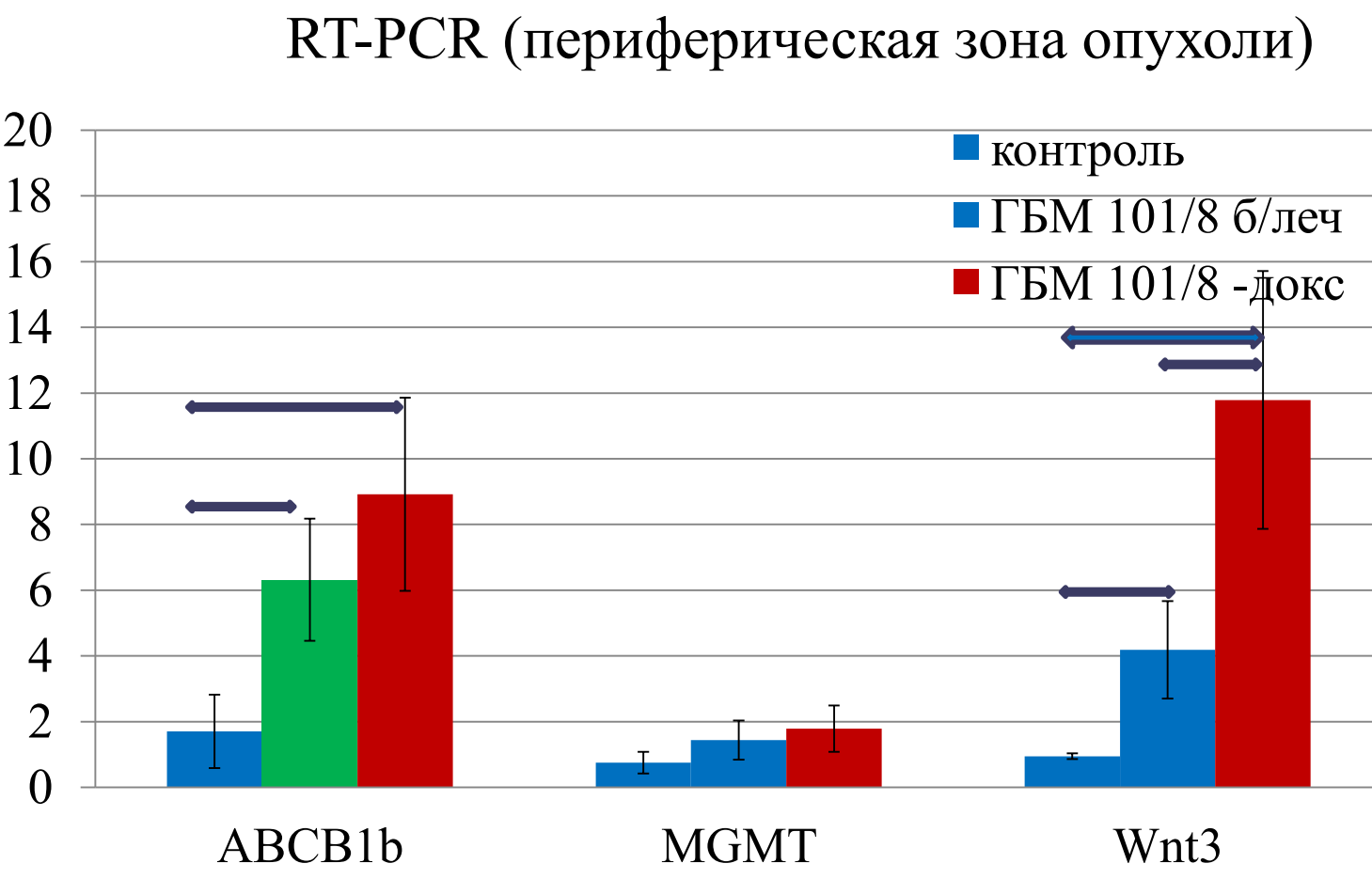


Рисунок 3. Уровень экспрессии маркеров МЛУ в периферической зоне глиобластомы 101/8 после лечения доксорубицином. $p<0,05$

Заключение. Таким образом, доксорубицин в центральной части опухоли повышает резистентность опухолевых клеток к цитостатикам за счет увеличения экспрессии генов МЛУ, что необходимо учитывать при терапии глиобластомы.

Литература.

1. Алексеева А.И., Халанский А.С. Федосеева В.В., Гореликов П.Л., Гельперина С.Э. Влияние донора оксида азота на противоопухолевую активность доксорубицина в отношении экспериментальной глиобластомы крыс. *Антибиотики и химиотерапия*. 2018;63:7-8.

2. Maksimenko, O., Malinovskaya, J., Shipulo, E., Osipova, N., Razzhivina, V., Arantseva, D., Yarovaya, O., Mostovaya, U., Khalansky, A., Fedoseeva, V., Alekseeva, A., Vanchugova, L., Gorshkova, M., Kovalenko, E., Balabanyan, V., Melnikov, P., Baklaushev, V., Chekhonin, V., Kreuter, J., & Gelperina, S. (2019). Doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles for the chemotherapy of glioblastoma: Towards the pharmaceutical development. *International journal of pharmaceutics*, 572, 118733. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118733>