

**Изучение параптозоподобной клеточной гибели в опухолевых клетках линий  
HEp-2 и MCF-7 в присутствии диэтилдитиокарбамата и гидроксикобаламина  
в культуральной среде**

**Научный руководитель – Соловьева Марина Евгеньевна**

*Шошина Олеся Олеговна*

*Студент (магистр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биотехнологический  
факультет, Москва, Россия

*E-mail: lesyash145@gmail.com*

Актуальным остается поиск веществ, вызывающих гибель опухолевых клеток, устойчивых к современным методам лечения. На данную роль могут претендовать соединения тиолового ряда. Так, ранее было показано, что при взаимодействии тиолов, таких как глутатион, ацетилцистеин, дитиотреитол, с ионом переходного металла кобальта ( $Co^{2+}/^{3+}$ ) в составе витамина B12 генерируется значительное количество перекиси водорода, приводящей к окислительному стрессу в опухолевых клетках [1]. Кроме того, для диэтилдитиокарбамата (DDC) было продемонстрировано, что он также активно вступает в реакцию с витамином B12 в форме гидроксикобаламина (ОНСбI), приводя к гибели клеток [2]. Однако о механизме инициации гибели известно ничего не было. Проведенный нами анализ растворов DDC с ОНСбI методом спектрофотометрии позволил отследить появление пика на 210 нм, свидетельствующий об образовании сульфоксидов в ходе реакции. Также было отмечено падение концентрации свободного кислорода в среде, не связанное, в отличие от предыдущих экспериментов с тиолами, с продукцией перекиси. Инкубация клеток опухолевой линии HEp-2 с 1 mM DDC в среде приводит к цитостатическому эффекту: через 48 ч количество живых клеток составляет 70% от контроля при 90-95%-жизнеспособности популяции. В сочетании с 25  $\mu$ M ОНСбI погибает 90% клеток. Для клеток MCF-7 уже через 6-8 ч наблюдали 90-95% гибель популяции, тогда как инкубация с 1 mM DDC без B12 не влияла на их жизнеспособность. Цитотоксический эффект сопровождается вакуолизацией цитоплазмы клеток. При этом отсутствуют характерные признаки апоптоза, такие как блеббинг мембраны, каспазная активность, субG1 пик при анализе клеточного цикла. Методом фазово-контрастной микроскопии была выявлена морфологическая вариабельность во внешнем виде клеток разных линий. Воздействие изучаемых веществ на клетки линии HEp-2 вызывает интенсивное формирование вакуолей, начиная с 3-4 часов инкубации. Среди клеток линии MCF-7 чаще всего встречается морфотип с 1 большой вакуолью, плотно примыкающей к ядру, начиная с 2-часовой инкубации. При этом клетки быстро округляются и открепляются от поверхности. Флуоресцентный краситель MitoSOX позволил выявить накопление активных форм кислорода митохондриями, начиная с 4-часовой инкубации с веществами. Также было зафиксировано повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитоплазме. Приведенные факты свидетельствуют в пользу гибели клеток по пути параптоза. Вопрос требует дальнейшего изучения.

Работа была поддержана грантом Правительства РФ № 14.Z50.31.0028.

**Источники и литература**

- 1) Solov'eva M. E. et al. Prooxidant and Cytotoxic Effects of Thiols Combined with Vitamin B12b //Doklady Biological Sciences.–МАИК Наука/Interperiodica, 2005.– Т. 404.– №. 1.– С. 410-412.

- 2) Solovieva M. E. et al. Hydroxycobalamin catalyzes the oxidation of diethyldithiocarbamate and increases its cytotoxicity independently of copper ions //Redox biology.– 2019.– Т. 20.– С. 28-37.