

## **Апоптоз злокачественных лимфоидных клеток человека при действии ресвератрола**

А.А. Фильченков<sup>1</sup>, М.П. Завелевич<sup>1</sup>, Н.Н. Храновская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии НАН Украины*

<sup>2</sup>*Институт онкологии АМН Украины*

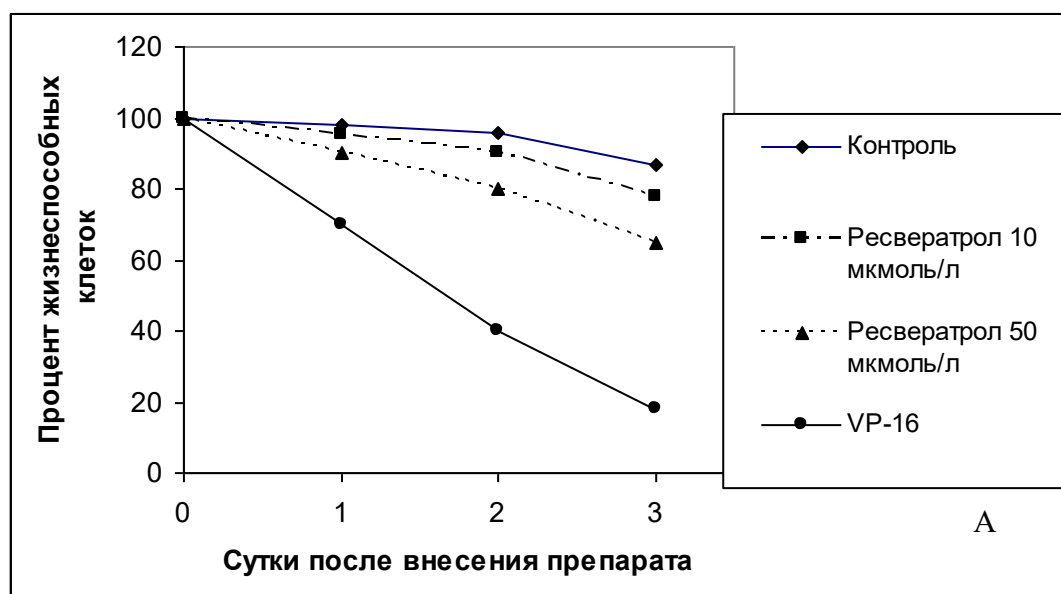
Ресвератрол (3,5,4-тригидростильбен) представляет собой фитоалексин, который синтезируется во многих растениях. Подобно всем полифенолам, это соединение обладает мощным антиоксидантным действием. Данные последних исследований свидетельствуют о том, что ресвератрол ингибирует пролиферацию опухолевых клеток, индуцирует их апоптоз (либо усиливает его индукцию при действии лучевой или химиотерапии), подавляет процессы ангиогенеза и метастазирования, а также проявляет выраженное иммуномодулирующее действие [1]. Хотя механизмы реализации апоптоза, индуцируемого ресвератролом, остаются во многом неизвестными, показана способность этого вещества вызывать в различных опухолевых клетках как Fas-зависимый, так и Fas-независимый апоптоз. При этом нормальные клетки гораздо менее чувствительны к индукции апоптоза ресвератролом по сравнению с опухолевыми (см. [1]).

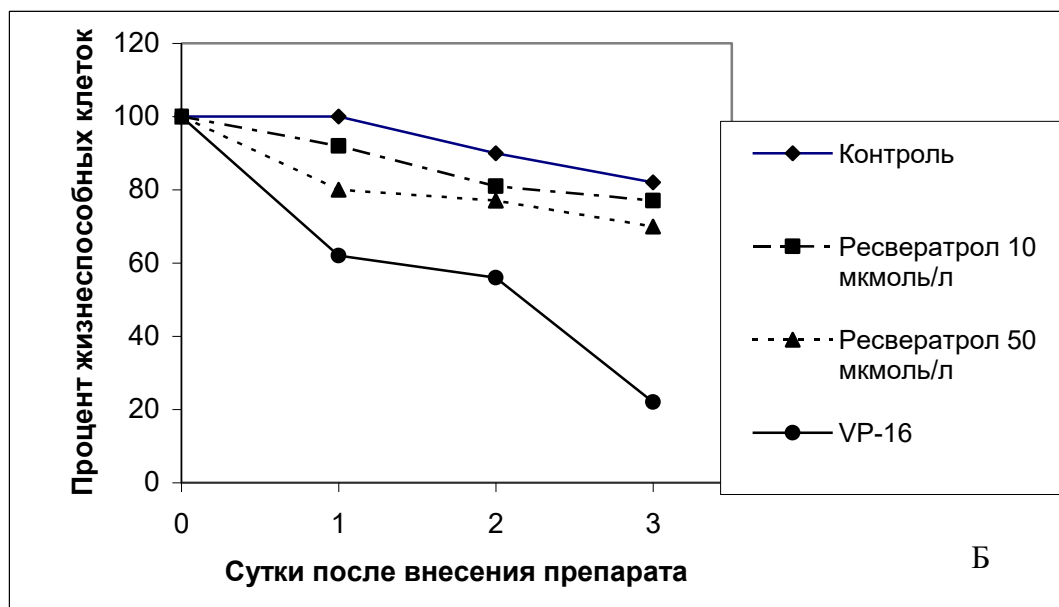
Целью исследований было: провести оценку антипролиферативного и апоптоз-индуцирующего действия на злокачественные лимфоидные клетки человека, а также исследовать возможное участие каспазы-3 в механизмах апоптоза, инициируемого ресвератролом.

В качестве экспериментальных моделей использовали перевиваемые линии злокачественных лимфоидных клеток человека: В-клеточную линию Namalwa, происходящую из лимфомы Беркитта, и полученную нами линию клеток фолликулярной лимфомы человека Uk-02 [2].

Образцы клеток, обработанных ресвератролом, анализировали с помощью светового или флуоресцентного микроскопа (количественный анализ апоптотических клеток, окрашенных Хехстом-33342), а также на проточном цитофлуориметре (выявление гиподиплоидных клеток после окраски пропидиум йодидом). Активацию каспазы-3 оценивали на проточном цитофлуориметре с помощью FITC-конъюгированных моноклональных антител C92-605 против активной формы каспазы-3 (Becton Dickinson, США), как описано ранее [3].

На рис. 1 представлены кривые выживаемости клеток при действии двух концентраций ресвератрола, а также препарата сравнения VP-16 (этопозид). Показано, что перевиваемые В-клеточные культуры злокачественных лимфоидных клеток Namalwa и Uк-02, представляющих лимфомы разного типа, и имеющие некоторые иммунофенотипические различия, практически одинаково реагируют на ресвератрол. В наименьшей из использованных нами концентраций этот препарат практически не оказывал токсического воздействия на клетки на протяжении нескольких недель.

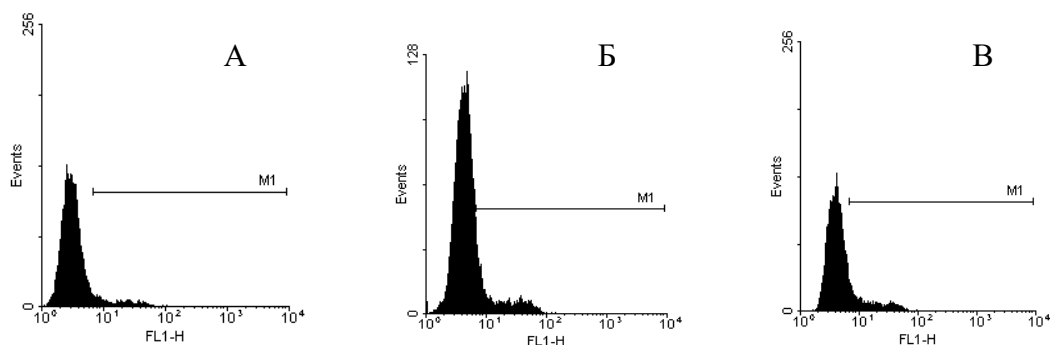




**Рис. 1.** Выживаемость клеток линий Namalwa (А) и Uк-02 (Б) при действии ресвератрола

Вместе с тем, ресвератрол в концентрации 20 и 50 мкмоль/л тормозит пролиферацию лейкозных клеток, и на 2-е и 3-и сутки культивирования в образцах появляются клетки с морфологическими признаками апоптоза. Значения апоптотического индекса, определяемые по окрашиванию Хехстом-33342 или проточной цитофлуориметрией, были относительно низкими, составляя на 1-е сутки инкубации 6 и 11% при концентрации ресвератрола 20 и 50 мкмоль/л, соответственно.

С помощью моноклональных антител С92-605 против активной формы каспазы-3 была показана активация этой эндопептидазы после культивирования клеток с различными дозами ресвератрола даже при весьма низком значении апоптотического индекса (рис. 2). Уже в первые сутки от начала инкубации с ресвератролом в клетках отмечается статистически достоверная активация каспазы-3 (около 15% по сравнению с 3-5% в интактных клетках). При этом, однако, дозозависимости в активации каспазы-3 не отмечено.



**Рис. 2.** Активация каспазы-3 в клетках МТ-4, обработанных ресвератролом (24 ч): А – контроль; Б – ресвератрол 20 мкмоль/л; В – ресвератрол 50 мкмоль/л.

Таким образом, показано, что ресвератрол, являясь относительно нетоксическим препаратом, вызывает апоптоз лейкозных клеток, сопровождающийся активацией эффекторной каспазы-3. Эти данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований антилейкемических свойств ресвератрола.

## Литература

1. **Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S, Takada Y.** Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2004; **24** (5A): 2783-2840.
2. **Фильченков АА, Завелевич МП, Надгорная ВА, Несина ИП, Бучинская ЛГ.** Иммунофенотипическая характеристика и цитогенетические особенности клеток новой перевиваемой линии Uk-02, полученной из клеток фолликулярной лимфомы. *Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупика*. Київ, 2004, випуск 13, книга 4.
3. **Завелевич МП, Сєвко ОЛ, Фільченков ОО.** Активация каспазы-3 та індукція апоптозу злюкаєсних клітин Т-лімфобластного лейкозу людини під впливом ресвератролу. *Медична хімія* 2004; **3** (6): 168.