

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

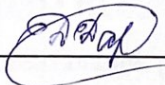
Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
СОЧЕТАННОЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ БИНАЗЫ И
ДОКСОРУБИЦИНА ПО ОТНОШЕНИЮ К КЛЕТКАМ КАРЦИНОМ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Обучающийся 4 курса

группы 01–904

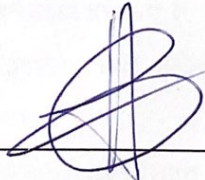
"13" июня 2023 г.



Дегтярева Д.А.

Научный руководитель
к.б.н., доцент


"13" июня 2023 г.



Зеленихин П.В.

Заведующий кафедрой
микробиологии
д.б.н., проф.

"13" июня 2023 г.



Ильинская О.Н.

Казань–2023

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Типы антрациклинов	7
1.2 Доксорубицин	8
1.2.1 Механизм действия и токсичность доксорубицина	9
1.2.2 Кардиотоксичность доксорубицина	10
1.2.3 Доксорубицин как средство терапии опухолей	11
1.3 Рибонуклеазы	13
1.3.1 Разновидности рибонуклеаз	13
1.3.2 Потенциальное медицинское применение микробных РНКаз	15
1.3.3 Биназа	16
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	19
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	19
2.1 Используемые в экспериментальной работе материалы	19
2.1.1 Культивирование клеточных культур	19
2.2 Колориметрическое определение выживаемости клеток при помощи МТТ – теста	20
2.3 Характеристика сочетанного действия препаратов	21
2.4 Статистическая обработка результатов	24
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	25
3.1 Цитотоксическая активность биназы и доксорубицина в отношении линии клеток ВТ–20	25
3.1.1 Цитотоксическая активность биназы в отношении линии клеток ВТ–20	25

3.1.2	Цитотоксическая активность доксорубина в отношении линии клеток ВТ-20	26
3.1.3	Сочетанное действие биназы и доксорубина на линию клеток ВТ-20	27
3.2	Цитотоксическая активность биназы и доксорубина в отношении линии клеток НВЛ-100	27
3.2.1	Цитотоксическая активность биназы в отношении линии клеток НВЛ-100	27
3.2.2	Цитотоксическая активность доксорубина в отношении линии клеток НВЛ-100	29
3.2.3	Сочетанное действие биназы и доксорубина на линию клеток НВЛ-100	30
	ВЫВОДЫ	32
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	33

ВВЕДЕНИЕ

Онкологические заболевания – это одна из самых острых проблем в мире. Рак является наиболее распространенной причиной инвалидности и повышенной смертности. Несмотря на достаточное количество противоопухолевых препаратов, их значительная токсичность к нецелевым клеткам, и выработка клетками – мишенями лекарственной устойчивости, к сожалению, очень усложняют задачу современным фармакологам.

Исследования, посвященные активности, а так же токсичности часто используемых антибиотиков еще раз доказывают, что лучший противоопухолевый препарат, с превосходной противоопухолевой активностью без кардиотоксичности, еще предстоит найти. Потому совершенно не удивительно, что старые, давно изученные вещества, такие как доксорубицин, даунорубицин, блеомицин остаются в рамках исследований для наилучшего изучения механизма действия, параметров токсичности и, конечно, для того, чтобы найти более эффективные стратегии и способы применения их у онкологических больных [Carvalho *et al.*, 2009].

В большинстве исследований *in vitro* мишенью воздействия тестируемых препаратов являются культуры опухолевых клеток, полученные из различных банков и коллекций клеточных культур, а также поддерживаемые в лабораториях. Вместе с этим, из-за генетической нестабильности малигнизированных клеток и их способности быстро накапливать изменения, результаты оценки цитотоксической активности могут находиться в зависимости от клональных свойств линии, используемой в локальной лаборатории, и должны быть валидированы для возможности дальнейшей экстраполяции.

Устойчивость к антибиотикам является глобальной проблемой. Поэтому необходимо четко осознавать, как подходить к назначению противоопухолевых препаратов так, чтобы эффективно проводить лечение и избежать развития клетками резистентности. Распространенным подходом в

этом случае является назначение комбинаций двух или более противоопухолевых агентов. Потенциальные преимущества комбинированной терапии включают синергетическое действие, расширение спектра противоопухолевых препаратов для снижения риска невосприимчивости к монотерапии и модуляцию иммунитета.

В связи со всем вышесказанным, целью работы стала оценка характеристики цитотоксического действия биназы (РНказы, выделенной из *Bacillus pumilus*) и противоопухолевого антибиотика доксорубина в отношении линии клеток карцином молочной железы BT-20 и HBL-100 при монообработке и в комбинации.

В связи с поставленной целью решались следующие задачи:

- 1) Оценить цитотоксическую активность биназы в отношении клеток BT-20 и HBL-100 при помощи МТТ-теста.
- 2) Выяснить цитотоксическую активность доксорубина в отношении клеток BT-20 и HBL-100 при помощи МТТ-теста.
- 3) Охарактеризовать сочетанное действие биназы и доксорубина на линии клеток BT-20 и HBL-100 и определить зоны синергии, аддитивности и антагонизма агентов.

ВЫВОДЫ

1) Показано выраженное концентрационно-зависимое цитотоксическое действие рибонуклеазы *Bacillus pumilus* в отношении линии клеток аденокарциномы молочной железы BT-20. IC₅₀ биназы после 24-часового инкубирования составило 462.1 ± 0.45 мкг/мл. Для клеток HBL-100 значение IC₅₀ биназы не было достигнуто (IC₅₀>1000 мкг/мл).

2) Описана цитотоксическая активность доксорубицина в отношении клеток BT-20 и HBL-100. IC₅₀ доксорубицина при 24-часовом инкубировании составило 1.7 ± 0.034 мкг/мл и 24 ± 0.12 мкг/мл для клеток BT-20 и HBL-100, соответственно.

3) Охарактеризованы параметры сочетанного действия биназы и доксорубицина на клетки аденокарцином молочной железы человека BT-20 и HBL-100. По отношению к обеим клеточным линиям сочетания противоопухолевых агентов проявляют преимущественно синергическое действие. В отношении клеток BT-20 синергизм действия выражен во всем диапазоне рассмотренных доз препаратов: 50 мкг/мл – 800 мкг/мл для биназы и 0.2 – 10 мкг/мл для доксорубицина. Для клеток HBL-100 синергия выражена практически во всем диапазоне исследованных доз.