

*Биологические науки***ИММУНИЗАЦИЯ БЕЛКОМ ТЕПЛООВОГО ШОКА-70 ВО ВРЕМЯ ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДА ИНГИБИРУЕТ РОСТ ПЕРЕВИТОЙ МЫШАМ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Аронов Д.А.¹, Скрабелинская Е.И.²,
Бойко А.А.², Антимонова О.И.³, Кесслер Ю.В.²,
Сапожников А.М.², Маргулис Б.А.³,
Моисеева Е.В.²

¹РУДН, Москва

²ИБХ РАН, Москва

³Институт Цитологии, Санкт-Петербург

Белки-шапероны, или белки теплового шока (БТШ), защищают клетки всех известных организмов от широкого спектра стрессовых факторов. БТШ70 без преувеличения можно назвать одним из самых консервативных белков в эволюции; гомология между БТШ70 человека и его бактериальным аналогом составляет 50%. Экспрессия БТШ70 повышается при воздействии самых различных по природе факторов. Интересно, что в человеческих клетках количество БТШ70 достаточно велико и в условиях покоя, причем уровень его базальной экспрессии различен в разных тканях. Особенно много БТШ70 в опухолевых клетках. Потенциальные возможности применения белков теплового шока в диагностике и лечении раковых заболеваний очевидны [1].

Так, уровень экспрессии БТШ70 при инвазивном протоковом раке молочной железы (РМЖ) строго коррелирует с уровнем гормональных рецепторов, стадией и статусом вовлеченных лимфоузлов. Поэтому полагают, что экспрессия БТШ70 играет важную роль при прогрессии РМЖ, что является основанием для разработки новых методов иммунотерапии РМЖ [2].

Известно, что за рубежом уже готовы к клиническим испытаниям вакцины, основанные на комплексах БТШ-70 с дендритными клетками [3]. Поэтому изучение влияния вакцинации БТШ70 во время латентной стадии роста карциномы мыши является актуальной задачей. Целью данной работы было определение влияния вакцинации БТШ70 на проявление перевитой карциномы молочных желез (КМЖ), её рост и выживание мышей-опухоленосителей.

Человеческий БТШ70 выделяли из биомассы бактериальных клеток как было показано ранее [4]. Для перевивки опухолевых клеток под правую переднюю лапу в область жировой

подушечки использовали самцов линии A/Sn собственной разводки в конвенциональных условиях (ИБХ РАН). Было задействовано пять групп животных. Самцам контрольной группы - не вводили ничего; группу 1 вакцинировали 1 раз (6 мкг БТШ70/мышь, n=5), группу 2 - 2 раза (6-14 мкг белка/мышь, n=5), группу 3 - 3 раза (6-14-14 мкг белка/мышь, n=6), группу 4 - 4 раза (6-14-14-14 мкг белка/мышь, n=6, см. Таблицу 1). В каждой группе так же имелись контрольные животные, которым вводили фосфатный буфер (ФБ) одновременно с введением БТШ70 (n=5 в каждой контрольной группе). Иммунизацию производили подкожно под правую переднюю лапу (в область перевивки). Первая иммунизация мышам экспериментальных групп 1-4 была произведена на третий день после перевивки опухоли, каждая последующая - с интервалом в неделю. За животными наблюдали в течение двух месяцев; ежедневно осуществляли контроль качества жизни подопытных мышей; размеры опухоли измеряли два раза в неделю как было показано ранее [5]. Результаты обрабатывали статистически с помощью программы Excel.

Была обнаружена тенденция к замедлению проявления и скорости роста КМЖ в группах, обработанных ФБ, по сравнению с ростом опухоли у необработанного контроля, однако средняя продолжительность жизни самцов этих контрольных групп различалась не достоверно. Явное замедление проявления опухолей во всех группах, кроме группы 4 было обнаружено начиная с 22-ого дня после перевивки. Размеры КМЖ в 1 и 2 группах были достоверно меньше, чем в контроле, получавшем ФБ. Таким образом, было обнаружено достоверное угнетение процесса проявления опухолей при иммунизации БТШ во время латентного роста перевитой опухоли молочной железы (группы 1 и 2, 1 и 2 иммунизации, соответственно). При проведении 3-4 вакцинаций последние две инъекции попали на время проявления опухолей, что, возможно привело к отмене эффекта угнетения роста опухоли в среднем. Однако и в этих группах были достигнуты поразительные результаты - полная отмена роста КМЖ у 1/6= 17% реципиентов, хотя и в группе 1 (единственная вакцинация на 3й день) у 1/5= 20% животных опухоль также не обнаруживалась. Все контрольные животные погибли к 53 дню после перевивки. Выживание на конец эксперимента представлено в таблице.

Выживание самцов после вакцинации БТШ70 через 2 месяца после перевивки КМЖ

Группа	n=	Препарат	Кол-во вакцинаций	Выживание	Излеченные
0	7	ничего	нет	0	0
0.1	5	ФБ	1 раз	1/5=20%	0
1.1	5	БТШ	1 раз	4/5=80%	1/5=20%
0.2	5	ФБ	2 раза	1/5=20%	0
1.2	5	БТШ	2 раза	2/5=40%	0
0.3	5	ФБ	3 раза	2/5=40%	0
1.3	6	БТШ	3 раза	2/6=33%	1/6=17%
0.4	5	ФБ	4 раза	1/5=20%	0
1.4	6	БТШ	4 раза	2/6=33%	1/6=17%

На основании полученных данных были сделаны выводы о том, что 1-2 вакцинации выделенным нами человеческим БТШ70 во время латентного периода роста перевитого рака молочной железы замедлили проявление и скорость роста проявившейся КМЖ у мышей-опухоленосителей, что привело к улучшению выживаемости животных по сравнению с обработанным ФБ и непролеченным контролем; при этом доля полностью излеченных животных была незначительной (1/10=10%). Проведение 3-4х вакцинаций отменило эффект ингибирования роста опухоли в среднем, однако не уменьшило долю излеченных животных (2/12=17%).

В итоге, вакцинация выделенным нами человеческим БТШ70 представляется перспективным методом иммунотерапии РМЖ, однако необходимо проведение дальнейших экспериментов (в том числе и на спонтанных мышинных моделях РМЖ) для оптимизации режимов вакцинации и выяснения механизмов обнаруженных эффектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гужова И.В. и др. Шаперон HSP70 и перспективы его использования в противоопухолевой терапии. Цит., 2005; 47(3): 187-199
2. Kalogeraki A et al. Correlation of heat shock protein (HSP70) expression with cell proliferation (MIB1), estrogen receptors (ER) and clinicopathological variables in invasive ductal breast carcinomas. J Exp Clin Cancer Res. 2007; 26(3):367-368.
3. Gong J et al. A heat shock protein 70-based vaccine with enhanced immunogenicity for clinical use. J Immunol. 2010;184(1):488-496.
4. Novoselova TV et al. Treatment with extracellular HSP70/HSC70 protein can reduce polyglutamine toxicity and aggregation. J Neurochem. 2005; 94(3):597-606
5. Moiseeva E.V., 2005. Original approaches to test anti-breast cancer drugs using novel set of mouse models. <http://igitur>

archive.library.uu.nl/dissertations/2005-1130-200033/index.htm

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

Белозерова А.А., Лукашенко М.Г.
Тюменский государственный университет
Тюмень, Россия

Устойчивость к условиям окружающей среды представляет собой одно из проявлений общебиологического принципа гомеостаза, т.е. способности организма сохранять относительное постоянство внутренней среды при изменении внешних условий (Полевой и др., 2001). Свойство солеустойчивости представляет собой наследуемую потенциальную возможность растений адаптироваться к засолению среды, которая проявляется лишь в условиях повышенной концентрации солей в субстрате (Удовенко, 1977).

С целью изучения влияния различных типов засоления на изменчивость ряда признаков корневой системы и побегов 7 сортов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) мы проращивали семена в чашках Петри в опытных вариантах на растворах NaCl и Na₂SO₄ с осмотическим давлением 1 МПа, в контроле - на дистиллированной воде.

В нашем эксперименте изученные образцы характеризовались различной лабораторной всхожестью семян в опытных вариантах. На фоне с хлоридным засолением всхожесть в среднем по сортам составила 59,0%, на растворе сульфата натрия - 45,4%, в контроле - 78,3%.

Сульфатное засоление вызвало снижение большинства изученных признаков корневой системы и побега в большей степени, чем хлоридное. По сравнению с контролем количество корней на фоне с Na₂SO₄ в среднем по образцам уменьшилось на 34,67%, на фоне с