

А. В. Паршиков¹, Г. В. Петрова²

Цитотоксические эффекты синтетических производных α -токоферола и митомицина С на клетки Caco 2

¹Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

²Институт биохимии имени А. В. Палладина Национальной академии наук Украины, г. Киев

Ключевые слова: α -токоферол, NAD(P) H-хиноноксидоредуктаза 1, митомицин С, клетки Caco 2

К настоящему времени накоплены экспериментальные доказательства способности природных изомеров α -токоферола (α -ТФ) и его синтетических производных проявлять цитотоксические эффекты по отношению к культивируемым клеткам различного генеза, в том числе раковым и трансформированным [1]. Внимание исследователей к этому феномену обусловлено, прежде всего, возможностью использования данных соединений в противоопухолевой терапии. В наших предыдущих исследованиях установлено, что чувствительность нормальных клеток крыс к цитотоксическому действию аналогов α -ТФ зависит от базального уровня активности в них NAD(P) H-хиноноксидоредуктазы, а также показана способность данных соединений модулировать активность энзима [2].

NAD(P)H-хиноноксидоредуктаза 1 (DT-диафараза, NQO1, 1.6.99.2) – цитозольный гомодимерный флавопротеин – участвует, по крайней мере, в трех системах биохимических реакций: одноступенчатом двухэлектронном восстановлении хинонов до гидрохинонов, поддержании в восстановленной активной форме эндогенных антиоксидантов, регуляции стабильности опухолевого супрессора и проапоптического фактора белка p53. Такой широкий спектр биологической активности позволяет DT-диафаразе участвовать в регуляции процессов антиоксидантной защиты,

детоксикации ксенобиотиков и запрограммированной гибели клеток [3]. DT-диафараза экспрессируется практически во всех органах и тканях млекопитающих, ее активность относительно легко модулируется *in vivo* и *in vitro*, при этом как активация, так и ингибирование энзима приводят к выраженному физиологическому ответу. Так, активаторы DT-диафаразы обеспечивают лучшее выживание клеток и традиционно рассматриваются как соединения, снижающие риск развития оксидативного стресса, канцерогенеза и апоптоза [3, 4]. С другой стороны, ингибирование энзима в клетках раковых опухолей сопровождается как снижением резистентности клеток к химиотерапевтическим соединениям [5], так и реверсией их злокачественного фенотипа [6].

Участие DT-диафаразы во множественных биохимических реакциях, обеспечивающих гомеостаз клетки, дает основание предполагать возможность использования соединений, способных модулировать ее активность, в качестве терапевтических средств. К их числу могут принадлежать и производные α -ТФ. Так, гибель тимоцитов крыс под воздействием α -токоферола с укороченной до 6 атомов углерода боковой цепью (α -ТФ-С6) и α -токоферилсукцината (α -ТС) сопровождается протеолизом молекулы DT-диафаразы [7]. В то же время α -ТС, индуцируя апоптоз клеток рака простаты линии PC3, одновременно способен повышать их резистентность к проапоптическому действию хинонов. Этот эффект нивелируется при ингибировании эндогенной

DT-диафоразы, хотя α -ТС не индуцирует экспрессию энзима [8]. Неоднозначность эффектов производных α -ТФ по отношению к клеткам различного генеза и обусловила проведение данного исследования.

Цель исследования – выяснить способность синтетических производных α -ТФ индуцировать гибель клеток аденокарциномы эпителия толстого кишечника человека линии Сасо 2 и модулировать в них активность DT-диафоразы.

Материалы и методы. Использованные митомицин С и (+)- α -ТС произведены фирмой Sigma (США). Производные α -ТФ с укороченной боковой цепью синтезированы в отделе биохимии витаминов и коэнзимов Института биохимии имени А. В. Палладина НАН Украины [9].

Клетки Сасо 2 получены из коллекции банка клеточных линий тканей человека и животных Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии имени Р. Н. Кавецкого НАН Украины. Культивирование клеток проводили в полной среде DMEM, содержащей 10 % эмбриональной сыворотки теленка, 25 мМ глюкозы, антибиотика пеницилин (50 ед/мл) и стрептомицин (50 мкг/мл), при 37 °С в CO₂-инкубаторе (5 % CO₂ и 95 % влажности), в планшетах 24- и 96-лунок. По достижении 80 % конфлюэнтности клетки инкубировали с исследуемыми соединениями в концентрациях, обозначенных на рис. 1–4, в течение 18 ч. Гидрофобные вещества добавляли из концентрированных маточных растворов в этаноле предварительно разбавленными культуральной средой так, чтобы конечная концентрация органического растворителя не превышала 0,1 %. К клеткам в контроле добавляли соответствующее количество этанола. По завершении инкубации клетки отмывали физиологическим раствором Хенкса.

Жизнеспособность клеток оценивали с использованием 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенил-тетразолийбромида (МТТ-тест) согласно техническому протоколу фирмы-производителя (Sigma, США). За 100 % принимали поглоще-

ние света раствором формазана, образованного клетками в контроле.

Активность DT-диафоразы определяли согласно методу, описанному в работе [10]. К клеткам в ячейке 96-луночного планшета добавляли 25 мкл раствора, содержащего 0,8 % дигитонин, 2 ммоль/л EDTA-Na, 25 ммоль/л трис-HCl буфер, pH, 7,8, и инкубировали 10 мин при 37 °С, а затем еще 10 мин при комнатной температуре и встряхивании. Вносили 100 мкл среды, содержащей 25 ммоль/л трис-HCl буфер, pH 7,5; 0,7 мг/мл БСА; 0,01% Твин-20; 5 мкмоль/л FAD; 30 мкмоль/л NADP⁺; 1 ммоль/л глюкозо-6-фосфат; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу (2 ед./мл); 0,3 мг/мл МТТ и 50 мкмоль/л менадиона. Пробы инкубировали при 37 °С, реакцию останавливали добавлением 25 мкл раствора, содержащего 0,3 ммоль/л дикумарола и 5 ммоль/л K₃PO₄ в 0,5 % диметилсульфоксиде. Поглощение света определяли при длине волны 570 нм на фотометре планшетного типа Multiscan EX (Thermo, США) против пробы интактных клеток, среда инкубации которых дополнительно содержала 0,15 ммоль/л дикумарола. За 100 % принимали поглощение пробы клеток в контроле.

Содержание белка определяли с использованием реагента бицинониновая кислота – CuSO₄ согласно техническому протоколу фирмы-производителя (Sigma, США).

Экспериментальные данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Проведено три независимые эксперимента, инкубацию клеток с соединениями в каждой концентрации проводили в четырех параллельных постановках. Статистическую достоверность результатов оценивали в программе OriginPro9 с помощью t-критерия Стьюдента, различия считались достоверными при P < 0,05.

Результаты и их обсуждение. Исследованы три синтетические производные α -ТФ – α -токоферол и α -токоферилхинон с укороченными до 6 атомов углерода боковыми цепями (соответственно α -ТФ-С₆ и α -ТХ-С₆, короткоцепочечные производные), а также α -токоферилсукцинат (α -ТС). Концен-

трации использованных соединений соответствуют диапазону физиологических концентраций α -ТФ в сыворотке крови человека.

Увеличение концентрации α -ТФ-С₆ приводит к постепенному падению выживаемости клеток Сасо 2, достоверное снижение их жизнеспособности наблюдается в диапазоне концентраций 50–100 мкмоль/л, количество погибших клеток при максимальной концентрации аналога составляет 29 %. Снижение активности ДТ-диафоразы в клетках Сасо 2 также зависит от концентрации α -ТФ-С₆ и при ее значении 100 мкмоль/л составляет 43 % (рис. 1).

В наших предыдущих исследованиях показано снижение жизнеспособности клеток крыс различного генеза при действии α -ТФ-С₆. При концентрации С₆-аналога 100 мкмоль/л количество погибших тимоцитов и спленоцитов составляет около 75 %, а гепатоцитов – 50 % [2]. Однако клетки Сасо 2 оказались менее чувствительными к цитотоксическому действию короткоцепочечного аналога α -ТФ по сравнению с нормальными клетками крыс. С другой стороны, α -ТФ-С₆ в концентрации 75 мкмоль/л вызывает гибель практически 100 % клеток эпителиоидной карциномы линии HeLa-S3K и клеток острой лейкемии линии СЕМ-С-7 человека [11], а апоптоз 50 % популяции клеток рака простаты линий LNCaP и PC-3 – в диапазоне концентраций 15–20 мкмоль/л [12]. Очевидно, что такое расхождение в степени эффектов α -ТФ-С₆ на функционирование клеток различного генеза определяется зависимостью его цитотоксического действия от особенностей метаболизма клеток, одной из которых

может являться базальный уровень активности ДТ-диафоразы [2]. Известно, что экспрессия ДТ-диафоразы у млекопитающих обладает выраженной видовой и органной специфичностью, в результате чего ее активность в клетках различных тканей существенно различается. Так, у крыс наивысшая активность энзима присуща печени и легким [13]. У человека самая высокая активность ДТ-диафоразы выявлена в желудочно-кишечном тракте и в жировой ткани, в то время как в сердце и печени уровень ее экспрессии крайне низок [13, 14]. И хотя по данным литературы клетки Сасо 2 имеют наиболее низкую (по сравнению с другими линиями клеток карциномы кишечника человека) активность ДТ-диафоразы [15], по нашим данным ее специфическая активность в этом типе клеток составляет $(42,94 \pm 1,99)$ нмоль/(мин · мг протеина), что в 4,4 раза превышает таковую в гепатоцитах крыс [2]. В отличие от α -ТФ, традиционно считающегося универсальным антиоксидантом, α -ТФ-С₆ обладает прооксидантными и мембрано-дестабилизирующими свойствами [16], что, вероятно, и опосредует его цитотоксическое действие. Поскольку ДТ-диафораза относится к группе энзимов антиоксидантной защиты, ее высокий уровень активности в клетках Сасо 2 и может определять их относительно низкую чувствительность к цитотоксическому действию α -ТФ-С₆.

В отличие от α -ТФ-С₆, α -ТХ-С₆, являющийся потенциальным субстратом для ДТ-диафоразы, оказался неспособным влиять на выживаемость клеток Сасо 2 во всех исследованных концентрациях (рис. 2), а выявленное

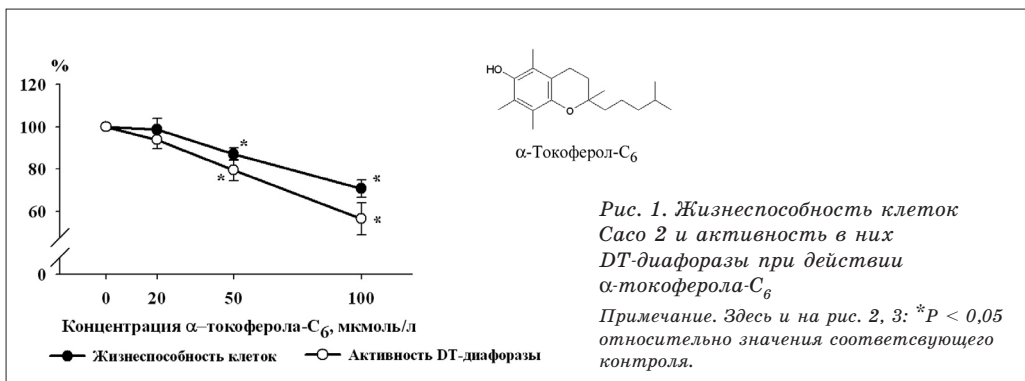


Рис. 1. Жизнеспособность клеток Сасо 2 и активность в них ДТ-диафоразы при действии α -токоферола-С₆

Примечание. Здесь и на рис. 2, 3: * $P < 0,05$ относительно значения соответствующего контроля.

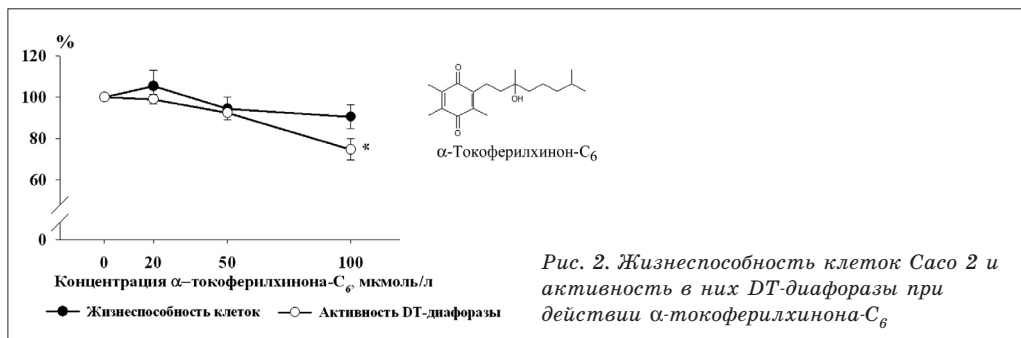


Рис. 2. Жизнеспособность клеток Caco 2 и активность в них ДТ-диафоразы при действии α -токоферилхинона- C_6

при его действии снижение активности ДТ-диафоразы не превышает 25 % и наблюдается лишь при концентрации 100 мкмоль/л.

Одним из основных свойств, опосредствующих токсические эффекты биологически активных хинонов, считается их способность к индукции оксидативного стресса. Последний формируется, когда фенольные хиноны при участии оксидоредуктаз системы цитохрома Р450 превращаются в промежуточные радикалы семихинона, которые, в свою очередь, вступая в неэнзиматическую реакцию с молекулярным кислородом, образуют его активные формы. Развитие именно такого биохимического сценария в клетке и предотвращает ДТ-диафараза, катализируя одноступенчатое восстановление хинонов до гидрохинонов минуя промежуточную стадию образования семихинонов [4]. Логично предположить, что, чем выше активность ДТ-диафоразы в клетках, тем ниже их чувствительность к цитотоксическому действию хинонов. Повышенная (по отношению к соответствующим нормальным тканям) активность ДТ-диафоразы считается характерной особенностью клеток большинства типов раковых опухолей [4, 17]. Выяв-

лена также способность ДТ-диафоразы к биоактивации некоторых хинонов, сутью которой является преобразование соединений с первоначально относительно низкой токсичностью в такие, которые обладают высоким уровнем токсичности [18]. Предполагается, что к таким соединениям относится митомицин С (ММС) – антибиотик хиноновой природы, официально используемый для лечения различных типов рака, в том числе и колоректального. Считается, что ММС нетоксичен для клеток с низкой активностью ДТ-диафоразы, тогда как в клетках с высокой активностью энзима превращается при его участии в алкилирующее соединение, вызывающее образование поперечных сшивок цепи ДНК и ингибирование ее синтеза [19]. Исходя из этого, мы использовали данное соединение как положительный контроль.

Однако ММС также оказался неспособным к индукции гибели клеток Caco 2, хотя при его действии наблюдается значительное ингибирование ДТ-диафоразы (рис. 3).

Полученные результаты оказались неожиданными с точки зрения предполагаемого механизма цитотоксичности ММС относительно клеток раковых

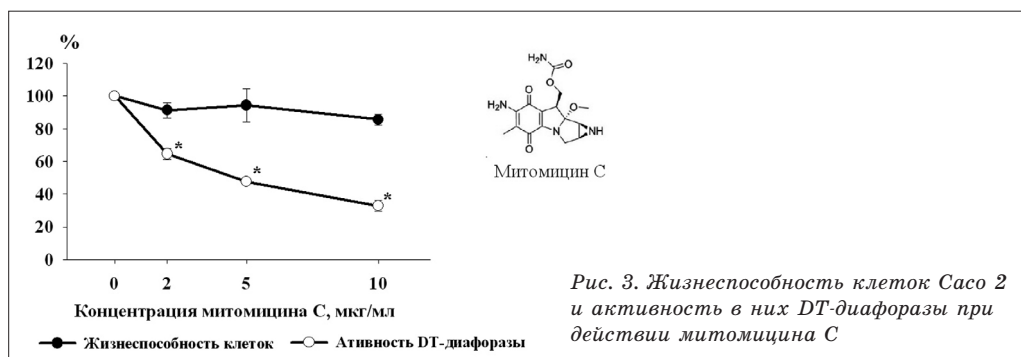


Рис. 3. Жизнеспособность клеток Caco 2 и активность в них ДТ-диафоразы при действии митомицина С

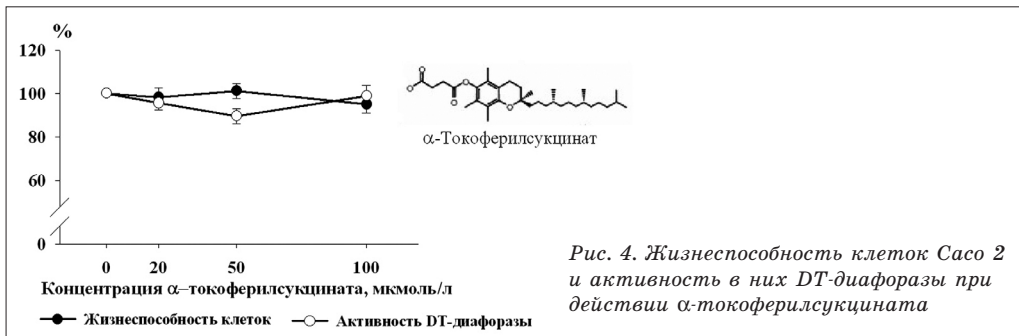


Рис. 4. Жизнеспособность клеток Caco 2 и активность в них DT-диафоразы при действии α -токоферилсукцината

опухолей. Однако отметим, что способность DT-диафоразы активировать ММС выявлена лишь при низких значениях pH. В физиологических же условиях ММС является не только плохим субстратом для DT-диафоразы, но и ее ингибитором [19, 20], что подтверждают полученные нами результаты. Следует также подчеркнуть, что степень ингибирования DT-диафоразы α -ТФ-С₆ (43 %, рис. 1) сопоставима с таковой для МСС в диапазоне концентраций 2–5 мкг/мл (35,0–52,5 %, рис. 3). Учитывая тот факт, что ингибирование энзима в клетках раковых опухолей сопровождается реверсией их злокачественного фенотипа [6], выявленная нами способность короткоцепочечных аналогов α -ТФ снижать активность DT-диафоразы может отражать и их потенциальную способность активировать дифференцирование раковых клеток. Приведенные результаты свидетельствуют о зависимости цитотоксических эффектов короткоцепочечных производных α -ТФ от базального уровня в клетках активности DT-диафоразы и подтверждают диагностическую важность ее определения для выбора вида химиотерапии.

Из всех производных α -ТФ, способных к индукции гибели клеток, наиболее хорошо изучен α -токоферилсукцинат (α -ТС), в основном, благодаря работам группы J. Neuzil [21], где показана возможность его использования как противоопухолевого средства. Предполагаемые на сегодня механизмы действия α -ТС многочисленны и разнообразны [21, 22] и, согласно одному из них, в цитотоксические эффекты α -ТС может быть вовлечена DT-диафоараза [8]. Как представлено на рисунке 4, α -ТС оказался неспособным как сни-

жать жизнеспособность клеток Caco 2, так и влиять на активность в них DT-диафоразы.

Аналогичные результаты были получены нами также и при исследовании эффектов α -ТС на гепатоциты крыс [2]. Отметим, что цитотоксические свойства α -ТС зависят от интактности его молекулы, поскольку гидролиз эфирной связи нивелирует способность аналога индуцировать гибель клеток [23]. Очевидно, присущая клеткам желудочно-кишечного тракта человека высокая активность неспецифической эстеразы обеспечивает превращение α -ТС в α -ТФ, который, как известно, не проявляет цитотоксических свойств.

Выводы

1. Цитотоксическое действие α -ТФ-С₆ на клетки линии Caco 2 проявляется в снижении их жизнеспособности и ингибировании активности DT-диафоразы, степень которого сопоставима с таковой при действии МСС в диапазоне концентраций 2–5 мкг/мл. При этом ММС не влияет на выживаемость клеток.
2. α -ТХ-С₆ не изменяет жизнеспособность клеток Caco 2, однако при концентрации 100 мкмоль/л снижает активность DT-диафоразы на 25 %.
3. α -ТС не проявляет цитотоксичности относительно исследуемых клеток.
4. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной противоопухолевой активности короткоцепочечных производных α -ТФ, однако, степень ее проявления зависит от особенностей метаболизма клеток, в частности, от базального уровня активности в них DT-диафоразы.

1. *Constantinou C.* Vitamin E and cancer: An insight into the anticancer activities of vitamin E isomers and analogs / *Constantinou C., Papas A., Constantinou A. I.* // *Int. J. Cancer.* – 2008. – V. 123, № 4. – P. 739–752.
2. *Petrova G. V.* The sensitivity of cells with the various level of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 to cytotoxic action of quinonimines and α -tocopherol synthetic derivatives / *Petrova G. V., Parshykov A. V.* // *Ukr. Biochem. J.* – 2015. – V. 87, № 4. – P. 45–53.
3. *Dinkova-Kostova A. T.* NAD(P)H:quinone acceptor oxidoreductase 1 (NQO1), a multifunctional anti-oxidant enzyme and exceptionally versatile cytoprotector / *Dinkova-Kostova A. T., Talalay P.* // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2010. – V. 501, № 1. – P. 116–123.
4. *Nioi P.* Contribution of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 to protection against carcinogenesis, and regulation of its gene by the Nrf2 basic-region leucine zipper and the arylhydrocarbon receptor basic helix-loop-helix transcription factors / *Nioi P., Hayes J. D.* // *Mutat. Res.* – 2004. – V. 555, № 1–2. – P. 149–171.
5. Suppression of NAD(P)H-quinone oxidoreductase 1 enhanced the susceptibility of cholangiocarcinoma cells to chemotherapeutic agents / *Zeekpudsa P., Kukongviriyapan V., Senggunprai L.* [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2014. – V. 33, № 1. – P. 1–13.
6. Superoxide-mediated mechanism induces growth inhibition of pancreatic cancer via a dicumarol inhibition of NADPH:quinone oxidoreductase / *Cullen J. J., Hinkhouse M. M., Grady M.* [et al.] // *Cancer Res.* – 2003. – V. 63, № 17. – P. 5513–5520.
7. *Петрова Г. В.* Эффекты α -токоферола и его производных на содержание NAD(P)H-хинон-оксидоредуктазы 1 в тимocyтах крыс / *Петрова Г. В., Донченко Г. В., Клименко Е. П.* // *Доповіді НАН України.* – 2014. – № 4. – С. 156–161.
8. α -Tocopheryl succinate pre-treatment attenuates quinone toxicity in prostate cancer PC3 cells / *Bellezza I., Grottelli S., Gatticchi L.* [et al.] // *Gene.* – 2014. – V. 539, № 1. – P. 1–7.
9. Пат. № 21527, UA, МПК C07D311/72 (1995.07), A61K31/355 (1995.07). Спосіб одержання 2,5,7,8-тетраметил-2-(4'-метил-3-пентенил)-6-ацетоксихроману / *Свіщук О. А., Донченко Г. В., Даневич О. І.* та ін.; - власник – Інститут біохімії ім. О.В. Палладина НАНУ. – № 95073189; опубл. 28.02.2000, Бюл. № 1.
10. *Prochaska H. J.* Direct measurement of NAD(P)H:quinone reductase from cells cultured in microtiter wells. A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers / *Prochaska H. J., Santamaria A. B.* // *Anal. Biochem.* – 1988. – V. 169, № 2. – P. 328–336.
11. Влияние α -токоферола и его производных на жизнеспособность культуры злокачественных клеток / *Донченко Г. В., Холодова Ю. Д., Кузьменко И. В.* [и др.] // *Укр. биохим. журн.* – 1998. – Т. 70, № 2. – С. 37–45.
12. Vitamin E facilitates the inactivation of the kinase Akt by the phosphatase PHLPP1 / *Huang P. H., Chuang H. C., Chou C. C.* [et al.] // *Sci. Signal.* – 2013. – V. 6, № 267. – P. ra19. – <http://www.sciencesignaling.org>.
13. *Rooseboom M.* Enzyme-catalyzed activation of anticancer prodrugs / *Rooseboom M., Commandeur J. N. M., Vermeulen N. P. E.* // *Pharmacol. Rev.* – 2004. – V. 56, № 1 – P. 53–102.
14. *Siegel D.* Immunodetection of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in human tissues / *Siegel D., Ross D.* // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – V. 29, № 3–4. – P. 246–253.
15. *Bonnesen C.* Dietary indoles and isothiocyanates that are generated from cruciferous vegetables can both stimulate apoptosis and confer protection against DNA damage in human colon cell lines / *Bonnesen C., Eggleston I. M., Hayes J. D.* // *Cancer Res.* – 2001. – V. 61, № 16. – P. 6120–6130.
16. *Петрова Г. В.* Мембранотропные и прооксидантные свойства короткоцепочечных производных α -токоферола / *Петрова Г. В.* // *Укр. біохім. журн.* – 2007. – Т. 79, № 4. – С. 39–45.
17. Dicumarol inhibition of NADPH:quinone oxidoreductase induces growth inhibition of pancreatic cancer via a superoxide-mediated mechanism / *Cullen J. J., Hinkhouse M. M., Grady M.* [et al.] // *Cancer Res.* – 2003. – V. 63, № 17. – P. 5513–5520.
18. Bioactivation of quinones by DT-diaphorase. Molecular, biochemical and chemical studies / *Ross D., Beall H., Traver R.D.* [et al.] // *Oncol. Res.* – 1994. – № 6. – P. 493–500.
19. *Volpato M.* Tailoring targeted therapy to individual patients: lessons to be learnt from the development of mitomycin C / *Volpato M., Phillips R.M.* // *Cancer Genomics. Proteomics.* – 2007. – V. 4, № 3. – P. 175–186.
20. Kinetics of NAD(P)H:quinone oxidoreductase I (NQO1) inhibition by mitomycin C *in vitro* and *in vivo* / *Gustafson D. L., Siegel D., Rastatter J. C.* [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* – 2003. – V. 305, № 3. – P.1079–1086.
21. Redox-active and redox-silent compounds: synergistic therapeutics in cancer / *Tomasetti M., Santarelli L., Alleva R.* [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2015. – V. 22, № 5. – P. 552–568.
22. The role of alpha tocopheryl succinate (α -TOS) as a potential anticancer agent / *Angulo-Molina A., Reyes-Leyva J., López-Malo A.* [et al.] // *Nutr. Cancer.* – 2014. – V. 66, № 2. – P. 167–176.
23. The selective antiproliferative effects of alpha-tocopheryl hemisuccinate and cholesteryl hemisuccinate on murine leukemia cells result from the action of the intact compounds / *Farris M. W., Fortuna M. V., Everen C. K.* [et al.] // *Cancer Res.* – 1994. – V. 54, № 13. – P. 3346–3351.

А. В. Паршиков, Г. В. Петрова

Цитотоксические эффекты синтетических производных α -токоферола и митомицина С на клетки Caco 2

Исследовали способность синтетических производных α -токоферола (α -ТФ) и митомицина С индуцировать гибель клеток аденокарциномы эпителия толстого кишечника человека линии Caco 2 и модулировать в них активность NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы 1 (DT-диафоразы).

С использованием МТТ-теста установлено, что только α -ТФ с укороченной до 6 атомов углерода боковой цепью (α -ТФ-С₆) в концентрациях 50–100 мкмоль/л способен снижать жизнеспособность клеток, в то время как короткоцепочечный α -токоферилхинон (α -ТХ-С₆), α -токоферилсукцинат (α -ТС) и митомицин С (ММС) не оказывают цитотоксического эффекта.

Все, кроме α -ТС, исследованные соединения снижают активность DT-диафоразы, а степень ингибирования энзима α -ТФ-С₆ в концентрации 100 мкмоль/л (43 %) сопоставима с таковой для ММС в диапазоне концентраций 2–5 мкг/мл (35–52,5 %). α -ТХ-С₆ снижает активность DT-диафоразы на 25 % лишь в концентрации 100 мкмоль/л.

Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной противоопухолевой активности короткоцепочечных производных α -ТФ, однако степень ее проявления зависит от особенностей метаболизма клеток, в частности, от базального уровня активности в них DT-диафоразы.

Ключевые слова: α -токоферол, NAD(P)H-хиноноксидоредуктаза 1, митомицин С, клетки Caco 2

О. В. Паршиков, Г. В. Петрова

Цитотоксичний ефект синтетичних похідних α -токоферолу та мітоміцину С на клітини Caco 2

Досліджували здатність синтетичних похідних α -токоферолу (α -ТФ) і мітоміцину С індукувати загибель клітин аденокарциноми епітелію товстого кишковика людини лінії Caco 2 і модулювати в них активність NAD(P)H-хіноноксидоредуктази 1 (DT-діафоразу).

З використанням МТТ-тесту встановлено, що тільки α -ТФ з укороченим до 6 атомів вуглецю бічним ланцюгом (α -ТФ-С₆) за концентрацій 50–100 мкмоль/л здатний знижувати життєздатність клітин, у той час як коротколанцюговий α -токоферилхінон (α -ТХ-С₆), α -токоферилсукцинат (α -ТС) і мітоміцин С (ММС) не мають цитотоксичного ефекту.

Усі, окрім α -ТС, досліджені сполуки знижують активність DT-діафоразу, а ступінь інгібування ензиму α -ТФ-С₆ за концентрації 100 мкмоль/л (43 %) порівнювана з такою для ММС у діапазоні концентрацій 2–5 мкг/мл (35–52,5%). α -ТХ-С₆ знижує активність DT-діафоразу на 25 % лише за концентрації 100 мкмоль/л.

Отримані результати свідчать про потенційну протипухлинну активність коротколанцюгових похідних α -ТФ, однак ступінь її прояву залежить від особливостей метаболізму клітин, зокрема, від базального рівня активності в них DT-діафоразу.

Ключові слова: α -токоферол, NAD(P)H-хіноноксидоредуктаза 1, мітоміцин С, клітини Caco 2

A. V. Parshykov, G. V. Petrova

The cytotoxic effect of α -tocopherol synthetic derivatives and Mitomycin C on Caco 2 cells

The effects of α -tocopherol (α -Toc) synthetic derivatives and mitomycin C on human colonic epithelial adenocarcinoma cell line Caco 2 viability and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (DT-diaphorase) activity were investigated.

Using MTT test it was shown that only α -Toc with shortened to 6 carbon atoms side chain (α -Toc-C₆) at concentrations of 50–100 μ mol/l is able to reduce cell viability, whereas short-chain α -tocopherol quinone (α -TQ-C₆), α -tocopherol succinate (α -TC) and mitomycin C (MMC) have no cytotoxic effects.

All tested compounds except α -TC reduce the activity of DT-diaphorase, and the degree of the enzyme inhibition by α -Toc-C₆ at 100 μ mol/l (43 %) is comparable to that for MMC in the concentrations range of 2–5 μ g/ml (35,0–52,5 %). α -TQ-C₆ reduces the DT-diaphorase activity by 25 % at 100 μ mol/l only.

The results and their analysis indicate the potential anticancer activity of the short-chain α -Toc derivatives; however, the degree of its manifestation depends on the cells metabolism particularity, especially on basal level of DT-diaphorase activity.

Key words: α -tocopherol, NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, mitomycin C Caco 2 cells

Надійшла: 10 березня 2016 р.

Контактна особа: Паршиков Олександр Вікторович, кандидат біологічних наук, науковий співробітник, відділ експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03057. Електронна пошта: o.parshykov@gmail.com