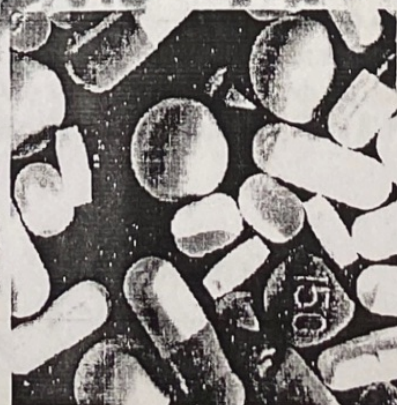


ИНФЕКЦИЯ, ИММУНИТЕТ И ФАРМАКОЛОГИЯ



№ 9
201

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АКЦИОНЕРНЫЙ КОНЦЕРН «УЗФАРМСАНОАТ»
ТАШКЕНТСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

ИНФЕКЦИЯ, ИММУНИТЕТ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Научно-практический журнал

3/2011

Журнал основан в 1999 г.

Редакционный совет

Председатель — Дусмуратов М.М.

Академик АН РУз, проф. Абдулходжаева М.С., акад. Акмалханов Ш.А., д.м.н., проф.
Амедова М.Д., д.м.н., проф. Алимов А.В., д.м.н., проф., акад. РАМН Бахрамов С.М., засл.
докт. науки РУз д.м.н., проф. Гариб Ф.Ю., акад. АН РУз проф. Даминов Т.А., д.х.н., проф.
Исмаилов Х.К., д.м.н., проф. Комилов А.И., засл. деят. науки РУз, член корр. Российской
акад. естественных наук, проф. Махмудов О.С, к.м.н. Нажмитдинов Ж.Ю., д.м.н., проф.
Убайдуллаев А.М., д.м.н., проф. Хаджибеков М.Х., д.м.н., проф. Шамсиев А.М., д.х.н., проф.
Юсупходжаев А.Н.

Редакционная коллегия

Главный редактор — д.б.н., профессор Бугланов А.А.

Зам. главного редактора - д.м.н., профессор Мавлянов И.Р.

Зам. главного редактора-д.б.н. профессор Мирахмедов А.К.

д.м.н., проф. Арипова Т.У., д.м.н., проф. Арипов А.Н., д.м.н., проф. Исхакова Х.И.,
д.м.н. Каримов М.М., д.м.н., проф. Каримов М.Ш., д.м.н., проф. Мусабаев Э.И., д.м.н., проф.
Мухамедов И.М., д.м.н. Шереметьев Н.Н. (отв. секретарь), д.б.н. Давранов К.С., д.б.н., проф.
Мухамедов Р.С, д.м.н., проф. Маматкулов И.Х., д.м.н., проф. Гулямов Н.Г., д.м.н.
Уразметова М.Д., д.б.н., проф. Ходжиметов А.А., проф. Шаисламов Б.Ш., д.м.н., проф.
Эшбоев Э.Х., д.м.н., проф. Нуралиев Н.А., к.б.н., доц. Очиллов К.Р.

Ташкент-2011

СОДЕРЖАНИЕ

Абдувалиев А.А., Саатов Б.Т., Мусаева Ш.Н., Гильдиева М.С. ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОСТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ КОЖИ БОЛЬНЫХ ВИТИЛИГО.....	5
Абдувалиев А.А., Гильдиева М.С., Азимова Б.Ж., Умеров О.И., Мусаева Ш.Н., Саатов Т.С. ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ГИСТОГОМОЛОГИЧНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА.....	9
Алимходжаева П.Р., Абдувалиев А.А., Икрамова С.Х., Гильдиева М.С., Шамирзаев Н.К. АЛЬТЕРНАТИВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИДРОКОРТИЗОНА.....	14
Арзанова И.А., Мирзабаева М.Н., Полянская В.П., Мангуш Х.А., Бугланов А.А. ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА ИММУНОГЛОБУЛИНА ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ ИЗ ДОНОРСКОЙ ПЛАЗМЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИОНООБМЕННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ.....	19
Ахмедова М.Д., Касымов О.Ш., Имомалнев У.Н., Ибрагимов А.А. КОМПЛЕКС СОВРЕМЕННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ НА БРУЦЕЛЛЕЗ В ОЧАГАХ ВЫСОКОГО РИСКА ЗАРАЖЕНИЯ.....	22
Байкулов А.К., Кадырова Д.А., Иноятова Ф.Х. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ УЧАСТКИ ДНК ДЛЯ ХИТОЗАНА В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВ.....	29
Бахрамов С.М., Махмудова М.А., Иноятов Х.П., Ашрабходжаева К.К., Махмудова Д.С. О НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ ЭНЗИМОПАТИЯХ.....	34
Болтаев К.Ж., Жарилкасынова Г.Ж., Ахмедова Н.Ш. ФЕНОМЕН РАЗВИТИЯ ПОЛИДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ ПРИ СТАРЕНИИ.....	39
Бурнашева А., Адылов Б.Ш., Пак А., Шарипова М.К., Турдикулова Ш.У., Мухаммедов Р.С. АНАЛИЗ МУТАЦИЙ ГЕНА ФЕНИЛАЛАНИНГИДРОКСИЛАЗЫ У БОЛЬНЫХ ФЕНИЛКЕТОНУРИ-ЕЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ УЗБЕКИСТАНА.....	42
Ибрагимова Э.А., Умеров О.И., Саатов Б.Т., Назирова Э.Р., Данилова Е.А. ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА КОЖИ И ВОЛОС БОЛЬНЫХ ВИТИЛИГО.....	51

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ГИСТОГОМОЛОГИЧНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Абдувалиев А.А.¹, Гильдиева М.С.², Азимова Б.Ж.¹, Умеров О.И.¹,
Мусаева Ш.Н.¹, Саатов Т.С.¹

¹ - Институт биохимии Академии наук Республики Узбекистан

² - Республиканский онкологический научный центр Республики Узбекистан

Роль биологически активных фосфолипидов весьма значительна в процессе роста злокачественных опухолей. Исследования показывают, что практически все типы фосфолипидов оказывают влияние на опухолевый рост, причем эффект зависит от их баланса в клетке. В последнее время даже обсуждается вопрос о возможности использования фосфолипидов в терапии опухолей [4, 7-9]. Фосфолипиды, участвуя в опухолевом процессе, действуют как на внутриклеточном, так и на внеклеточном уровнях. Внутри клетки, в частности, сфинголипиды, в качестве вторичных мессенджеров, ингибируют пролиферацию, стимулируют апоптоз (сфингозин, церамид, ганглиозид GD3) или, напротив, стимулируют пролиферацию и ингибируют апоптоз (сфингозин-1-фосфат, глюкозилцерамид) [2]. Некоторые из них (сфингомиелин) оказывают супрессивное или стимулирующее влияние в зависимости от типа опухоли [6]. На внеклеточном уровне гликоцилинголипиды (сфингозин-1-фосфат, ганглиозиды) являющиеся лигандами специфических рецепторов, активно участвуют в процессах метастазирования, инвазивности и ангиогенеза опухоли [5]. Фосфолипиды также, видимо, определяют устойчивость раковой клетки к противоопухолевым лекарственным препаратам, по крайней мере, для некоторых типов опухолей. Поскольку в любой клетке все фосфолипиды метаболически связаны один с другим, опухолевый процесс зависит от их соотношения, нарушение какого-либо звена метаболизма приводит к изменению их динамического равновесия, что и определяет судьбу клетки.

Цель работы - исследование влияния гистогомологичных (полученных из опухолевой ткани) фосфолипидов на ингибирование пролиферации и индуцирование апоптоза в злокачественно трансформированных клетках тела матки.

Материал и методы исследования.

При проведении исследований использовались опухолевые клетки аденокарциномы эндометрия, миомы матки и рака молочной железы различного гистогенеза, выделенные из опухолевых образцов биопсийного и операционного материалов, предоставленные Республиканским онкологическим научным центром МЗ РУз (г.Ташкент).

Фосфолипиды были выделены из опухолевого материала рака молочной железы в лаборатории биохимии липидов Института биохимии Академии наук РУз (г.Ташкент) по общепринятой методике [3]. Опухолевые клетки получали

из следующего биопсийного и операционного материалов: пациентка 50 лет, диагноз – субмукозная миома тела матки; пациентка 56 лет, диагноз – аденокарцинома эндометрия, $T_1N_0M_0$; пациентка 51 год, диагноз – аденокарцинома эндометрия, $T_2N_1M_0$. Опухолевую ткань промывали раствором 0,9% хлорида натрия и трипсинизировали 0,25% раствором трипсина, подогретого до 37°C. Полученную взвесь клеток многократно (3-4 раза) промывали в среде RPMI1640, с содержанием 100 ЕД/мл пенициллина и 50 ЕД/мл стрептомицина, центрифугированием при 1500 об/мин 10 мин. Полученные клетки вносили в плоскодонные лунки 24-х луночного полистиролового планшета («Динатек», США) вместе с суспензией исследуемых фосфолипидов, период инкубации составил 90 мин при температуре 37°C в атмосфере с $5,0 \pm 0,5\%$ CO_2 . По окончании периода инкубации в исследуемой взвеси определяли количество погибших, живых и апоптозных опухолевых клеток с использованием метода дифференциального окрашивания клеток трипановым синим. Подсчет производили не менее чем в 10 разных участках одного препарата, после чего находили среднее значение и выражали в % обнаруженные погибшие, живые и апоптозные клетки. В живой клеточной культуре, клетки, с окрашенным ядром и неокрашенной цитоплазмой считали апоптозными [1].

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи t-критерия Стьюдента. Различия показателей считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Для определения цитотоксической активности различных фракций гистогомологичных липидов, полученных из опухолевой ткани молочной железы, были использованы опухолевые клетки при доброкачественном (миома) и злокачественном (аденокарцинома матки) процессах. Мы отобрали 3 образца опухолевой ткани. В первом образце наблюдалось доброкачественное перерождение ткани, матки (миома тела матки). Во втором образце злокачественная трансформация ткани соответствовала стадии $T_1N_0M_0$ (аденокарцинома эндометрия). В третьем образце злокачественная трансформация ткани эндометрия соответствовала стадии $T_2N_1M_0$.

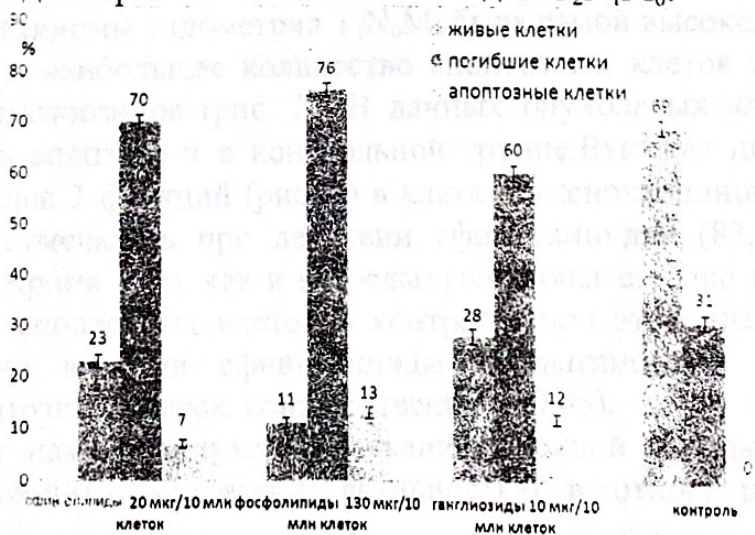


Рисунок 1. Цитотоксическая активность гистогомологичных липидов в отношении клеток эндометрия (операционный материал пациентки с диагнозом миомы матки).

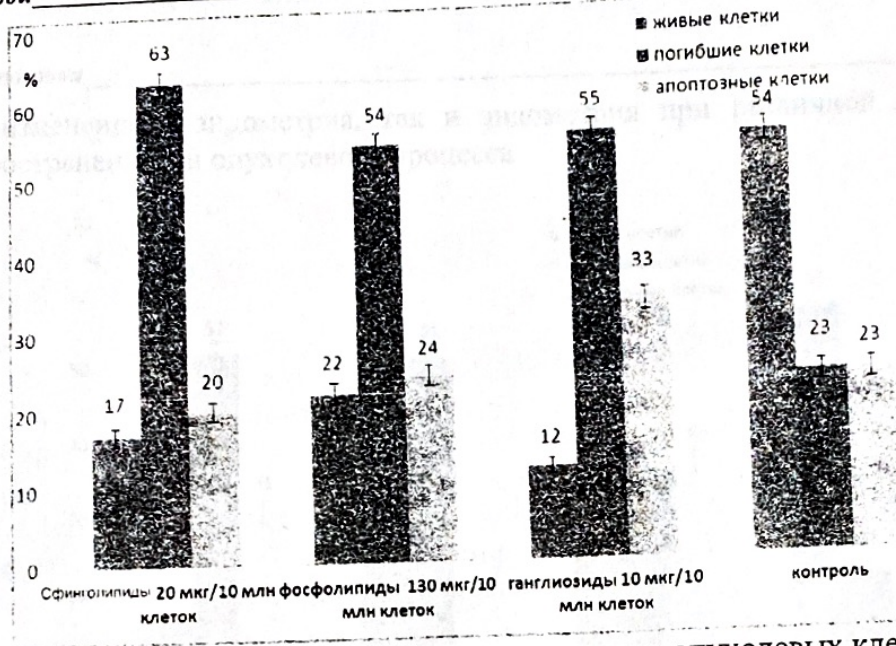


Рисунок 2. Цитотоксическая активность липидов в опухолевых клетках рака эндометрия (операционный материал пациентки с диагнозом аденокарцинома матки, $T_1N_0M_0$).

Первая выделенная из опухолевой ткани молочной железы фракция содержала сфинголипиды в концентрации 390 мкг/мл; вторая выделенная фракция содержала ганглиозиды в концентрации 148 мкг/мл; третья выделенная фракция состояла из суммы глицерофосфолипидов, общее содержание которых составляло 2,6 мг/мл. Контролем служили клетки не подвергавшиеся воздействию липидов. При воздействии всех фракций гистологических липидов на клетки неизмененного эндометрия мы обнаружили высокую их цитотоксическую активность. Однако при воздействии сфинго и фосфолипидов данный эффект в 1,2 раза был выше чем при воздействии ганглиозидов (рис.1). Апоптоз встречался в небольшом количестве клеток (от 7% до 13%) во всех опытных группах (рис.1).

Индукция цитотоксического эффекта всех фракций липидов в опухолевых клетках аденокарциномы эндометрия $T_1N_0M_0$ была самой высокой при действии сфинголипидов, а наибольшее количество апоптотных клеток было выявлено при действии ганглиозидов (рис. 2). В данных опухолевых клетках отмечен высокий уровень апоптоза и в контрольной группе. Высокая цитотоксическая активность липидов 3 фракций (рис. 3) в клетках аденокарциномы эндометрия стадии $T_2N_1M_0$ отмечалась при действии сфинголипидов (83,0%) и ганглиозидов (72,0%). Кроме того, как и в предыдущем опыте, было выявлено большее количество апоптотных клеток в контроле, при этом значительную индукцию апоптоза вызвали сфинголипиды и ганглиозиды ($31,0 \pm 1,46\%$ и $37,0 \pm 1,52\%$ апоптотных клеток, соответственно $p < 0,05$).

Полученные нами из опухолевой ткани молочной железы фосфолипиды обладают высокой цитотоксической активностью в отношении как клеток

неизмененного эндометрия, так и эндометрия при различной степени распространенности опухолевого процесса.

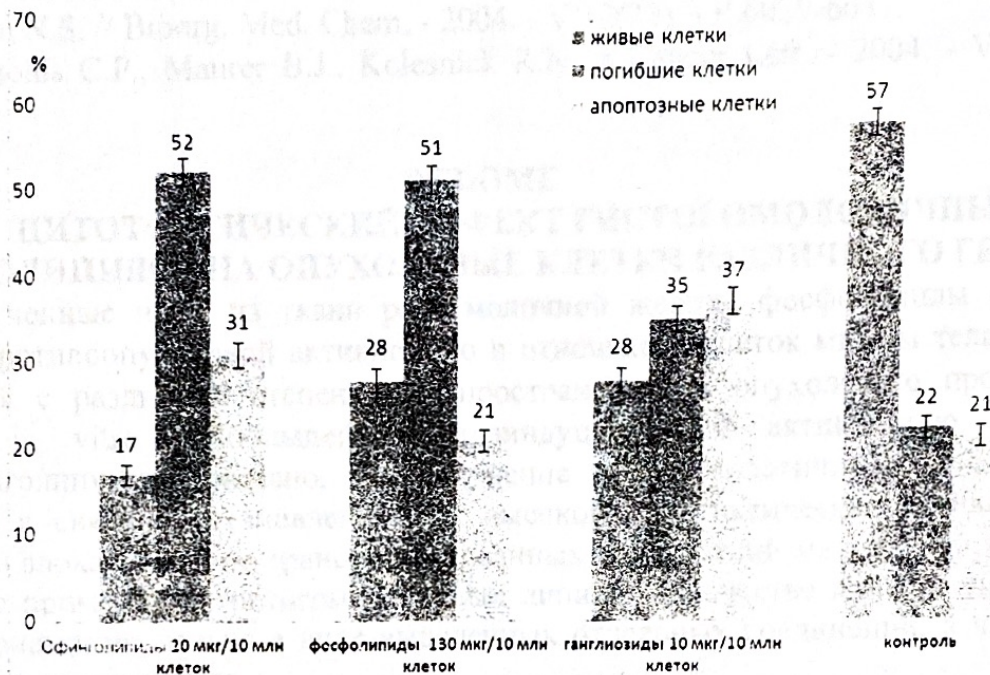


Рисунок 3. Цитотоксическая активность липидов в отношении опухолевых клеток эндометрия стадии T₂N₁M₀ (операционный материал пациентки с диагнозом рак эндометрия).

В условиях *in vitro* наибольшей апоптозиндуцирующей активностью обладали сфинголипиды и ганглиозиды. Учитывая более низкую дозу воздействия ганглиозидов (10 мкг/10 млн клеток), можно сделать вывод в пользу их антипролиферативного преимущества. Использование суммарной фракции фосфолипидов, и сфингофосфолипидов (церамиды, ганглиозиды, сфингомиелин), позволило достичь значительного противоопухолевого эффекта. Однако, высокая доза использования этой фракции (130 мкг/10 млн клеток) не коррелирует с установленной антипролиферативной активностью, сравнимой, а в других случаях, и уступающей сфинголипидам и ганглиозидам.

Таким образом, выделение фосфолипидов из раковой ткани, т.е. получение гистогомологичных фосфолипидов, оправдано в связи с установленной их высокой цитотоксической активностью в отношении злокачественно трансформированных образований матки. В то же время, возможное применение фосфолипидов в качестве противоопухолевых агентов приемлемо только в виде выделенных отдельных соединений, в частности, церамидов и ганглиозидов. При этом, учитывая высокую апоптозиндуцирующую активность и низкую эффективную дозу воздействия, преимущество следует отдать ганглиозидам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдувалиев А.А., Гильдиева М.С. // Клиническая лабораторная диагностика. - 2006. - №2. - С. 36-38.
2. Дятловицкая Э.В., Кандыба А.Г. // Биохимия. - 2006. - Т.71(вып.1). - С.17-25.
3. Кейтс М. Техника липидологии. - М.: Мир, 1975. - 324 с.

- рас- 4. Antoon J.W., Liu J., Gestaut M.M. et al. // J. Med. Chem. - 2009. - V.52(18). - P.5748-5752.
5. Fredman P., Hedberg K., Brezicka T. // BioDrugs. - 2003. - V.17(3). - P.155-167.
6. Hertvig E., Nilsson A., Cheng Y., Duan R.D. // J. Cancer Res. - Clin. Oncol. - 2003. - V.129(10). - P.577-582.
7. Ogretmen B., Hannun Y.A. // Nat. Rev. Cancer. - 2004. - V.4(8). - P.604-616.
8. Radin N.S. // Bioorg. Med. Chem. - 2004. - V.12(23). - P.6029-6037.
9. Reynolds C.P., Maurer B.J., Kolesnick R.N. // Cancer Lett. - 2004. - V.206(2). - P.169-180.

РЕЗЮМЕ

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ГИСТОГОМОЛОГИЧНЫХ
ФОСФОЛИПИДОВ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Полученные нами из ткани рака молочной железы фосфолипиды обладают высокой противоопухолевой активностью в отношении клеток миомы тела матки и эндометрия с различной степенью распространенности опухолевого процесса. В условиях *in vitro* наибольшей апоптозиндуцирующей активностью обладали гликофинголипиды. Показано, что получение гистогомологичных фосфолипидов оправдано в связи с установленной их высокой цитотоксической активностью в отношении злокачественно трансформированных образований матки. В то же время, возможное применение гистогомологичных липидов в качестве противоопухолевых агентов приемливо только в виде выделенных отдельных соединений, в частности, керамидов и ганглиозидов.

ХУЛОСА

ГИСТОГОМОЛОГИК ФОСФОЛИПИДЛАРНИНГ ТУРЛИ ГЕНЕЗДАГИ
САРАТОН ХУЖАЙРАЛАРИГА ЦИТОТОКСИК ТАЪСИРИ.

Сут беи саратони тўқимасидан олинган фосфолипидлар, бачадон моимаси хужайралари ва ўсма жараёни турли даражада тарқалган эндометрияда ўсмага қарши кучли фаолликка эга. Гликофинголипидлар *in vitro* шароитда энг юқори апоптоз индуцирловчи хусусиятга эга. Гистогомологик фосфолипидларни ажратиб олиш уларнинг бачадон хатарли ўсмасига нисбатан кучли цитотоксиклик хусусияти тўғрисида ахамиятлидир. Шу билан бирга фосфолипидларни ўсмага қарши агент сифатида фақатгина улардан ажратиб олинган айрим фракциялари керамид ва ганглиозид кўринишида қўлланилиши мумкин.

SUMMARY

CYTOTOXIC EFFECT OF HISTOHOMOLOGOUS PHOSPHOLIPIDS ON
TUMOR CELLS OF VARIOUS GENESES

Phospholipids obtained from the breast cancer tissue possess high anti-tumor activity in relation to the mioma's cells of the uterus and endometrium with various degree of the tumor process's progression. Glycosphingolipids were established to possess the highest apoptosis-inducing activity *in vitro*. Obtaining hystohomologous phospholipids was found justified in association of their established high cytotoxic activity in relation to the malignancies in the uterus. At the same time use of hystohomologous lipids as anti-tumor agents is expedient only in the form of the isolated compounds, of spingolipids and gangliosides, in particular.