

# Исследование механизмов сенсibilизации опухолевых клеток новым синтетическим гестагеном бутеролом

Е.В.Одинцова<sup>1</sup>, Т.А.Федотчева<sup>1</sup>, В.В.Банин<sup>2</sup>, Н.Л.Шимановский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. РАМН П.В.Сергеева медико-биологического факультета, Москва (зав. кафедрой — чл.-кор. РАМН, проф. Н.Л.Шимановский);

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва (директор — акад. РАМН и РАСХН, проф. В.А.Быков)

Развитие резистентности опухолевых клеток к цитостатикам — одна из наиболее часто возникающих проблем при химиотерапии гормонозависимых опухолей. Среди возможных механизмов подобного развития резистентности ведущую роль играет сверхэкспрессия Р-гликопротеина, белков семейства ABC-транспортеров (MRP и BCRP), белка Bcl-2. В данном исследовании в качестве перспективного сенсibilизатора (соединения, усиливающего восприимчивость к противоопухолевым препаратам) был изучен бутерол — новый синтетический аналог прогестерона. Показано, что бутерол *in vitro* усиливает цитостатическое действие доxorубина и этопозида в клетках рака молочной железы. При исследовании влияния бутерола на экспрессию факторов резистентности установлено, что бутерол одновременно снижает экспрессию мРНК BCRP-1, Р-гликопротеина и MRP-1 на поздних сроках инкубации (10-й день), а также снижает экспрессию мРНК Bcl-2. Таким образом, в клетках MCF-7 механизмы сенсibilизации связаны с ингибированием экспрессии транспортных белков и антиапоптотического белка Bcl-2.

**Ключевые слова:** множественная лекарственная устойчивость, гестагены, рак молочной железы

## Investigation of mechanisms of sensibilization of tumor cells by new synthetic progestin buterol

E.V.Odintsova<sup>1</sup>, T.A.Fedotcheva<sup>1</sup>, V.V.Banin<sup>2</sup>, N.L.Shimanovskiy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Molecular Pharmacology and Radiobiology named after Acad. of RAMS P.V.Sergeev of Medical-Biological Faculty, Moscow (Head of the Department — Corr. Member of RAMS, Prof. N.L.Shimanovskiy);

<sup>2</sup>All-Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow (Director — Acad. of RAMS and RAAS, Prof. V.A.Bykov)

One of the most frequent problems in the chemotherapy of hormone dependent tumors is the development of resistance in tumor cells to cytostatics. The main role among possible mechanisms of such resistance plays over-expression of P-glycoprotein, MRP and BCRP — the ABC-transporters family proteins, and Bcl-2 — antiapoptotic protein. In this study new synthetic analog of progesterone — buterol — was investigated as a perspective sensibilizing compound, e.g. compound, which increases sensitivity to anticancer drugs. It was shown, that buterol strengthens cytostatic effect of doxorubicin and etoposid in breast cancer cells *in vitro*. Also it was demonstrated that buterol decreases BCRP, P-glycoprotein and MRP mRNA expression in common on the 10<sup>th</sup> day of incubation. Besides, buterol suppresses mRNA expression of Bcl-2. Thus mechanisms of sensitization in MCF-7 cells are associated with the decrease of transporter proteins expression and antiapoptotic Bcl-2 protein expression.

**Key words:** multidrug resistance, progestins, breast cancer

Такие гормонозависимые заболевания женской репродуктивной системы, как рак шейки матки и рак молочной железы, составляют, по данным

### Для корреспонденции:

Одинцова Елена Валерьевна, аспирант кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. РАМН П.В.Сергеева медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 119435, Москва, Б.Пироговская ул., 9а

Телефон: (499) 246-6005

E-mail: lodintsova@yandex.ru

Статья поступила 07.12.2011 г., принята к печати 05.06.2012 г.

GLOBOCAN, соответственно 23 и 9% общего числа раковых заболеваний у женщин [1]. При химиотерапии этих заболеваний широко распространено развитие феномена множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Для данного состояния характерна потеря чувствительности опухолевых клеток к цитостатическим препаратам [2]. В развитии феномена МЛУ наибольшую роль играет группа АТФ-зависимых трансмембранных переносчиков. К ним относят Р-гликопротеин, белки MRP (multidrug resistance-related protein — белок, ответственный за

устойчивость ко многим лекарственным веществам) и BCRP (breast cancer resistance protein — белок, ответственный за резистентность рака молочной железы к лекарственным веществам) [3], выкачивающие цитостатики из клетки против градиента концентрации [4]. Кроме того, в развитии МЛУ принимают участие система глутатиона/глутатионтрансферазы, отвечающая за метаболизм ксенобиотиков [5], и ряд процессов, участвующих в угнетении апоптоза [6]. В настоящее время наиболее перспективным путем преодоления МЛУ считают поиск ингибиторов белков-переносчиков семейства ABC [7]. Несмотря на проводимые в последние годы исследования подобных ингибиторов (тариквидар, вогонин, циклоспорин), пока ни один из них с целью преодоления МЛУ в клинической практике не применяют.

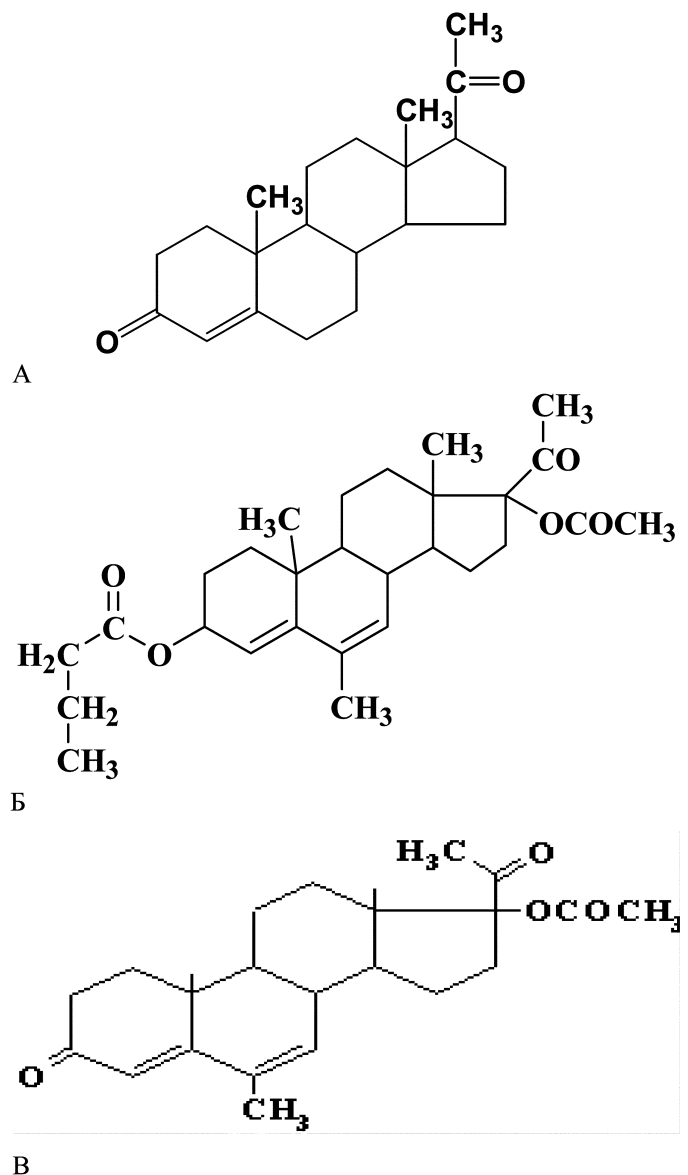
Как показали наши и литературные данные, к перспективным противоопухолевым веществам относятся гестагены, поскольку в структуре Р-гликопротеина присутствует селективный для прогестерона (природного аналога гестагенов) участок связывания [8] и для некоторых гестагенов показана способность ингибировать активность и экспрессию Р-гликопротеина [9]. Кроме того, существует взаимосвязь между уровнем Р-гликопротеина и стероидогенезом как в нормальных, так и в опухолевых тканях [10], и стероидные гормоны регулируют транскрипцию BCRP [11]. Наличие сенсibiliзирующей активности уже показано для прогестерона и мегестрола ацетата — классических гестагенов, используемых в клинической практике. Мегестрола ацетат в большей степени подавляет состояние МЛУ, чем прогестерон, однако данный эффект присутствует только при использовании высоких концентраций мегестрола ацетата, что вызывает нежелательные побочные явления, такие как головокружение, рвота, развитие андрогеноподобных эффектов [12]. В связи с этим целесообразен поиск соединений, вызывающих минимальные побочные явления, но также эффективно ингибирующих экспрессию белков-переносчиков.

В данном исследовании был изучен новый синтетический гестаген — бутерол (17 $\alpha$ -ацетокси-3 $\beta$ -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диен-20-он), структурной особенностью которого является замена характерной для прогестерона и большинства его аналогов 3-кето-группы на сложнэфирную бутаноилокси-группировку (формула бутерола в сравнении с другими гестагенами представлена на рис. 1). Возможно, карбонил данной группировки бутерола способен вступать в нековалентное взаимодействие с SH-группой нуклеотид-связывающего домена белков-переносчиков. Благодаря отсутствию в структуре бутерола 3-кето-группы, характерной также и для классических андрогенов, он не проявляет побочного андрогенного и минералокортикоидного действия в отличие от прогестерона и других синтетических гестагенов [13].

Кроме того, для бутерола уже показано наличие собственной цитостатической активности по отно-

шению к клеточным культурам эпителиоидного рака шейки матки и рака молочной железы *in vitro*, причем на культуре рака шейки матки данная противоопухолевая активность бутерола в несколько раз превосходит эффект мегестрола ацетата [14]. У бутерола также обнаружена способность ингибировать активность Р-гликопротеина в клетках рака молочной железы, резистентных к доксорубину, и в клетках рака гортани, резистентных к винкристину [13].

В данной работе исследовано влияние бутерола на цитостатическое действие доксорубина и этлопозиды и на транскрипционную активность белков-переносчиков, участвующих во множественной лекарственной устойчивости, и белков, регулирующих апоптоз.



**Рис. 1. Структурные формулы гестагенов.**

А – прогестерон (прегн-4-ен-3,20-дион);  
 Б – бутерол (17 $\alpha$ -ацетокси-3 $\beta$ -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диен-20-он);  
 В – мегестрола ацетат (17-гидрокси-6-метилпрегна-1,4-диен-3,20-дион)

## Материалы и методы

Были исследованы следующие вещества: бутерол — 17 $\alpha$ -ацетокси-3 $\beta$ -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диен-20-он, синтезирован в Эндокринологическом научном центре г. Москвы (Сергеев П.В. и сотр., патент РФ № 2292209 от 27.12.2007); мегестрола ацетат — 17-гидрокси-6-метилпрегна-1,4-диен-3,20-дион («Sigma», США); доксорубин, этопозид («Фармахеми Б.В.», Нидерланды). Структурные формулы гестагенов представлены на рис. 1.

Клеточную культуру MCF-7 (рак молочной железы человека), полученную из банка клеток Всероссийского научного центра молекулярной диагностики и лечения г. Москвы, инкубировали в стандартных условиях (37 °С, 5% CO<sub>2</sub>) в среде DMEM («Gibco», США) с 20% термоинактивированной эмбриональной телячьей сывороткой («Sigma», США), с 2 мМ L-глутамина («Gibco», США). Использовали интегральный МТТ-тест для оценки жизнеспособности опухолевых клеток [15].

Клеточную культуру MCF-7 сеяли в 96-луночный планшет в концентрации 6,5–7 тыс клеток в лунку с добавлением доксорубина, этопозиды, бутерола, комбинацией бутерола с доксорубином и бутерола с этопозидом. Клетки инкубировали в стандартных условиях (37 °С, 5% CO<sub>2</sub>) в течение 48 ч. Затем в лунки планшета вносили раствор МТТ (3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолий бромистый) в среде DMEM до конечной концентрации 0,5 мг/мл, клетки инкубировали при 37 °С в течение 3 ч. После завершения инкубации среду из лунок отбирали и вносили по 100 мкл диметилсульфоксида («ПанЭко», Москва) в лунку для растворения образовавшихся кристаллов формазана. Оптическую плотность образцов регистрировали при длине волны 530 нм на анализаторе «Униплан» АИФР-01 (Россия). Оптическую плотность контрольных образцов принимали за выживаемость клеток, равную 100%.

Количественный анализ ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) в режиме реального времени применяли для определения уровня экспрессии матричной РНК (мРНК) исследуемых генов.

Клеточную культуру MCF-7 инкубировали с исследуемыми гестагенами (бутерол, препарат сравнения — мегестрола ацетат) в фиксированной концентрации 10<sup>-5</sup> М в течение 10 сут. На 2, 4, 6 и 10-е сутки из 1 млн клеток с помощью «Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «Рибо-преп вариант 100» (ЦНИИ эпидемиологии, г. Москва) выделяли тотальную РНК по оригинальному протоколу фирмы-производителя. Затем из каждых 10 мкл тотальной РНК с помощью набора «Реверта-Л» (ЦНИИ эпидемиологии, г. Москва) в результате обратной транскрипции была получена комплементарная ДНК (кДНК) в финальном объеме 40 мкл. ПЦР в режиме реального времени проводили на приборе IQ5 Cycler («Bio-Rad», США) в финальном объеме 25 мкл с ис-

пользованием 2 мкл кДНК и «Набора реактивов для проведения Реал-тайм ПЦР в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I» (Синтол, Россия) по оригинальному протоколу производителя. Для нормирования уровня транскрипции в подвергшихся воздействию и в контрольных образцах (кДНК из клеток, инкубированных при тех же условиях в отсутствие гестагенов) измеряли также транскрипцию мРНК «housekeeping» гена глицеральдегид-фосфат-дегидрогеназы (*GAPDH*).

Использовали очищенные бессолевыми праймеры в концентрации 1 ед. опт. пл./мл: ген 1 (*GAPDH*: прямой праймер 5'-GAA GGT GAA GGT CGG AGT-3', обратный праймер 5'-GAA GAT GGT GAT GGG ATT TCC-3'), ген 2 (*MDR1* (P-гликопротеин): прямой праймер 5'-CCC ATC ATT GCA ATA GCA GG-3', обратный праймер 5'-GTT CAA ACT TCT GCT CCT GA-3'), ген 3 (*MRP-1*: прямой праймер 5'-CAA GAG AGT ATT CAG CAA GAT-3', обратный праймер 5'-CAG TCG TTC CAC TTC ACT ACA-3'), ген 4 (*BCRP-1*: прямой праймер 5'-CAG GTG GAG GCA AAT CTT CTG-3', обратный праймер 5'-ACA CAC CAC GGA TAA ACT GA-3'), ген 5 (*Bcl-2*: прямой праймер 5'-CAC GTC CAC CAA CAT GTC CG-3', обратный праймер 5'-CAA ACT TAA CAG TAA GTA AAT-3') (Синтол, Россия).

Применяли следующие программы амплификации. Для *MDR1*: 50 °С — 2 мин, 95 °С — 10 мин, (95 °С — 15 с, 60 °С — 1 мин) — 50 циклов; для *MRP-1*: 95 °С — 10 мин, (95 °С — 20 с, 60 °С — 45 с) — 40 циклов; для *BCRP-1*: 95 °С — 9 мин, (95 °С — 30 с, 55 °С — 30 с, 72 °С — 30 с) — 40 циклов, 72 °С — 4 мин; для *Bcl-2*: 95 °С — 10 мин, (95 °С — 15 с, 60 °С — 1 мин) — 40 циклов.

Для оценки корректности результатов амплификации были построены кривые плавления — для всех исследуемых генов на них наблюдали отдельные пики плавления. Для количественной оценки экспрессии исследуемых генов использовали модификацию метода M.W.Pfaffl [16].

Была проведена статистическая обработка результатов. Эксперименты по определению уровня экспрессии мРНК исследуемых генов выполняли в триплетах. Данные для ОТ-ПЦР в режиме реального времени представлены в виде одного из трех экспериментальных значений, данные МТТ-теста — в виде среднего значения со стандартным отклонением. Достоверность различий между экспериментальными группами по изучаемым параметрам оценивали с помощью непараметрического U-критерия для непарных совокупностей Вилкоксона–Уитни–Манна в программе «Statgraphics Sigma».

## Результаты исследования и их обсуждение

*Влияние бутерола в комбинации с доксорубином и этопозидом на жизнеспособность опухолевых клеток MCF-7*

Опухолевые клетки инкубировали с бутеролом как самостоятельным соединением и в комбинации с про-

тивоопухолевыми препаратами — этопозидом (ингибитор топоизомеразы II) и доксорубицином (антибиотик класса антрациклинов). Предварительно проводили оценку влияния этопозида (в диапазоне концентраций  $1,7 \times 10^{-5}$  —  $1,7 \times 10^{-4}$  М) и доксорубицина (в диапазоне концентраций  $10^{-7}$  —  $10^{-4}$  М) на жизнеспособность опухолевых клеток с целью выявить оптимальную концентрацию для исследования влияния бутерола на цитостатический эффект доксорубицина и этопозида. Диапазон действующих концентраций при времени инкубации 48 ч для доксорубицина составил  $5 \times 10^{-6}$  —  $10^{-5}$  М, для этопозида —  $1,7 \times 10^{-5}$  —  $8,5 \times 10^{-5}$  М, для бутерола —  $10^{-5}$  —  $7 \times 10^{-5}$  М. В дальнейших экспериментах по изучению влияния бутерола на цитостатический эффект этопозида и доксорубицина использовали этопозид, доксорубицин и бутерол в концентрациях  $1,7 \times 10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-6}$  и  $10^{-5}$  М соответственно.

На рис.2 представлены данные о влиянии на жизнеспособность клеток MCF-7 комбинаций бутерола с доксорубицином и бутерола с этопозидом. Доксорубицин ( $5 \times 10^{-6}$  М) подавляет жизнеспособность клеток на 66,4%, а бутерол ( $10^{-5}$  М) — на 35,6%. При совместном действии бутерола и доксорубицина происходит угнетение жизнеспособности клеток MCF-7 на 80,2%. Таким образом, происходит усиление цитостатического действия доксорубицина на 13,8%. Этопозид ( $1,7 \times 10^{-5}$  М) как самостоятельный препарат подавляет жизнеспособность клеток MCF-7 на 47,6%, тогда как при действии комбинации этопозида с бутеролом происходит подавление жизнеспособности опухолевых клеток на 66,9%. Соответственно, бутерол усиливает цитостатическое действие этопозида ( $1,7 \times 10^{-5}$  М) на 19,3%.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что при совместном действии бутерола и противоопухолевых средств разных классов

(доксорубицин/этопозид) происходит усиление их цитостатического эффекта. Механизмом такого усиления может быть ингибирование экспрессии мРНК белков-транспортеров ксенобиотиков. В целях изучения возможного механизма данного эффекта бутерола была проведена оценка уровня экспрессии мРНК факторов множественной лекарственной устойчивости в опухолевых клетках при инкубации с бутеролом.

#### Влияние бутерола на экспрессию мРНК Р-гликопротеина, BCRP1, MRP1 и Vcl-2 белка

Клетки культуры MCF-7 инкубировали в присутствии бутерола и препарата сравнения мегестрола ацетата (гестагена, проявляющего сенсibiliзирующую активность [12]) в течение 10 сут. После этого с помощью количественного ОТ-ПЦР в режиме реального времени оценивали уровень экспрессии мРНК генов, участвующих в развитии МЛУ (Р-гликопротеина, BCRP1, MRP1, Vcl-2), на 2, 4, 6 и 10-е сутки. Как видно из таблицы, в культуре клеток MCF-7 мегестрола ацетат увеличивает транскрипцию Р-гликопротеина (MDR1 гена), сверхэкспрессия которого является одной из причин развития МЛУ [3], на протяжении всего срока инкубации, в то время как бутерол сначала стимулирует, а затем подавляет экспрессию мРНК MDR1 гена на 10-й день инкубации в 3,8 раза. Полученные результаты подтверждают литературные данные о разнонаправленном действии гестагенов на экспрессию MDR1 гена в зависимости от времени инкубации [17, 18].

При исследовании влияния гестагенов на другой фактор развития МЛУ — MRP1 белка — было показано (см. таблицу), что в клетках MCF-7 мегестрола ацетат подавляет экспрессию гена данного белка, начиная с 6-х суток инкубации, тогда как бутерол — на протяжении всего срока инкубации. В максимальной

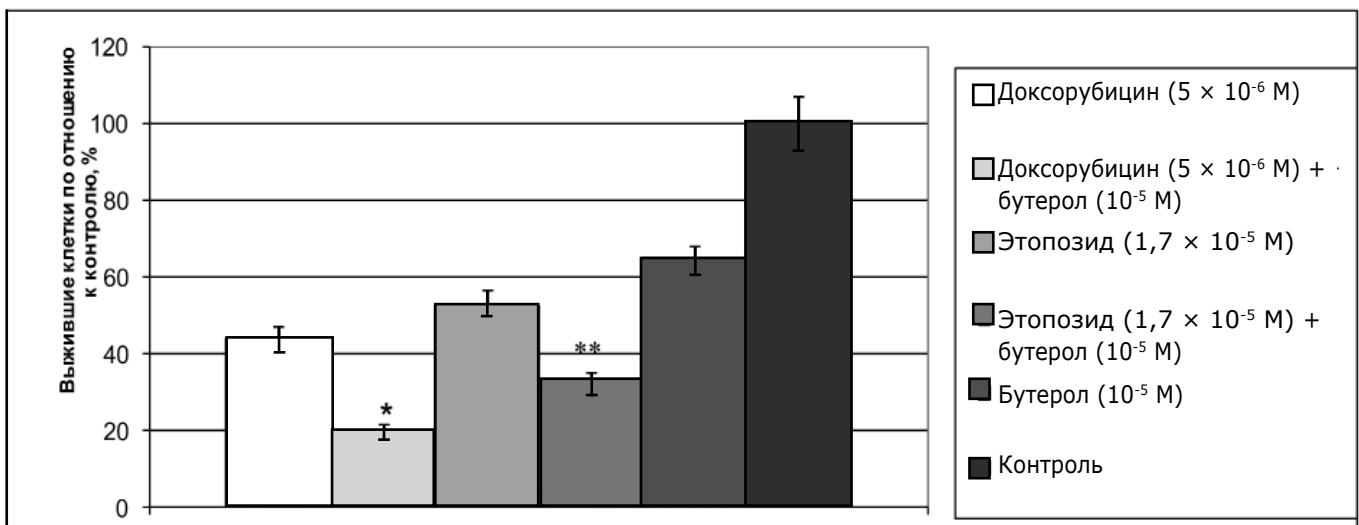


Рис. 2. Подавление жизнеспособности опухолевых клеток MCF-7 при инкубации с комбинациями бутерола с доксорубицином и бутерола с этопозидом в течение 48 ч

\* – достоверные различия с цитостатическим эффектом доксорубицина ( $p < 0,05$ );

\*\* – достоверные различия с цитостатическим эффектом этопозида ( $p < 0,05$ )

Таблица. Влияние гестагенов на экспрессию мРНК Р-гликопротеина (*MDR1* ген), *MRP1*, *BCRP1* и *Bcl-2* в клетках MCF-7 в течение 10 сут

Гестаген	Изменение экспрессии мРНК исследуемого гена, кратность			
	дни инкубации			
	2	4	6	10
<i>MDR1</i>				
Бутерол	1,5*	1,0	-1,2	-3,8*
Мегестрола ацетат	2,0*	2,4*	6,7*	6,7*
<i>MRP1</i>				
Бутерол	-2,6*	-9,4*	-11,5*	-9,1*
Мегестрола ацетат	-1,3	5,5*	-10,6*	-10,8*
<i>BCRP1</i>				
Бутерол	-65,8*	-6,5*	-576*	3,7*
Мегестрола ацетат	-130*	-219*	-317*	-77*
<i>Bcl-2</i>				
Бутерол	-3,3*	-12,4*	-3,8*	-5,9*
Мегестрола ацетат	-1,1	-14,6*	-2,1*	-6,5*

Концентрация всех исследуемых гестагенов равна  $10^{-5}$  М. Кратность изменения экспрессии мРНК исследуемого гена рассчитана по формуле  $R = 2^{-(\Delta CP \text{ образец} - \Delta CP \text{ контроль})}$ , где  $\Delta CP$  образец — это отклонение транскрипции исследуемого гена в «threshold» точке (cross point, CP) от уровня транскрипции гена «домашнего хозяйства» в образце, подвергнувшемуся воздействию;  $\Delta CP$  контроль — это отклонение транскрипции исследуемого гена в «threshold» точке (cross point, CP) от уровня транскрипции гена «домашнего хозяйства» в контрольном образце; «threshold» точка (cross point, CP) — это точка, где подъем кривой флуоресценции ампликонов исследуемого гена значительно выше, чем фоновое свечение (Pfaffl M.W., 2000). «+» — увеличение экспрессии, «-» — снижение экспрессии. ПЦР в режиме реального времени проводили в триплетах, представлено одно из полученных значений. \* — достоверные различия с контролем ( $p < 0,05$ )

степени снижения уровня мРНК *MRP1* происходит под действием бутерола на 6-е сутки — в 11,5 раза.

При исследовании влияния гестагенов на уровень транскрипции мРНК *BCRP1* белка (см. таблицу), играющего ключевую роль в развитии резистентности при раке молочной железы, наблюдали снижение уровня экспрессии *BCRP1* под влиянием как бутерола, так и мегестрола ацетата уже со 2-х суток инкубации. Так, на 2-е сутки бутерол снижал экспрессию *BCRP1* в 65,8 раза, а мегестрола ацетат — в 130 раз. Максимальное же снижение экспрессии отмечено на 6-е сутки в присутствии бутерола (более чем в 500 раз).

Ингибирование экспрессии мРНК *BCRP1* совпадает с данными M.Honorat и соавт. о способности гестагенов подавлять уровень представленности данного гена в MCF-7 [19], хотя природный гестаген прогестерон может и повышать экспрессию *BCRP* в других линиях опухолевых клеток. Например, в клетках BEWO (клеточной линии, полученной из плацентарной хориокарциномы человека [11]) прогестерон в концентрациях ( $10^{-9}$ – $10^{-5}$  М) в течение 48 ч увеличивал экспрессию *BCRP* [20].

При анализе влияния гестагенов на уровень мРНК антиапоптоического *Bcl-2* белка (см. таблицу) в клетках MCF-7 было показано, что уже на 4-е сутки инкубации бутерол подавляет экспрессию в 12,4 раза, а мегестрола ацетат — в 14,6 раза.

По мнению E.Vegeto, снижение транскрипции мРНК белка ингибитора апоптоза — это проявление апоп-

топической активности исследуемого соединения [21]. То есть гестагены (бутерол) в данном типе клеток (MCF-7) обладают апоптотической активностью. Апоптотическая активность прогестерона уже была продемонстрирована в ряде работ. Так, прогестерон в концентрации  $10^{-7}$  М индуцирует апоптоз клеток T-47D (клетки рака молочной железы человека) при 72 ч инкубации за счет ингибирования экспрессии антиапоптоического белка *Bcl-2* [22]. Такую индукцию апоптоза гестагенами можно рассматривать и как механизм их цитостатического действия, и как механизм химиосенсibilизации [23].

Таким образом, механизмами сенсibilизации бутеролом опухолевых клеток может являться снижение уровня транскрипции мРНК наиболее важных факторов развития множественной лекарственной устойчивости, таких как Р-гликопротеин, *MRP1*, *BCRP1* и *Bcl-2* белок.

Способность бутерола подавлять транскрипцию наиболее важных факторов развития множественной лекарственной устойчивости и практическое отсутствие возникновения побочных андрогенных и минералкортикоидных эффектов при его использовании позволяет рассматривать данный гестаген как перспективное соединение, снижающее эту устойчивость [24]. Применение бутерола в комбинации с противоопухолевыми препаратами доксорубицином и этопозидом в терапии гормонозависимых опухолей женской репродуктивной системы может значительно увеличить ее эффективность.

## Выводы

Бутерол увеличивает в клетках культуры MCF-7 цитостатическое действие доксорубина на 14%, этопозида — на 19%.

Бутерол на поздних сроках инкубации подавляет транскрипцию мРНК Р-гликопротеина в клетках MCF-7.

Бутерол подавляет экспрессию мРНК MRP1 на протяжении всего срока инкубации.

Экспрессия мРНК BCRP1 в клетках MCF-7 под влиянием бутерола снижается. Максимальное снижение экспрессии BCRP1 под влиянием бутерола — более чем в 500 раз.

Бутерол снижает экспрессию мРНК антиапоптозного белка Bcl-2.

*Исследование выполнено в рамках приоритетного направления развития «Инновационные технологии в изучении живых систем» Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова.*

## Литература

- Jemal A., Bray F., Center M.M. et al. Global cancer statistics // CA Cancer J Clin. 2011. V.61. №2. P.69–90.
- Li Y., Yuan H., Yang K. et al. The structure and functions of P-glycoprotein // Curr. Med. Chem. 2010. V.17. №8. P.786–800.
- Lee C.H. Reversing agents for ATP-binding cassette drug transporters. Methods // Mol. Biol. 2010. V.596. P.325–340.
- Omote H., Al-Shawi M.K. Interaction of transported drugs with the lipid bilayer and P-glycoprotein through a solvation exchange mechanism // Biophys. J. 2006. V.90. №11. P.4046–4059.
- Kuzmich S.L., Vanderveer K.D.T. Increased levels of glutathione S-transferase  $\pi$  transcript as a mechanism of resistance to ethacrinic acid // Biochem. J. 1992. V.281. P.219–224.
- Weinstein-Oppenheimer C.R., Henriquez-Roldan C.F., Davis J.M. et al. Role of the Raf signal transduction cascade in the in vitro resistance to the anticancer drug doxorubicin // Clin. Cancer Res. 2001. V.7. №9. P.2898–2907.
- Nuessler V., Stotzer O., Gullis E. et al. Bcl-2, bax and bcl-xL expression in human sensitive and resistant leukemia cell lines // Leukemia. 1999. V.13. №11. P.1864–1872.
- Shapiro A.B., Ling V. Positively cooperative sites for drug transport by P-glycoprotein with distinct drug specificities // Eur. J. Biochem. 1997. V.250. P.130–137.
- Yang K., Wu J., Li X. Recent advances in research on P-glycoprotein inhibitors // Biosci Trends. 2008. V.2. №4. P.137–146.
- Altuvia S., Stein W.D., Goldenberg S. et al. Targeted disruption of the mouse mdr1b gene reveals that steroid hormones enhance MDR gene expression // J. Biol. Chem. 1993. V.268. №36. P.27127–27132.
- Imai Y., Ishikawa E., Asada S. et al. Estrogen-mediated post transcriptional down-regulation of breast cancer resistance protein/ABCG2 // Cancer Res. 2005. V.65. №2. P.596–604.
- Wang L., Yang C.P., Horwitz S.B. et al. Reversal of the human multidrug-resistance phenotype with megestrol acetate // Cancer Chemother. Pharmacol. 1994. V.34. P.96–102.
- Сергеев П.В., Федотчева Т.А., Семейкин А.В. и др. Новый отечественный гестаген с противоопухолевой активностью // Вестн. РАМН. 2007. №5. С.27–32.
- Сергеев П.В., Семейкин А.В., Смирнова З.С. и др. Противоопухолевая активность нового гестагена 17 $\alpha$ -ацетокси-3 $\beta$ -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диенона // Экспер. и клин. фармакол. 2004. №4.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays // J. Immunol. Methods. 1983. V.65. P.55–63.
- Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR // Nucleic Acids Res. 2001. V.29. №9. P.2003–2007.
- Coles L.D., Lee I.J., Voullas P.J. et al. Estradiol and progesterone-mediated regulation of P-gp in P-gp overexpressing cells (NCI-ADR-RES) and placental cells (JAR) // Mol. Pharm. 2009. V.6. №6. P.1816–1825.
- Li J., Xu L., He K. et al. Reversal effects of nomegestrol acetate on multidrug resistance in adriamycin-resistant MCF-7 breast cancer cell line // Breast Cancer Res. 2001. V.3. №4. P.253–263.
- Honorat M., Mesnier A., Di Pietro A. et al. Dexamethasone down-regulates ABCG2 expression levels in breast cancer cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2008. V.375. №3. P.308–314.
- Wang H., Lee E.W., Zhou L. et al. Progesterone receptor (PR) isoforms PRA and PRB differentially regulate expression of the breast cancer resistance protein in human placental choriocarcinoma BeWo cells // Mol. Pharmacol. 2008. V.73. №3. P.845–854.
- Vegeto E., Shabaz M.M., Wen D.X. et al. Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter- specific repressor of human progesterone receptor B function // Mol. Endocrinol. 1993. V.7. P.1244–1255.
- Formby B., Wiley T.S. Bcl-2, survivin and variant CD44v7-v10 are downregulated and p53 is upregulated in breast cancer cells by progesterone: inhibition of cell growth and induction of apoptosis // FASEB J. 1999. V.13. №8. P.793–803.
- Amezcuca C.A., Lu J.J., Felix J.C. et al. Down-regulation of Bcl-2 is a potential marker of the efficacy of progestin therapy in the treatment of endometrial hyperplasia // Gynecol. Oncol. 2000. V.79. №2. P.169–176.
- Федотчева Т.А., Одинцова Е.В., Шимановский Н.Л. и др. Молекулярные механизмы цитостатического и химиосенсибилизирующего действия гестагенов // Вестн. РАМН. 2010. №9. С.42–50.

## Информация об авторах:

Федотчева Татьяна Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. РАМН П.В.Сергеева медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 119435, Москва, Б.Пироговская ул., 9а  
Телефон: (499) 246-6005  
E-mail: tfedotcheva@mail.ru

Банин Виктор Васильевич, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН, профессор, заместитель руководителя НИЦ медицинских биотехнологий Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений  
Адрес: 123056, Москва, ул. Красина, 2  
Телефон: (499) 254-4769  
E-mail: v.banin@mail.ru

Шимановский Николай Львович, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН, профессор, заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. П.В.Сергеева медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 119435, Москва, Б.Пироговская ул., 9а  
Телефон: (495) 246-6249  
E-mail: shimannn@yandex.ru