

## ВЛИЯНИЕ КАРБОПЛАТИНА С КУКУРБИТ[7]УРИЛОМ НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ И ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ *IN VITRO*

© 2019 г. Е. А. Пашкина<sup>1,2\*</sup>, А. А. Актанова<sup>2</sup>, А. А. Ермаков<sup>2</sup>,  
Н. Ю. Кнауэр<sup>1</sup>, И. В. Мирзаева<sup>3</sup>, Е. А. Коваленко<sup>3</sup>

\*E-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск Россия,

<sup>3</sup>Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 26.03.2019

Известно, что использование систем доставки может позволить снизить токсичность соединений платины без утраты высокого терапевтического эффекта. В работе исследовалось иммуноотоксическое действие карбоплатина при совместном добавлении с кукурбит[7]урилом, в том числе влияние на субпопуляционный состав лимфоцитов и их пролиферативную активность в условиях *in vitro*.

**Ключевые слова:** кукурбит[7]урил, карбоплатин, противоопухолевая терапия, лимфоциты

DOI: 10.31857/S102872210006930-8

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клинической иммунопатологии. Пашкина Екатерина Александровна, Тел.: +7(383)2270135.

E-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

Авторы:

**Пашкина Е. А.**, к.б.н., н.с. лаборатории клинической иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия, ассистент кафедры клинической иммунологии лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия

**Актанова А. А.**, студент шестого курса медико-профилактического факультета специальности медицинская биофизика, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия;

**Ермаков А. А.**, студент шестого курса медико-профилактического факультета специальности медицинская биофизика, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия;

**Кнауэр Н. Ю.**, аспирант лаборатории клинической иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

**Мирзаева И. В.**, к.ф.-м.н., н.с. лаборатории физической химии конденсированных сред, Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

**Коваленко Е. А.**, к.х.н., н.с. лаборатории химии кластерных и супрамолекулярных соединений, Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Известно, что использование кукурбит[7]урила (СВ[7]) в качестве молекулы-переносчика может приводить к уменьшению токсичности, а также к снижению биodeградации препаратов, в том числе и соединений платины (II) [1]. Ранее нами было показано, что СВ[7] не образует стабильного комплекса включения с карбоплатином, однако комплексообразование может происходить с продуктами его гидролиза – цис- $PtL_2(NH_3)_2$  ( $L=H_2O$  или  $OH^-$ ) [2]. Нами было продемонстрировано, что добавление СВ[7] способно влиять на биологические свойства карбоплатина, усиливая цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам [3], и не изменяя цитотоксичность по отношению к иммунокомпетентным клеткам. Следовательно, представляет интерес сравнение иммуносупрессивных свойств карбоплатина и карбоплатина с СВ[7].

**Цель.** Провести оценку влияния карбоплатина с СВ[7] на субпопуляционный состав и пролиферативную активность лимфоцитов здоровых доноров в условиях *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили монуцлеарные клетки крови (МНК ПК) 8 доноров (средний возраст  $32,9 \pm 4,25$  лет) выделенные стандартным образом путем центрифугирования образцов крови в градиенте плотности фикоколл-урографина (1,078 г/мл). Клетки культивировали в 24-луночных планшетах в питательной среде RPMI-1640, содержащей 0,3% L-глутамин, 50 мкг/мл гентамицина, 25 мкг/мл тиенама и 10% инактивированной сыворотки FCS, в присутствии исследуемых соединений в течение 72 часов. В качестве активаторов использовались анти-CD3 антитела (1 мкг/мл) и рекомбинантный интерлейкин-2 человека (100 ед/мл). Пролиферативная активность различных субпопуляций лимфоцитов оценивалась при помощи проточной цитометрии, фенотипирование клеток осуществлялось по поверхностным маркерам (CD45, CD3, CD19, CD4). Для оценки пролиферативной активности клетки предварительно окрашивали CFSE. Статистическую обработку данных проводили в пакете программ Statistica 6.0 (StatSoft). Достоверность изменения параметров в процессе культивирования МНК ПК оценивали с помощью критерия Вилкоксона. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При культивировании МНК ПК было показано, что сам СВ[7] не подавлял пролиферацию МНК ПК, а также не приводил к изменению субпопуляционного состава при культивировании клеток в течение 72 часов в присутствии данного соединения. Карбоплатин как отдельно, так и при совместном добавлении с СВ[7] в соотношении 1:1 не влиял на спонтанную пролиферативную активность клеток, но при этом подавлял индуцированный анти-CD3 пролиферативный ответ, что говорит о иммуносупрессивном действии по отношению к активированным лимфоцитам. Несмотря на то, что подобная

индукция воздействует прицельно на Т-лимфоциты, В-лимфоциты также могут пролиферировать под воздействием факторов, выделяемых активированными Т-лимфоцитами. В случае карбоплатина и карбоплатина с СВ[7] в стимулированной культуре пролиферативный ответ В-лимфоцитов также снижен. Достоверных различий между действием карбоплатина и карбоплатина с СВ[7] не обнаружено. Интересно, что присутствие карбоплатина с СВ[7] приводило к повышению относительного числа CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов (Т-хелперов) как в неактивированных, так и в активированных культурах по сравнению с контролем. Подобное изменение в процентном соотношении клеток нельзя объяснить действием СВ[7], поскольку в МНК ПК, культивированных только в присутствии СВ[7], относительное количество Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов было сопоставимо с таковым в контроле.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами было продемонстрировано, что добавление СВ[7] не влияет на способность карбоплатина подавлять пролиферативную активность лимфоцитов, но при этом вызывает повышение относительного количества Т-хелперов в культуре МНК ПК.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00158.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Wheate N. J.* Improving platinum (II)-based anticancer drug delivery using cucurbit [n] urils. *Journal of inorganicbiochemistry.* 2008, 102, 2060–2066.
2. *Mirzaeva I. V., Moroz N. K., Andrienko I. V., Kovalenko E. A.* Interaction between carboplatin and cucurbit[7]uril studied by means of multinuclear NMR spectroscopy and DFT calculations *J. Mol. Struct.* 2018, 1163, 68–76.
3. *Актанова А. А., Ермаков А. А., Пашкина Е. А.* Сравнительный анализ противоопухолевого и иммуноотоксического действия комплекса кукурбит[7]урила с карбоплатином. *Российский иммунологический журнал.* 2018, 12(21), 595–597. [*Aktanova A., Ermakov A., Pashkina E.* Analysis of antitumor and immunotoxic effects of the complex of carboplatin and cucurbit[7]uril. *Russian Journal of Immunology.* 2018, 4, 595–597.]

**EFFECTS OF CARBOPLATIN WITH CUCURBIT[7]URIL  
ON SUBPOPULATION COMPOSITION AND PROLIFERATIVE  
ACTIVITY OF LYMPHOCYTES *IN VITRO***

© 2019 E. A. Pashkina<sup>1,2\*</sup>, A. A. Aktanova<sup>2</sup>, A. A. Ermakov<sup>2</sup>,  
N. Yu. Knauer<sup>1</sup>, I. V. Mirzaeva<sup>3</sup>, E. A. Kovalenko<sup>3</sup>

\*E-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

<sup>1</sup>FSBSI "Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia,

<sup>3</sup>Institute of Inorganic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy  
of Sciences, Novosibirsk, Russia

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

It is known that the use of delivery systems can reduce the toxicity of platinum compounds without losing a high therapeutic effect. In this work, the immunotoxic effect of carboplatin when co-added with cucurbit[7]uril was investigated, including the effect on the subpopulation composition of lymphocytes and their proliferative activity *in vitro*.

*Key words:* cucurbit[7]uril, carboplatin, antitumor therapy, lymphocytes

**Authors:**

**Pashkina E. A.**, ✉ PhD, Researcher, Clinical Immunopathology Laboratory of FSBSI Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia, Assistant of the Department of Clinical Immunology at the Medical Faculty, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** pashkina.e.a@yandex.ru;

**Aktanova A. A.**, six-year student of the Faculty of Medicine and Prevention of the specialty of Medical Biophysics, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

**Ermakov A. A.**, six-year student of the Faculty of Medicine and Prevention of the specialty of Medical Biophysics, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

**Knauer N. Yu.**, PhD student, Clinical Immunopathology Laboratory of FSBSI Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Mirzaeva I. V.**, PhD, Researcher, Laboratory of Condensed Matter Physical Chemistry, Institute of Inorganic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

**Kovalenko E. A.**, PhD, Researcher, Laboratory of cluster and supramolecular chemistry, Institute of Inorganic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.