

PROTIRAKOVINOVÝ VÝSKUM

Medzinárodný žurnál pre výskum a liečbu rakoviny

Modifikovaný arabinoxylan z ryžových otrúb, MGN-3/Biobran, senzibilizuje metastázujúce bunky karcinómu prsníka na paclitaxel *in vitro*

MAMDOOH GHONEUM¹, NARIMAN K. BADR EL-DIN², DOAA A. ALI² a MAI ALAA EL-DEIN²

¹*Katedra otorinolaryngológie, Drew University of Medicine and Science, Los Angeles, CA, U.S.A.;* ²*Katedra zoológie, Fakulty prírodných vied, Univerzita v Mansúre, Mansúra, Egypt*

Výtlačok z

ANTICANCER RESEARCH 34: 81-88 (2014)

Abstrakt. *Pozadie: Existuje záujem o alternatívne spôsoby liečby, ktoré sú orientované na zníženie toxicity chemoterapie znížením koncentrácie chemoterapeutík, no pri súčasnom zachovaní intenzity ich účinku proti rakovinovým bunkám. Predchádzajúce štúdie preukázali, že arabinoxylan z ryžových otrúb, MGN-3/Biobran, senzibilizuje ľudské nádorové bunky prsníka (BCC) na daunorubicín (DNR). V aktuálnej štúdií sme ďalej hodnotili schopnosť prípravku MGN-3 senzibilizovať bunky na ďalší z radu chemoterapeutík, paclitaxel. Materiál a metódy: nemetastázujúce bunky MCF-7 (ľudské BCC) a metastázujúce bunky 4T1 (myšacie BCC) boli kultivované s rôznymi koncentraciami paclitaxelu v prítomnosti, resp. za absencie MGN-3. Skúmané bolo prežitie buniek, poškodenie DNA a proliferácia buniek. Výsledky: MGN-3 zvýšil citlivosť oboch typov rakovinových buniek na paclitaxel viac než 100-násobne. Mechanisticky, MGN-3 funguje synergicky s paclitaxelom: spôsobuje poškodenie DNA, zlepšuje apoptózu a inhibuje proliferáciu buniek 4T1. Záver: Naše údaje preukazujú, že MGN-3 je účinný chemosenzibilizátor a môže predstavovať inovatívny doplnok liečby pre liečbu metastázujúcej rakoviny prsníka.*

Rakovina zostáva najväčšou príčinou úmrtnosti na svete, každoročne si vyžiada viac než šesť miliónov životov. Chemoterapia sa pokladá za základ liečby mnohých typov rakoviny. Mnohé chemoterapeutiká však vykazujú dávkou obmedzenú toxicnosť (1-5). Z tohto dôvodu tu existuje eminentný záujem nájsť látky, ktoré by dokázali zvýšiť senzitivnosť rakovinových buniek na konvenčné chemoterapeutiká, čím by sa znížil ich toxický vplyv na zvyšok organizmu (6-9). Skoršie štúdie z nášho laboratória preukázali, že arabinoxylan získaný z ryžových otrúb, MGN-3/Biobran, senzibilizuje ľudské leukemické bunky línie HUT 78 na apoptózu vyvolanú protilátkami CD95 (10) a ďalej senzibilizuje ľudské nádorové prsníkové bunky (BCC) na daunorubicín *in vitro* (11). Ďalšie štúdie odhalili synergický účinok MGN-3 s transarteriálnou chemoembolizáciou u pacientov s hepatocelulárnym karcinómom (12). V aktuálnej štúdií máme záujem ďalej skúmať chemosenzibilizačné schopnosti prípravku MGN-3 na ďalší z radu chemoterapeutík, paclitaxel, bežne známy ako taxol.

Viacero produktov z ryžových otrúb bolo skúmaných kvôli svojim potenciálnym protinádorovým vlastnostiam, vrátane polysacharidu RBS (13), lipoproteínovej častice (14) a aglutinínu (RBA) (15). Navyše, v nedávnej štúdií bolo preukázané, že ryža siata (*oryza sativa*) inhibuje rast ľudských leukemických buniek U937, a to prostredníctvom aktivácie monukleárných buniek z periférnej krvi (16). MGN-3 je prírodný produkt získavaný reakciou hemicelulózy z ryžových otrúb s viacerými uhl'ohydráty hydrolyzujúcimi enzýmami získanými z húževnatca jedlého, tzv. huby šitake. Hlavnou chemickou zlúčeninou prípravku MGN-3 je arabinoxylan s xylózou vo svojej hlavnej reťazi a s polymérom arabinázy v bočnej reťazi (17). V iných štúdiách sme predložili dôkazy o tom, že MGN-3 je potentný modifikátor biologickej odozvy u ľudí prostredníctvom aktivácie prirodzených zabijáčov, tzv. NK buniek (18-20). Tento prípravok taktiež aktivuje ľudské dendritické bunky (21, 22), zlepšuje proliferáciu T- a B buniek (17) a zintenzívňuje fagocytickú funkciu makrofágov (23). Okrem toho, ďalšie štúdie odhalili, že administrácia MGN-3 myšiam s nádorovým ochorením mala za následok významné zníženie objemu nádorov (24). Na základe našich skorších zistení sme iniciovali realizáciu tejto štúdie, ktorá si kladie za cieľ preskúmať chemosenzibilizačné účinky MGN-3 na ďalší z radu chemoterapeutík, paclitaxel, v metastázujúcich nádorových prsníkových bunkách s cieľom objasniť spôsob jeho fungovania.

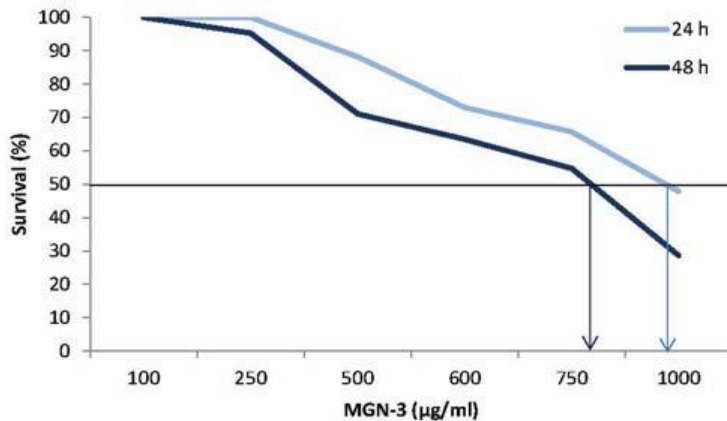
Tento článok je prístupný on-line.

Korešpondencia: MamdoohGhoneum, Ph.D., Department of Otolaryngology, Drew University of Medicine and Science, Los Angeles, CA, U.S.A. Tel: +1 3104746724, Fax: +1 3235635953, E-mail: mghoneum@ucla.edu

Kľúčové slová: MGN-3, Biobran, MTT, 4T1, MCF-7, paclitaxel.

Materiály a metódy

Lieky a chemické látky. Paclitaxel bol zakúpený od Sigma- Aldrich, Inc. (St. Louis, MO, USA). RPMI-1640 doplnené 10% fetálnym hovädzím sérom (FCS), 3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazoliumbromid (MTT) od Sigma-Aldrich.



Obrázok 1. MGN-3 samotné znižuje prežívanie buniek MCF-7. Použitím metódy MTT testu boli bunky MCF-7 inkubované s MGN-3 (100-1000 µg / ml) po dobu 24 a 48 hodín. Polovičná maximálna inhibičná koncentrácia (IC₅₀) je vyznačená šípkami.

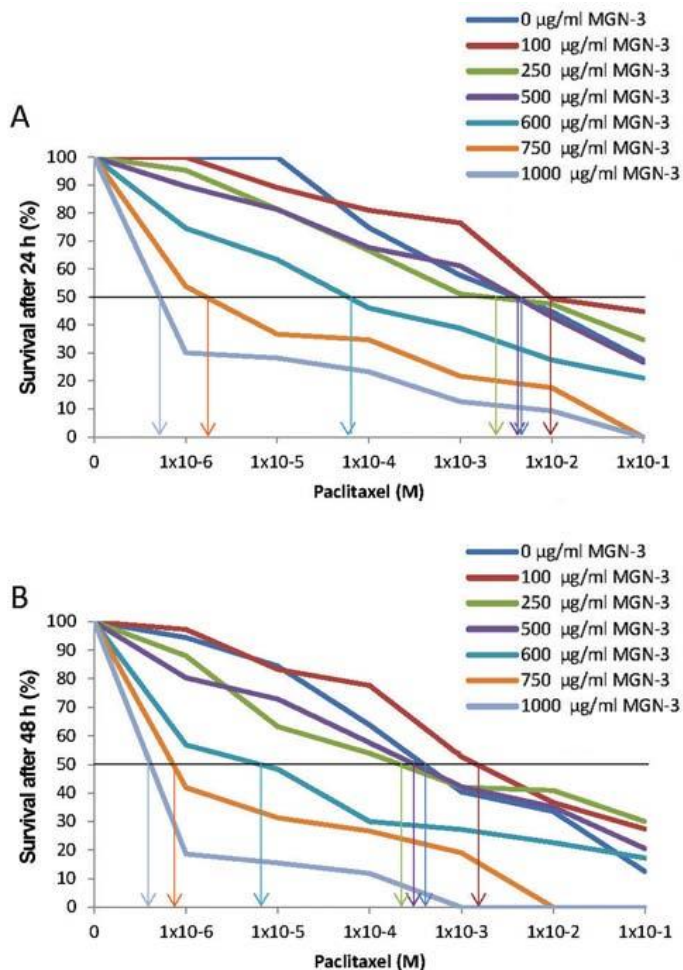
MGN-3 bolo zabezpečené od Daiwa Pharmaceutical Co. Ltd. (Tokyo, Japan) a rozpustené v kompletom médiu (KM) pri koncentrácii 30 mg / ml.

Nádorové bunkové línie a kultivačné podmienky. V tejto štúdií boli použité ľudská línia nádorových prsníkových buniek MCF- 7 a myšacia línia nádorových prsníkových buniek 4T1, ktoré metastázujú do pľúc. Bunky boli zakúpené od American Tissue and Culture Collection (ATCC; Manassas, VA, USA). Nádorové bunky boli v našom laboratóriu udržiavané v kompletom médiu (KM), ktoré bolo zložené z RPMI-1640, doplneného 10% FCS, 2 mM glutamínom, a 100 µg / ml streptomycínom a penicilínom.

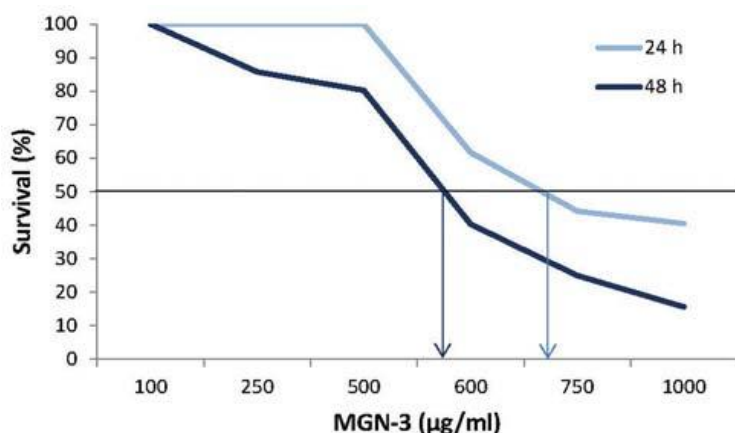
Vplyv chemoterapie a prípravku MGN-3 na rast nádorových prsníkových buniek. Test senzitivity na liek. Senzitivnosť na liek bola určená pomocou kolorimetrického MTT testu. Nádorové bunky (v množstve 1×10^4 / jamka) boli nasadené do 96-jamkových doštičiek a kultivované v trojitom vyhotovení v prítomnosti alebo v neprítomnosti rôznych koncentrácií MGN-3 (100-1000 mg / ml) a v prítomnosti, resp. v neprítomnosti vybraných koncentrácií paclitaxelu (1×10^{-1} až 1×10^{-6} M). Konečný objem média v každej jamke po pridaní MGN-3 alebo paclitaxelu bol 200 µl. Kultúry boli inkubované pri 37 ° C po dobu 24 a 48 hodín, po ktorej bolo pridaných 50 mg MTT do každej jamky a kultúry boli inkubované počas ďalších 4 hodín.

Doštičky boli potom centrifugované, médium opatrne odstránené, kryštály formazánu solubilizovali s kyslým alkoholom a na doštičkách bola načítaná hodnota 590 nm pomocou čítačky doštičiek ELISA (Molecular Devices, Menlo Park, CA, USA). 50% inhibičná koncentrácia (IC₅₀) bola stanovená ako koncentrácia lieku vedúca k 50% zníženiu životaschopnosti buniek. IC₅₀ bola stanovená vyhodnotením logaritmu koncentrácie lieku *proti* miere prežitia liečených buniek.

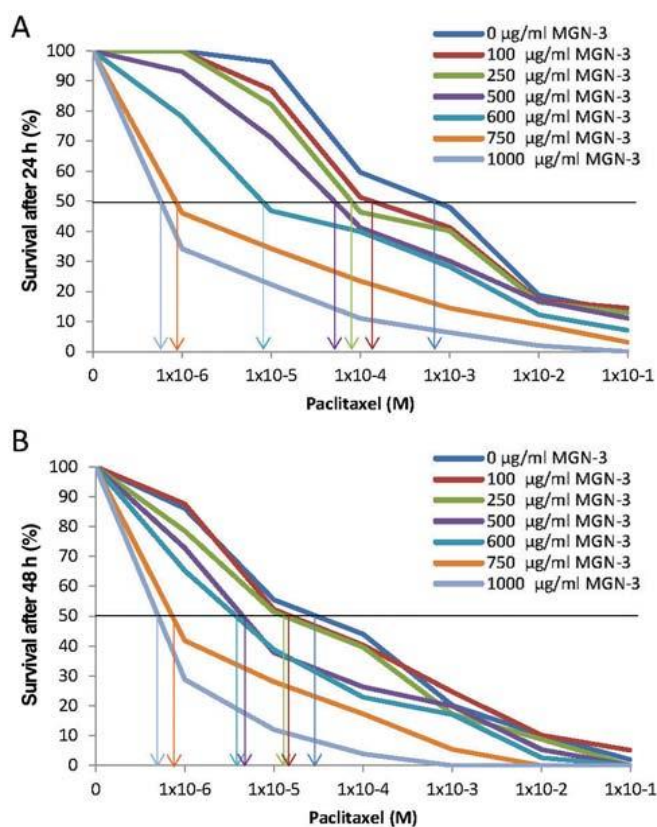
Metóda exklúzie trypanovej modrej. V sterilných skúmavkách boli k bunkám a chemickým látkam pridané rôzne koncentrácie MGN-3, paclitaxelu, a kombinácie MGN-3 a paclitaxelu v troch vyhotoveniach. Bunky boli inkubované po dobu 24 a 48 hodín pri teplote 37 ° C vo zvlhčenej atmosfére 5% CO₂ v sterilnom médiu. Životaschopné bunky boli počítané exklúziou trypanovej modrej pomocou hemocytometru. Následne bolo získané percento živých buniek vydelením životaschopných buniek celkovým počtom buniek. Všetky experimenty boli opakované v troch vyhotoveniach.



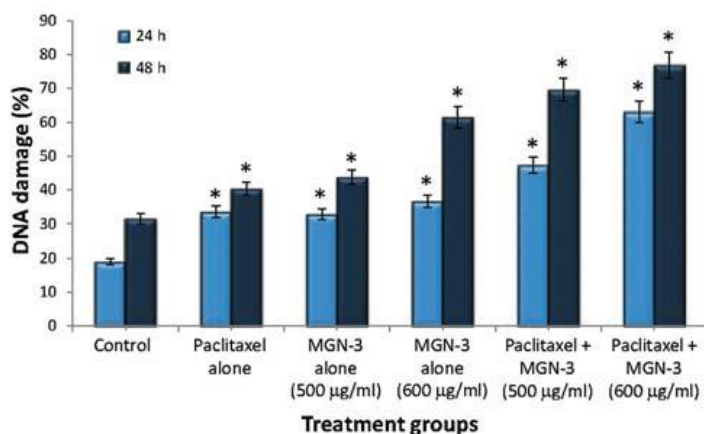
Obrázok 2. Spoločná kultúra paclitaxelu a prípravku MGN-3 senzibilizovala bunky MCF-7 na paclitaxel, čo malo za následok ešte masívnejšie zníženie prežívania buniek. Bunky MCF-7 boli kultivované s rôznymi koncentraciami MGN-3 a paclitaxelu po dobu 24 (A) a 48 hodín (B). Polovičná maximálna inhibičná koncentrácia (IC₅₀) pre každú kombináciu je označená šípkami.



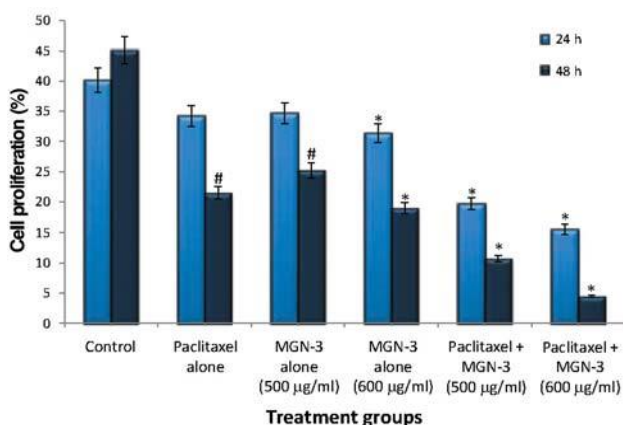
Obrázok 3. Prípravok MGN-3 samotný znižuje mieru prežívania buniek 4T1. Pomocou metódy MTT testu boli bunky 4T1 inkubované s MGN-3 (100-1000 µg / ml) po dobu 24 a 48 hodín. Polovičná maximálna inhibičná koncentrácia (IC50) je označená šípkami.



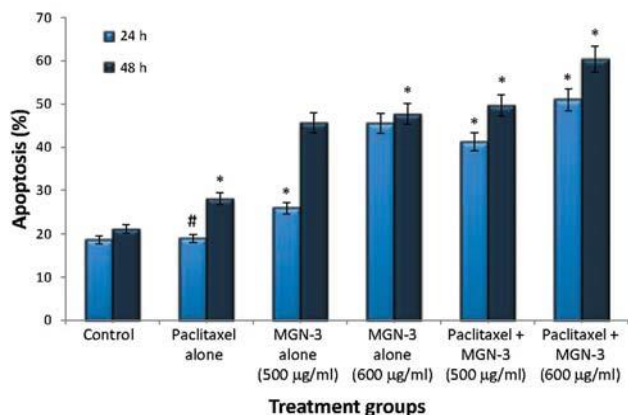
Obrázok 4. Spoločná kultúra paclitaxelu a prípravku MGN-3 senzibilizovala bunky 4T1 na paclitaxel, čo malo za následok ešte masívnejšie zníženie prežívania buniek. Bunky 4T1 boli spoločne kultivované s rôznymi koncentraciami MGN-3 a paclitaxelu po dobu 24 (A) a 48 hodín (B). Polovičná maximálna inhibičná koncentrácia (IC50) pre každú kombináciu je označená šípkami.



Obrázok 5. Poškodenie DNA buniek 4T1. Bol skúmaný účinok paclitaxelu (1×10^{-3} M), prípravku MGN-3 (500 a 600 µg / ml) a kombinácie paclitaxelu a MGN-3 na poškodenie DNA buniek 4T1. Poškodenie DNA v bunkách 4T1 bolo vyhodnotené pomocou prietokovej cytometrie. Údaje predstavujú priemernú hodnotu experimentov vykonaných v troch vyhotoveniach. * $p < 0,01$ v porovnaní s kontrolnými neliečenými bunkami 4T1.



Obrázok 6. Proliferácia buniek 4T1. Bol skúmaný účinok samotného paclitaxelu (1×10^{-3} M), a v kombinácii s MGN-3 (500 a 600 µg / ml) na proliferáciu buniek 4T1. Percento proliferácie buniek 4T1 bolo vyhodnotené pomocou prietokovej cytometrie. Údaje predstavujú priemernú hodnotu experimentov vykonaných v troch vyhotoveniach. # $p < 0,05$, * $p < 0,01$ v porovnaní s kontrolnými neliečenými bunkami 4T1.



Obrázok 7. Apoptóza buniek 4T1. Bol skúmaný účinok samotného paclitaxelu (1×10^{-3} M), a samotného MGN-3 (500 a 600 µg / ml) a kombinácie paclitaxelu a MGN-3 na apoptózu buniek 4T1 pri 24 a 48 hodinách.. Percento apoptózy buniek 4T1 bolo vyhodnotené pomocou prietokovej cytometrie. Údaje predstavujú priemernú hodnotu experimentov vykonaných v troch vyhotoveniach. $p < 0,05$, # $*p < 0,01$ úroveň v porovnaní s kontrolnými neliečenými bunkami 4T1.

Prietoková cytometrická analýza apoptózy, poškodenia DNA a bunkovej proliferácie. Kvantitatívna detekcia apoptózy, poškodenia DNA a bunkovej proliferácie v bunkách 4T1 liečených MGN-3 za prítomnosti, resp. absencie paclitaxelu bola simultánne určená pomocou viacfarebnej prietokovej cytometrickej analýzy použitím sady pre apoptózu, poškodenie DNA a bunkovú proliferáciu, špecifickejšie pre začlenený bromodeoxyuridín (BrdU), fosforylovaný proteín H2AX (γ H2AX) a štiepenú poly ADP ribózopolyméru (PARP) (BD Biosciences Pharmingen, San Diego CA, USA). V súlade s pokynmi od výrobcu boli bunky kultivované v kompletnom médiu (KM) alebo s rôznymi koncentraciami prípravku MGN-3 (500 µg / ml a 600 µg / ml) za prítomnosti, resp. absencie paclitaxelu (1×10^{-3} M) po dobu 24 alebo 48 hodín. Na každý mililiter média tkanivovej kultúry (hustota bunkovej kultúry bola približne 1×10^6 buniek / ml) bolo pridaných desať mikrolitrov pracovného roztoku BrdU [1 mM BrdU v $1 \times$ (DPBS)], následne boli bunky inkubované po dobu 30 minút na ľade. Bunky boli premyté pridaním 1 ml farbiaceho pufru na skúmavku a centrifugované (5 min) pri $250 \times g$, a kal bol odstránený. Bunky boli zafixované v 100 µl roztoku na fixáciu / permeabilitu BD Cytotfix/Cytoperm na skúmavku a inkubované po dobu 30 minút pri izbovej teplote. Potom boli premyté v 1 ml pufru $1 \times$ BD Perm/Wash, centrifugované a kal bol odstránený. Bunky boli inkubované v 100 µl pufru Permeability BD Cytotfix/Cytoperm Plus na skúmavku po dobu 10 minút v ľade, premyté a potom znovu fixované po dobu 5 minút. Do buniek bolo pridaných sto mikrolitrov zriedenej DNázy a následne boli inkubované po dobu 1 hodiny pri 37°C a potom premyté. Následne boli resuspendované s 20 µl premývacieho pufru a myšacími protilátkami anti-BrdU PerCP-Cy5.5 (5 µl / test), myšacími protilátkami anti-H2AX (pS139) Alexa Fluor[®] 647 (5 µl / test), a PE proti štiepeniu PARP (Asp214) (5 µl / test) po dobu 20 minút v tme a potom premyté. Bunky boli resuspendované vo farbiacom pufri na analýzu triedenia buniek s aktivovanou fluorescenciou (FACSCalibur; BD Biosciences, San Jose, CA, USA) pomocou softvéru CellQuest 3.3 (25, 26).

Štatistická analýza. Hodnoty sú uvedené ako priemerná hodnota so štandardnou odchýlkou a údaje boli analyzované pomocou jednosmernej analýzy rozptylu a následne testami post hoc pre viacnásobné porovnanie. Hodnota p nižšia než 0,05 bola považovaná za štatisticky významnú.

Výsledky

Účinky MGN-3 na prežívanie buniek MCF-7. Účinok MGN-3 na prežívanie buniek MCF-7 bol skúmaný pri 24- a 48-hodinovej kultivácii rakovinových buniek s MGN-3. Údaje získané MTT testom sú zobrazené na obrázku 1 a ukazujú, že liečba s MGN-3 mala za následok zníženie percenta životaschopných rakovinových buniek po 24 hodinách expozície. Hodnota IC₅₀ bola 1000 µg / ml. Cytotoxický účinok sa stal výraznejším po 48 hodinách, kde hodnota IC₅₀ bola približne 800 µg / ml. Podobné výsledky boli zaznamenané pri teste trypanovou modrou (údaje nie sú zobrazené).

Účinky MGN-3 na senzitivitu buniek MCF-7 na paclitaxel. Údaje MTT testu na obrázku 2 ukazujú, že prežívanie buniek MCF-7 bolo po kultivácii s paclitaxelom inhibované. Na druhej strane, kultivácia buniek s paclitaxelom a súčasne s prípravkom MGN-3 mala za následok ešte výraznejšie zníženie prežívania než pri použití samotného paclitaxelu. Senzibilizačný účinok MGN-3 bol závislý od dávky. Pri 24-hodinovej kultivácii s paclitaxelom v kombinácii s MGN-3 v koncentráciách 600, 750 a 1000 µg / ml sa hodnota polovičnej maximálnej inhibičnej koncentrácie IC₅₀ paclitaxelu znížila v porovnaní s pôsobením samotného paclitaxelu stonásobne (Obrázok 2A). Ďalšie zníženie IC₅₀ možno pozorovať po 48 hodinách (Obrázok 2B). Podobné výsledky boli zaznamenané pri teste trypanovou modrou (údaje nie sú zobrazené).

Účinky samotného MGN-3 na prežívanie buniek 4T1. Údaje ilustrované na obrázku 3 ukázali, že MGN-3 znižuje prežívanie buniek 4T1 v závislosti od dávky, ako bolo preukázané MTT testom. Zaznamenali sme výrazný cytotoxický účinok MGN-3: po 24 hodinách bola polovičná maximálna inhibičná koncentrácia IC₅₀ približne 700 µg / ml. Po 48 hodinovej kultivácii buniek 4T1 s MGN-3, bola hodnota IC₅₀ znížená na približne 580 µg / ml. Podobné trendy boli pozorované pri použití testu trypanovou modrou (údaje nie sú zobrazené).

Účinky MGN-3 na senzitivitu buniek 4T1 na paclitaxel. Bola zaznamenaná inhibícia prežívania buniek 4T1 po kultivácii s paclitaxelom; ešte intenzívnejšia inhibícia však bola pozorovaná po kultivácii s paclitaxelom v kombinácii s prípravkom MGN-3. Senzibilizačný účinok MGN-3 bol závislý od dávky. Údaje na obrázku 4A ukazujú, že v porovnaní s kultiváciou so samotným paclitaxelom, po 24 hodinách spoločnej kultivácie s MGN-3 v koncentrácii 600 µg / ml sa hodnota polovičnej maximálnej inhibičnej koncentrácie IC₅₀ paclitaxelu znížila približne 3-násobne a pri kultivácii v kombinácii s MGN-3 v koncentrácii 1000 µg / ml dokonca 100-násobne. Ešte výraznejšie cytotoxické účinky súčasnej liečby oboma prípravkami možno pozorovať po 48 hodinách (Obrázok 4B). Výsledky boli potvrdené aj testom trypanovou modrou (údaje nie sú zobrazené).

Rozdielna senzitivita buniek 4T1 a MCF-7 na paclitaxel v prítomnosti aj pri absencii MGN-3. Porovnávali sme senzitivitu nemetastatických buniek MCF-7 a metastatických buniek 4T1 na paclitaxel v prítomnosti a pri absencii MGN-3. Výsledky ukázali, že bunky 4T1 sú na toxicitu samotného paclitaxelu, aj paclitaxelu v kombinácii s MGN-3 citlivejšie ako bunky MCF-7, ako to naznačuje ich prežívanie po 24- a 48-hodinovej expozícii, merané MTT testom. Expozícia oboch typov rakovinových buniek samotnému paclitaxelu aj jeho kombinácii s MGN-3 ukázala, že maximálna polovičná inhibičná koncentrácia tohto lieku je pri 24- aj 48-hodinových expozíciách u buniek 4T1 nižšia než u buniek MCF-7. Skúmanie poškodenia DNA, bunkovej proliferácie a apoptózy bolo preto následne realizované už len s bunkami 4T1, s cieľom objasniť mechanizmy pôsobenia MGN-3.

Poškodenie DNA buniek 4T1. Skúmaný bol účinok MGN-3 (500 a 600 µg / ml) a paclitaxelu

($1 \times 10^{-3} \text{M}$) na percentuálne poškodenie DNA v bunkách 4T1. Údaje na obrázku 5 ukazujú, že v porovnaní s kontrolnými neliečenými bunkami 4T1, liečba týchto buniek paclitaxelom výrazne zvýšila percentuálne poškodenie DNA ($p < 0,01$). Podobný trend bol pozorovaný pri liečbe buniek 4T1 prípravkom MGN-3 ($p < 0,01$) v porovnaní s kontrolnými neliečenými bunkami. Naproti tomu, oveľa vyššie percentuálne poškodenie DNA ako pri expozícii buniek 4T1 jednotlivým prípravkom samostatne, dosiahla expozícia buniek kombinácii paclitaxelu a MGN-3. Chemosenzibilizačný účinok MGN-3 bol významný už po 24-hodinovej expozícii a ešte sa zvýšil po 48 hodinách (úroveň $p < 0,01$).

Proliférácia buniek 4T1. Obrázok 6 demonštruje účinok MGN-3 (500 a 600 $\mu\text{g} / \text{ml}$) a paclitaxelu ($1 \times 10^{-3} \text{M}$) na percento proliferácie buniek 4T1. V porovnaní s kontrolnými neliečenými bunkami 4T1 mala 24-hodinová expozícia buniek 4T1 účinkom paclitaxelu za následok inhibíciu bunkovej proliferácie. Bunková proliferácia sa ešte viac znížila po 48-hodinovej expozícii ($p < 0,05$). Proliférácia buniek 4T1 bola podobne, v porovnaní s kontrolnými neliečenými bunkami 4T1, znížená aj po 24- a 48-hodinovej expozícii prípravku MGN-3 v koncentrácii 500 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ($p < 0,05$) a 600 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ($p < 0,01$). Kultivácia buniek 4T1 s paclitaxelom v kombinácii s MGN-3 však spôsobila ešte intenzívnejšiu inhibíciu bunkovej proliferácie než pri jednotlivom použití oboch prípravkov ($p < 0,01$).

Apoptóza buniek 4T1. Skúmaný bol účinok MGN-3 v koncentráciách 500 a 600 $\mu\text{g} / \text{ml}$ a paclitaxelu ($1 \times 10^{-3} \text{M}$) na percento apoptózy buniek 4T1. Údaje na obrázku 7 ukazujú, že liečba buniek 4T1 paclitaxelom zvýšila mieru apoptózy buniek 4T1 po 24 hodinách ($p < 0,05$) a ešte výraznejšie po 48 hodinách (úroveň $p < 0,01$). Prípravok MGN-3, v závislosti od dávky, výrazne zvyšoval mieru apoptózy buniek 4T1 (úroveň $p < 0,01$). K ešte intenzívnejšiemu zvýšeniu miery apoptózy ako pri jednotlivom použití oboch prípravkov však došlo po expozícii buniek kombinácii týchto prípravkov ($p < 0,01$).

Diskusia

Paclitaxel, prírodný produkt z tisu obyčajného, sa považuje za veľmi potentné chemoterapeutikum pri liečbe početných typov rakoviny, ako napr. rakoviny prsníka, vaječníkov a prostaty, pažeráka, pľúcneho nemalobunkového karcinómu a melanómov (27, 28). Je známe, že apoptotický účinok paclitaxelu na bunky závisí od dávky (29, 30). Napriek tomu, že už jeho nízke koncentrácie (5-25 nm) dokážu indukovať apoptózu v bunkách anaplastického karcinómu štítnej žľazy *in vitro* (30), je tiež známe, že v klinickej praxi sú na vyvolanie apoptotického účinku na rakovinu potrebné vyššie koncentrácie (31-34), ktoré sú však zároveň spojené s ťažkými vedľajšími účinkami vrátane neutropénie, neuralgie a toxicity zažívacieho traktu (28, 35, 36). Z tejto skutočnosti pramení urgentná potreba výskumu, ktorý by dospel k optimálnym koncentráciám paclitaxelu, ktoré by dokázali privodiť smrť rakovinových buniek, no zároveň by spôsobili minimálne poškodenie normálnych tkanív.

Údaje z tejto štúdie naznačujú potenciál prípravku MGN-3 redukovať chemotoxické účinky paclitaxelu prostredníctvom redukcie koncentrácie lieku nevyhnutnej na zabitie rakovinových buniek. Polovičná maximálna inhibičná koncentrácia (IC_{50}) paclitaxelu bola u buniek MCF-7 a 4T1 v prítomnosti MGN-3 znížená viac než 100-násobne. MGN-3 má schopnosť senzibilizovať rakovinové bunky aj na iné chemoterapeutiká, ako je napr. DNR (11). Navyše, zvieracie štúdie preukázali, že prípravok má osožné účinky tým, že predchádza ťažkému úbytku telesnej hmotnosti pri liečbe cisplatinou (37). Tento ochranný efekt možno pripísať prevencii istých závažných patologických zmien v zažívacom trakte a rovnako tak prevencii úmrtí buniek spôsobených chemoterapiou (38). Okrem toho, výsledky klinických štúdií hepatocelulárneho

karcinómu a iných progresívnych typov rakoviny ukazujú, že chemoterapeutická liečba s využitím MGN-3 čoby doplnku liečby mala za následok vyššiu mieru prežívania, nižšie percento recidívy a výrazné zlepšenie apetítu v porovnaní s liečbou samotnými chemoterapeutikami (12, 39).

Už predtým sme preukázali, že mechanizmy, ktorými MGN-3 indukuje svoje senzibilizačné účinky na daunorubicín zahŕňajú schopnosť MGN-3 zvyšovať mieru akumulácie tohto chemoterapeutika v ľudských nádorových prsníkových bunkách (11). Výsledky aktuálnej štúdie preukazujú, že MGN-3 ma synergický efekt na pôsobenie paclitaxelu, čím v bunkách 4T1 spôsobuje masívnejšie poškodenie DNA, zlepšuje ich apoptózu a inhibuje ich proliferáciu. Kombinované účinky paclitaxelu a MGN-3 boli lepšie než účinky v prípadoch jednotlivého použitia týchto prípravkov. Existuje niekoľko látok, ktoré zlepšujú cytotoxický efekt chemoterapeutík na rakovinové bunky tým, že zvyšujú mieru vnútrobunkovej akumulácie lieku a zabraňujú multiliekovej rezistencii rakovinových buniek; patria medzi ne blokátor kalciových kanálov Diltiazem a bisoclaurínový alkaloid Cepharantin (40-42), antiarytmikum chinidín (43, 44) a syntetický derivát izotiokyanátu E-4IB (45). Okrem toho bola skúmaná aj výživová intervencia zameraná na rezpozívnosť nádoru na chemoterapiu. Na zvýšenie miery vnútrobunkovej akumulácie chemoterapeutík v rakovinových bunkách sa v tomto smere používajú polynenasýtené mastné kyseliny Omega-3 (9). Navyše, v našej skoršej štúdii sme preukázali, že MGN-3 vie v bunkách HL60/AR zvrátiť multiliekovú rezistenciu (46).

Výskum v uplynulých dvoch desaťročiach odhalil, že mnohé protirakovinové bunky fungujú na princípe indukovania apoptózy (47-49). Skúmali sme úlohu MGN-3 v aktivácii kaspáz. Liečba prípravkom MGN-3 mala za následok zvýšenie počtu ľudských nádorových prsníkových buniek s aktívnou kaspázou-8 a -9 v bunkách MCF-7 a kaspázou -3, -8 a -9 v bunkách HCC70 (50). Navyše, senzibilizačný účinok MGN-3 v ľudských leukemických bunkách HUT 78 na apoptózu indukovanú protilátkami CD95 koreloval so zvýšeným množstvom buniek s aktívnou kaspázou-3, -8 a -9 (10). Naznačuje to, že MGN-3 senzibilizuje rakovinové bunky na daunorubicín mechanizmom, ktorý zahŕňa kaskády spúšťané kaspázami. O podobných zistenia referoval Bodo *a kol.*, kde zvýšenú intracelulárnu akumuláciu platiny spolu so syntetickým derivátom izotiokyanátu E-4IB po liečbe sprevádzala stimulácia aktivity kaspázy-3 (45). V tejto štúdii sme pozorovali, že bunky 4T1 liečené paclitaxelom vykazovali poškodenie DNA spojené s inhibíciou ich proliferácie. Tento účinok môže byť dôsledkom schopnosti paclitaxelu viazať sa na mikrotubuly a tak zabraňovať proliferácii buniek. Paclitaxel indukuje zástavu bunkového cyklu a apoptózu u väčšiny typov nádorových buniek (51).

Prísľub protirakovinovej aktivity derivátov ryže a ryžových otrúb je predmetom mnohých štúdií. MGN-3 je arabinoxylan extrahovaný z ryžových otrúb (17), ktorý funguje ako imunomodulátor na rôzne imunitné bunky, napr. na dendritické bunky, NK bunky, T- a B-bunky a makrofágy (17-23) a zvyšuje produkciu cytokínov ako napr. tumor nekrotizujúceho faktoru- α a interferónu- γ (52). Okrem toho, MGN-3 vykazuje vlastnosti novej protinádorovej látky, ktorá je schopná senzibilizovať ľudské leukemické bunky na apoptózu indukovanú receptorom smrti (CD95), ďalej rakovinové bunky na apoptózu indukovanú kvasinkami (50) a ľudské nádorové prsníkové bunky na daunorubicín (11). Výsledky tejto štúdie, navyše, ukázali, že MGN-3 zvyšuje citlivosť metastázujúcich buniek 4T1 na paclitaxel. Tieto údaje môžu naznačovať, že doplnenie výživy o prípravok MGN-3 v spojení s chemoterapiou na báze paclitaxelu môže byť pri prínosné pre liečbu metastázujúcej rakoviny prsníka.

Pod'akovanie

Autori d'akujú spoločnosti Daiwa Pharmaceutical Co. Ltd., Tokio, Japonsko za finančnú podporu tohto projektu.

Referencie

...