

УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
ЖУРНАЛ



*Молекулярные биомаркеры
колоректального рака*

*Вирус Эпштейна–Барр и механизмы
молекулярного канцерогенеза*

*Роль пролина P325 в распознавании
эпитопа MX35 натрийзависимого
фосфатного транспортера NaPi2b*

*Влияние ингибитора обратной
транскриптазы эфавиренза на
повторы LINE1 и генетическую
нестабильность в клетках ОМЛ in vitro*

*Подкожный ксенографт меланомы
человека с экспрессией CD20*



Журнал «Успехи молекулярной онкологии» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук.

Журнал включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор, зарегистрирован в базе данных Scopus, в CrossRef, статьи индексируются с помощью идентификатора цифрового объекта (DOI).

Электронная версия журнала представлена в DOAJ.

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАНЦЕРОГЕНЕЗА ФГБУ «НМИЦ ОНКОЛОГИИ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА»
МИНЗДРАВА РОССИИ

УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ



Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Национальный медицинский
исследовательский центр
онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России

Онлайн-версия журнала
доступна по адресу:
<http://umo.abvpress.ru/jour>

Е Ж Е К В А Р Т А Л Ы Й Н А У Ч Н О - П Р А К Т И Ч Е С К И Й Р Е Ц Е Н З И Р У Е М Ы Й Ж У Р Н А Л

Главная задача журнала «Успехи молекулярной онкологии» – публикация современной информации о проведенных фундаментальных и клинико-экспериментальных исследованиях в области молекулярной онкологии.

Цель издания – дать читателям представление об актуальных направлениях современной молекулярной онкологии, ознакомить с наиболее значимыми работами отечественных и зарубежных исследователей в этой области, создать общую площадку, на которой специалисты разных областей, включая онкологов, молекулярных биологов, генетиков, биохимиков, вирусологов, химиотерапевтов, смогут поделиться результатами своих научных исследований.

О С Н О В А Н В 2 0 1 4 Г .

2 ^{ТОМ 12}
'25

Учредители:
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
ООО «ИД «АБВ-пресс»

Издатель:
ООО «ИД «АБВ-пресс»
115478 Москва,
Каширское шоссе, 24, стр. 15

Адрес редакции:
115478 Москва, Каширское шоссе, 24,
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел.: +7 (499) 929-96-19
E-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Прием статей:
онлайн на сайте
<http://umo.abvpress.ru/jour>
или по адресу
adv.mol.onc@ronc.ru

Выпускающий редактор

И.В. Пучкова

Корректор Е.С. Самойлова

Дизайн: Е.В. Степанова

Верстка: Е.В. Степанова

Служба подписки и распространения
И.В. Шупраева, base@abvpress.ru

*Журнал зарегистрирован в Федеральной
службе по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых
коммуникаций (ПИ № ФС77-57560
от 08.04.2014)*

**При полной или частичной перепечатке
материалов ссылка на журнал «Успехи
молекулярной онкологии» обязательна.
Редакция не несет ответственности
за содержание публикуемых рекламных
материалов. В статьях представлена
точка зрения авторов, которая может
не совпадать с мнением редакции.**

ISSN 2313-805X (Print)
ISSN 2413-3787 (Online)
Успехи молекулярной онкологии.
2025. Том 12. № 2. 1–124.

© Оформление, верстка.
ООО «ИД «АБВ-пресс», 2025

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 93562.

Отпечатано в типографии
«Лайдер принт».
105082 Москва, Переведеновский
пер., 13, стр. 16.

Тираж 1000 экз. Бесплатно.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Красильников Михаил Александрович, д.б.н., профессор, директор Научно-исследовательского института канцерогенеза (НИИ канцерогенеза) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующий отделом экспериментальной биологии опухолей (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Якубовская Марианна Геннадиевна, д.м.н., заведующая отделом химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Гудкова Маргарита Владимировна, к.б.н., ученый секретарь НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Боженко Владимир Константинович, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории биохимии отдела патоморфологии и лабораторной диагностики, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, заслуженный врач РФ (Москва, Россия)

Бойчук Сергей Васильевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей патологии, декан медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, Россия)

Глушанкова Наталья Александровна, д.б.н., заведующая лабораторией механизмов канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Гудков Андрей Владимирович, д.б.н., профессор, старший вице-президент по фундаментальной науке и заведующий отделом биологии клеточного стресса Института онкологии им. Розвелла Парка (Баффало, Нью-Йорк, США)

Животовский Борис Давидович, д.б.н., профессор, лауреат Государственной премии СССР, заведующий лабораторией исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», профессор Каролинского института (Стокгольм, Швеция)

Имянитов Евгений Наумович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Казанский Дмитрий Борисович, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Карамышева Аида Фуадовна, д.б.н., главный научный консультант лаборатории генетики опухолевых клеток отдела молекулярной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кжышковска Юлия Георгиевна, д.б.н., профессор, руководитель отдела врожденного иммунитета и толерантности Института трансфузионной медицины и иммунологии медицинского факультета Мангейма университета Гейдельберга (Гейдельберг, Германия)

Кирсанов Кирилл Игоревич, д.б.н., заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, доцент кафедры общей врачебной практики ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Ковалева Ольга Владимировна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Лазаревич Наталья Леонидовна, д.б.н., профессор, заведующая отделом иммунохимии НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Мазуренко Наталья Николаевна, д.б.н., профессор, главный научный консультант лаборатории онкогеномики НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Миркин Сергей Моисеевич, именной профессор биологии Университета Тафтса (Медфорд, Орегон, США)

Сергеева Наталья Сергеевна, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории прогноза эффективности консервативного лечения Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена — филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Степанова Евгения Владиславовна, д.м.н., директор Департамента комплексных программ и проектов Минобрнауки России (Москва, Россия)

Чевкина Елена Максимовна, д.б.н., заведующая лабораторией регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Чердынцева Надежда Викторовна, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (Томск, Россия)

Щербачев Александр Михайлович, заведующий лабораторией онкопротеомики отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Юришич Владимир, профессор факультета медицинских наук Университета Крагуеваца (Крагуевац, Сербия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Белицкий Геннадий Альтерович, д.м.н., профессор, главный научный консультант лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Гурцевич Владимир Эдуардович, д.м.н., профессор, главный научный консультант лаборатории вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Заридзе Давид Георгиевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий отделом эпидемиологии и профилактики опухолей НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заслуженный деятель науки РФ (Москва, Россия)

Кубасова Ирина Юрьевна, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кушлинский Николай Евгеньевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Лихтенштейн Анатолий Владимирович, д.б.н., главный научный консультант отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Тюляндин Сергей Алексеевич, д.м.н., профессор, заведующий отделением клинической фармакологии и химиотерапии, заместитель директора по научной работе НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

The journal "Advances in Molecular Oncology" is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of leading peer-reviewed scientific periodicals recommended to publish the basic research results of candidate's and doctor's theses.

The journal is included in the Scientific Electronic Library and the Russian Index of Science Citation (RISC) and has an impact factor; it is registered in the Scopus data base, CrossRef, its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

The journal's electronic version is available in the DOAJ.

RESEARCH INSTITUTE OF CARCINOGENESIS, N.N. BLOKHIN NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTER
OF ONCOLOGY, MINISTRY OF HEALTH OF RUSSIA

ADVANCES in MOLECULAR ONCOLOGY



N.N. Blokhin National Medical
Research Center of Oncology,
Ministry of Health of Russia

Online version of the journal
is available at:
<http://umo.abvpress.ru/jour>

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL

The main objective of the journal "Advances in Molecular Oncology" is publication of current information on basic, clinical and experimental research in molecular oncology.

The publication aim to provide insight into currently important areas of modern molecular oncology; present the most significant studies from Russian and foreign specialists in this field; create a forum for various researchers, including oncologists, molecular biologists, geneticists, biochemists, virologists, chemotherapists to share the results of their scientific research.

FOUNDED IN 2014

2 VOL. 12
'25

Founders:

N.N. Blokhin National Medical
Research Center of Oncology,
Ministry of Health of Russia;
PH "ABV-press"

Publisher

PH "ABV-Press" 24 Kashirskoe
Shosse, Bld. 15, Moscow 115478

Editorial Office:

Research Institute of Carcino-
genesis, Floor 3, 24 Kashirskoye
Shosse, Bld. 15, Moscow 115478.
Tel.: +7 (499) 929-96-19

E-mail: abv@abvpress.ru

www.abvpress.ru

Article submission:

on-line at <http://umo.abvpress.ru/jour>
or by e-mail to adv.mol.onc@ronc.ru

Managing editor I.V. Puchkova
Proofreader E.S. Samoylova

Designer E.V. Stepanova
Maker-up E.V. Stepanova

Subscription & Distribution Service
I.V. Shurgaeva, base@abvpress.ru

*The journal was registered at the Federal
Service for Surveillance of Communications,
Information Technologies, and Mass Media
(ITI No. ФЦ77-57560 dated 08 April 2014).*

**If materials are reprinted in whole
or in part, reference must necessarily
be made to the journal "Uspekhi mole-
kulyarnoy onkologii".**

**The editorial board is not responsible
for advertising content. The authors, point
of view given in the articles may not coincide
with the opinion of the editorial board.**

ISSN 2313-805X (Print)
ISSN 2413-3787 (Online)

Uspekhi molekulyarnoy onkologii.
2025. Vol. 12 No. 2. 1–124.

© Design, layout PH "ABV-Press",
2025

Pressa Rossii catalogue index: 93562.

Printed at the Leader Print Ltd
Bld. 16, 13 Perevednovsky lane,
Moscow 105082.
1000 copies.
Free distribution.

EDITOR-IN-CHIEF

Krasil'nikov, Mikhail A., DSc, PhD, Professor, Director of the Research Institute of Carcinogenesis, Head of Department of Experimental Biology of Tumors (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Yakubovskaya, Marianna G., MD, PhD, Head of the Department of Chemical Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Gudkova, Margarita V., PhD, Scientific Secretary of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Bozhenko, Vladimir K., MD, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Biochemistry of the Department of Pathomorphology and the Laboratory Diagnostics of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Health of Russia, Honored Doctor of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Boychuk, Sergey V., MD, PhD, Professor, Head of the Department of General Pathology, Dean of the Faculty of Medicine and Biology, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia)

Gloushankova, Natalia A., DSc, PhD, Head of the Laboratory of Carcinogenesis Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Gudkov, Andrey V., DSc, PhD, Professor, Sr. Vice-President for Basic Science and Head of the Department of Cell Stress Biology of the Roswell Park Cancer Institute (Buffalo, New York, USA)

Zhivotovskiy, Boris D., DSc, PhD, Professor, Laureate of the State Award of the USSR, Head of the Department of Apoptosis Mechanisms, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Professor of the Karolinska Institute (Stockholm, Sweden)

Imyanitov, Eugeny N., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, N.N. Petrov National Medical Research Oncology Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia)

Kazansky, Dmitry B., DSc, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Immune Regulation Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Karamysheva, Aida F., DSci, PhD, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of the Genetics of Tumor Cells of the Department of Molecular Biology of Tumors of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kirsanov, Kirill I., DSc, Head of the Laboratory of Carcinogenic Compounds, Department of Chemical carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Associate Professor of the Department of General Medical Practice of the Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

Kovaleva, Olga V., DSc, Sr. Researcher of the Laboratory of Regulation of Cellular and Viral Oncogenes of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kzhyskovskaya, Juliya G., DSc, PhD, Professor, Head of Department of Innate Immunity and Tolerance, Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, Heidelberg University (Heidelberg, Germany)

Lazarevich, Natalia L., DSc, PhD, Professor, Head of the Department of the Immunochemistry of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Mazurenko, Natalia N., DSc, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Oncogenomics of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Mirkin, Sergey M., Professor, White Family Department of Biology, Head in Biology Tufts University (Medford, Oregon, USA)

Sergeeva, Natalia S., DSc, PhD, Professor, Head of the Prognostics of the Efficacy of Conservative Treatment Laboratory of the P.A. Herzen Moscow Oncology Research Center – branch of National Medical Research Radiology Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Shcherbakov, Alexander M., Head of the Laboratory of Oncoproteomics of the Department of Experimental Biology of Tumors of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Stepanova, Evgenia V., MD, PhD, Director of the Department of Complex Programs and Projects, Ministry of Science and Higher Education of Russia (Moscow, Russia)

Tchevkina, Elena M., DSc, PhD, Head of the Laboratory of the Regulation of Cell and Viral Oncogenes of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Tcherdyntseva, Nadezhda V., DSc, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Deputy Director for Research Work, Head of the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (Tomsk, Russia)

Juriscic, Vladimir, Professor of the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (Kragujevac, Serbia)

EDITORIAL COUNCIL

Belitsky, Gennady A., MD, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Chemical Carcinogenesis Mechanisms of the Department of Chemical Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Gurtsevitch, Vladimir E., MD, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Viral Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Zaridze, David G., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Department of Epidemiology and Prevention of Tumors of the N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Honored Scientist of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Kubasova, Irina Yu., PhD, Scientific Secretary of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kushlinskii, Nikolay E., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Clinical Biochemistry Laboratory, N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Lichtenstein, Anatoly V., DSc, PhD, Chief Scientific Consultant of the Tumor Biochemistry Group, Department of Experimental Tumor Biology of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Tjulandin, Sergey A., MD, PhD, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, Deputy Director for Scientific Research, N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

<i>А.Д. Шахматова, Е.Д. Мирлина, Г.М. Бутрович, О.А. Вострюхина, В.Н. Вербенко</i> Прогностические и предиктивные молекулярные биомаркеры колоректального рака	8
<i>А.Д. Молчанов, А.С. Васильева, К.В. Смирнова, М.В. Немцова</i> Вирус Эпштейна—Барр и механизмы молекулярного канцерогенеза	22
<i>Л.Н. Любченко, С.В. Мухтарулина, М.А. Мешкова, З.А. Сидакова, Н.Н. Волченко, Е.Г. Новикова</i> Молекулярно-генетическая классификация рака эндометрия в контексте персонализированной медицины	35
<i>М.Е. Мельников, С.А. Кулева, Г.В. Кондратьев, М.М. Васильева, О.Е. Савельева</i> Механизмы цитотоксичности пассивной анти-GD2-иммунотерапии при опухолях детского возраста	47
<i>В.Е. Шевченко, Т.И. Кушнир, М.В. Гудкова, Н.Е. Арноцкая</i> Детерминанты ферроптоза — потенциальные предикторы и терапевтические мишени для острого миелоидного лейкоза	58

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

<i>И.Н. Михайлова, Е.М. Трещалина, С.Ш. Каршиева, Д.А. Хоченков, Н.В. Андропова, И.Ж. Шубина, М.В. Киселевский</i> Подкожный ксенографт меланомы человека MelCher5k/ <i>BRAF</i> ⁺ с экспрессией CD20	68
<i>Л.Ф. Булатова, И.А. Слудзюк, А.В. Килунов, В.С. Скрипова, Р.Г. Киямова</i> Роль остатка пролина P325 в распознавании эпитопа MX35 натрийзависимого фосфатного транспортера NaPi2b моноклональными антителами в клетках карциномы яичника	77
<i>Х.М. Магомедова, И.А. Антонова, М.С. Стрелков, В.А. Нуртдинова, В.Т. Чещевик, К.И. Кирсанов, Г.А. Белицкий, М.Г. Якубовская, О.А. Власова</i> Влияние ингибитора обратной транскриптазы эфавиренза на индуцированную 5-азациитидином экспрессию длинных диспергированных повторов LINE1 и генетическую нестабильность в клетках острого миелоидного лейкоза	89
<i>И.Р. Мягдиева, Т.В. Абакумова, Д.Р. Долгова, О.Ю. Горшков, Т.П. Генинг, Р.Ш. Зайнеева, С.А. Тимофеева</i> Динамика субпопуляций циркулирующих нейтрофилов CD15CD66b и CD62LCD63 у пациентов с доброкачественными новообразованиями почки и с прогрессированием рака почки	104
<i>Е.Ю. Златник, С.Ю. Филиппова, Я.С. Енин, Т.В. Чембарова, Ф.Ф. Амирджанов, О.Н. Буров, А.Д. Загребаев, К.А. Онасенко, Ю.В. Дзигунова</i> Потенциальная противоопухолевая активность нового алкалоида растительного происхождения, выделенного из <i>Petasites hybridus</i> (L.), <i>in silico</i> и <i>in vitro</i>	112

REVIEWS

<i>A.D. Shakhmatova, E.D. Mirlina, G.M. Butrovich, O.A. Vostriukhina, V.N. Verbenko</i> Prognostic and predictive molecular biomarkers of colorectal cancer	8
<i>A.D. Molchanov, A.S. Vasilyeva, K.V. Smirnova, M.V. Nemtsova</i> Epstein–Barr virus and mechanisms of molecular carcinogenesis	22
<i>L.N. Lyubchenko, S.V. Mukhtarulina, M.A. Meshkova, Z.A. Sidakova, N.N. Volchenko, E.G. Novikova</i> Molecular genetic classification of endometrial cancer in the context of personalised medicine	35
<i>M.E. Melnikov, S.A. Kulyova, G.V. Kondratiev, M.M. Vasilyeva, O.E. Savelieva</i> Cytotoxicity mechanisms of passive anti-GD2 immunotherapy in pediatric tumors	47
<i>V.E. Shevchenko, T.I. Kushnir, M.V. Gudkova, N.E. Arnotskaya</i> Ferroptosis determinants – potential predictors and therapeutic targets for acute myeloid leukemia	58

EXPERIMENTAL REPORTS

<i>I.N. Mikhaylova, H.M. Treshalina, S.Sh. Karshieva, D.A. Khochenkov, N.V. Andronova, I.Zh. Shubina, M.V. Kiselevskiy</i> MelCher5k/<i>BRAF</i>⁺ subcutaneous human melanoma xenograft with CD20 expression	68
<i>L.F. Bulatova, I.A. Slidzduk, A.V. Kilunov, V.S. Skripova, R.G. Kiyamova</i> The role of proline P325 residue in the recognition of the MX35 epitope of the sodium-dependent phosphate transporter NaPi2b by monoclonal antibodies in ovarian carcinoma cells.	77
<i>K.M. Magomedova, I.A. Antonova, M.S. Strelkov, V.A. Nurtdinova, V.T. Cheshchevik, K.I. Kirsanov, G.A. Belitsky, M.G. Yakubovskaya, O.A. Vlasova</i> Effect of the reverse transcriptase inhibitor efavirenz on 5-azacytidine-induced LINE1 long interspersed repeat expression and genetic instability in acute myeloid leukemia cells	89
<i>I.R. Myagdieva, T.V. Abakumova, D.R. Dolgova, O.Yu. Gorshkov, T.P. Gening, R.Sh. Zaineeva, S.A. Timofeeva</i> Dynamics of subpopulations of CD15⁺CD66b⁺ and CD62L⁺CD63⁺ circulating neutrophils in patients with benign neoplasms and progression of kidney cancer	104
<i>E.Yu. Zlatnik, S.Yu. Filippova, Ya.S. Enin, T.V. Chembarova, F.F. Amirdzhanov, O.N. Burov, A.D. Zagrebaev, K.A. Onasenko, Yu.V. Dzigunova</i> Potential antitumor activity of a new plant-derived alkaloid isolated from <i>Petasites hybridus</i> (L.), <i>in silico</i> and <i>in vitro</i>	112

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-89-103>

Влияние ингибитора обратной транскриптазы эфавиренза на индуцированную 5-азацитидином экспрессию длинных диспергированных повторов LINE1 и генетическую нестабильность в клетках острого миелоидного лейкоза

Х.М. Магомедова¹, И.А. Антонова¹, М.С. Стрелков^{1,2}, В.А. Нуртдинова¹, В.Т. Чешеви́к³, К.И. Кирсанов^{1,2}, Г.А. Белицкий¹, М.Г. Якубовская^{1,2}, О.А. Власова¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

³УО «Полесский государственный университет»; Беларусь, 225710 Пинск, ул. Днепровской флотилии, 23

Контакты: Ольга Александровна Власова olya_vlasov@mail.ru, Марианна Геннадиевна Якубовская mgyakubovskaya@mail.ru

Введение. Использование гипометилирующих агентов в терапии острого миелоидного лейкоза позволило увеличить общую выживаемость пациентов на 12 %. Однако, наряду с мощным противоопухолевым эффектом, эти агенты оказывают негативное влияние на стабильность генома из-за транспозиции активированных LINE1, чем обусловлена малая продолжительность ремиссии. Поскольку для ретротранспозиции LINE1 необходима кодируемая ими обратная транскриптаза ORF2 LINE1, гомологичная ферменту ретровирусов, мы предложили использовать гипометилирующие агенты в комбинации с нуклеозидным ингибитором этого фермента, чтобы снизить генотоксическое действие 5-азацитина.

Цель исследования – оценить влияние эфавиренза на эффекты 5-азацитина в отношении культивируемых клеток острого миелоидного лейкоза: цитотоксическую активность, экспрессию длинных диспергированных повторов LINE1 и уровень генетической нестабильности.

Материалы и методы. Исследование проведено на клетках острого миелоидного лейкоза THP-1 и KG-1. В качестве гипометилирующих агентов и ингибитора обратной транскриптазы использованы 5-азацидин и эфавиренз соответственно. Цитотоксическое действие препаратов и их комбинаций определяли с помощью резазуринового теста, долю апоптотических и некротических клеток оценивали с использованием проточной цитофлуориметрии, экспрессию LINE1 – с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Для оценки уровня повреждения ДНК применяли метод ДНК-комет.

Результаты. Выявлено отсутствие влияния эфавиренза на цитотоксичность 5-азацитина. С помощью иммунофлуоресцентного окрашивания 2-го кодируемого LINE1 белка – ORF1 – и проточной цитометрии продемонстрировано отсутствие воздействия эфавиренза на уровень экспрессии LINE1. В то же время данные теста ДНК-комет свидетельствуют о снижении генотоксического эффекта 5-азацитина при его использовании в комбинации с эфавирензом.

Заключение. Результаты нашего исследования впервые показали перспективность развития нового подхода к терапии острого миелоидного лейкоза с использованием гипометилирующих агентов путем их комбинации с ингибиторами обратной транскриптазы.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, гипометилирующий агент, ингибитор обратной транскриптазы ретровирусов, длинные диспергированные повторы LINE1, 5-азацидин, эфавиренз

Для цитирования: Магомедова Х.М., Антонова И.А., Стрелков М.С. и др. Влияние ингибитора обратной транскриптазы эфавиренза на индуцированную 5-азацитидином экспрессию длинных диспергированных повторов LINE1 и генетическую нестабильность в клетках острого миелоидного лейкоза. Успехи молекулярной онкологии 2025;12(2):89–103.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-89-103>

Effect of the reverse transcriptase inhibitor efavirenz on 5-azacytidine-induced LINE1 long interspersed repeat expression and genetic instability in acute myeloid leukemia cells

K.M. Magomedova¹, I.A. Antonova¹, M.S. Strelkov^{1,2}, V.A. Nurtdinova¹, V.T. Cheshchevik³, K.I. Kirsanov^{1,2}, G.A. Belitsky¹, M.G. Yakubovskaya^{1,2}, O.A. Vlasova¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

²RUDN University; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

³Polesky State University; 23 Dneprovskoy Flotilla St., Pinsk 225710, Belarus

Contacts: Olga Aleksandrovna Vlasova olya_vlasov@mail.ru, Marianna Gennadievna Yakubovskaya mgyakubovskaya@mail.ru

Introduction. The use of hypomethylating agents in the treatment of acute myeloid leukemia has increased overall patient survival by 12 %. However, alongside their potent antitumor effect, hypomethylating agents negatively impact genome stability due to the transposition of activated LINE1 elements, which contributes to the short duration of remission. Since LINE1 retrotransposition requires the ORF2-encoded reverse transcriptase, homologous to the retroviral enzyme, we proposed combining hypomethylating agents with a non-nucleoside inhibitor of this enzyme to reduce the genotoxic effects of 5-azacytidine.

Aim. To evaluate the effect of efavirenz on 5-azacytidine in cultured acute myeloid leukemia cells regarding: cytotoxic activity, expression of long interspersed nuclear elements (LINE1), the level of genetic instability.

Materials and methods. The study was conducted on THP-1 and KG-1 acute myeloid leukemia cell lines. 5-Azacytidine (hypomethylating agents) and efavirenz (reverse transcriptase inhibitor) were used. Cytotoxicity was assessed via the resazurin assay, apoptosis and necrosis rates were measured by flow cytometry, LINE1 expression was quantified using real-time polymerase chain reaction, and DNA damage was evaluated via the comet assay.

Results. Efavirenz did not affect the cytotoxicity of 5-azacytidine. Immunofluorescence staining of LINE1-encoded ORF1 protein and flow cytometry confirmed that efavirenz did not alter LINE1 expression levels. However, comet assay data indicated that combining 5-azacytidine with efavirenz reduced its genotoxic effects.

Conclusion. Our findings demonstrate, for the first time, the potential of a novel acute myeloid leukemia treatment strategy combining hypomethylating agents with reverse transcriptase inhibitors.

Keywords: acute myeloid leukemia, hypomethylating agent, retroviral reverse transcriptase inhibitor, long interspersed repeats LINE1, 5-azacytidine, efavirenz

For citation: Magomedova K.M., Antonova I.A., Strelkov M.S. et al. Effect of the reverse transcriptase inhibitor efavirenz on 5-azacytidine-induced LINE1 long interspersed repeat expression and genetic instability in acute myeloid leukemia cells. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2025;12(2):89–103. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-89-103>

ВВЕДЕНИЕ

Лечение пожилых пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и миелодиспластическим синдромом представляет собой одну из наиболее сложных задач в онкогематологии [1, 2]. Эти заболевания системы крови наиболее распространены среди населения старше 60 лет [3]. Приобретенные в течение жизни сопутствующие заболевания приводят к невозможности применения интенсивной химиотерапии и трансплантации костного мозга у данной категории пациентов, что обуславливает низкий уровень их общей выживаемости. Существенный прогресс в лечении этих больных достигнут благодаря применению гипометилирующих препаратов (ГМА), первым среди которых был 5-азациитидин — аналог цитидина [2, 4]. Вследствие пиримидинового метаболизма 5-азациитидин перерабатывается в аналог дезоксицитидинтрифосфата (dCTP) Aza-dCTP, который встраивается в цепь ДНК и ковалентно захватывает самый важный эпигенетический регулятор — ДНК-метилтрансферазу 1 (DNMT1). При этом наблюдается снижение глобального метилирования ДНК, что приводит к активации

эпигенетически репрессированных генов определенных областей генома [5, 6].

Однако, как показали результаты исследований последних лет, применение 5-азациитидина вызывает активацию экспрессии более 2000 точек старта в некодирующей части генома, в том числе экспрессии повторяющихся последовательностей, к которым, в частности, относятся классы мобильных генетических элементов LINE (long interspersed nuclear elements), SINE (short interspersed nuclear elements) и эндогенные ретровирусы [7, 8]. Наиболее изученными и распространенными мобильными генетическими элементами в геномах млекопитающих являются LINE1, активация которых приводит к двум разнонаправленным эффектам. Увеличение экспрессии двунитевых транскриптов LINE1 приводит, во-первых, к активации интерферонового сигналинга 1-го типа и таким образом вносит вклад в противоопухолевый эффект препарата, а во-вторых, к повышению генетической нестабильности из-за транспозиции LINE1 и других транспозонов, что способствует опухолевой прогрессии и, соответственно, развитию рецидива заболевания [9].

В состав LINE1 входят 2 последовательности ORF (open reading frame), кодирующие белки шаперона (ORF1), эндонуклеазы и обратной транскриптазы (OT) (ORF2). Эффект ГМА, обусловленный транспозицией LINE1, опосредован действием функционально активной ORF2, которая гомологична соответствующему ферменту ретровирусов.

К настоящему времени разработаны и успешно применяются в терапии пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), ингибиторы ОТ ретровирусов [10]. Одним из препаратов, одобренных в 1998 г. для использования в клинической практике, является антиретровирусный препарат эфавиренз — нуклеозидный ингибитор ОТ (NNRTI) [11]. Мы предположили, что использование 5-азациитидина в комбинации с эфавирензом позволит снизить генотоксичность терапии без влияния на активацию LINE1.

Цель исследования — оценить влияние эфавиренза на цитотоксическую активность 5-азациитидина в отношении культивируемых клеток ОМЛ, индуцированную 5-азациитидином экспрессию длинных диспергированных повторов LINE1 и уровень генетической нестабильности в клетках ОМЛ, обработанных 5-азациитидином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты. Использованы 5-азациитидин (Sigma Aldrich (Merck), Индия, A2385-100MG), резазурина натриевая соль («ЛенРеактив», Россия, 163004), ExtractRNA («Евроген», Россия, BC032), ОТ вируса лейкемии мышей (MMLV-RT, «Евроген», Россия, SK022L), случайные гексануклеотидные праймеры Random(dN)₁₀ («Евроген», Россия, SB002), эфавиренз (CaymanChemical, США, 14412), фосфатно-солевой буфер (PBS) (Servicebio, Китай, G4207-500ML), TopVision Low Melting Point Agarose (ThermoFisherScientific, Германия, R0801), Na₂EDTA («ПанЭко», Россия, Эл075), борная кислота («ПанЭко», Россия, Эл070), Tris Base («ПанЭко», Россия, X270), Tris-HCl («ПанЭко», Россия, X280), NaCl («Пушинские лаборатории», Россия, PL-0773), NaOH («Пушинские лаборатории», Россия, PL-0761), SYBR® Gold Nucleic Acid Gel Stain (Invitrogen, США), 3,7 % раствор формальдегида («ХимМед», Россия, CS-T-55012), 0,3 % Triton X-100 (Macklin, Китай, T6328-500mL), Mouse Monoclonal H2A.X phospho S139 antibody (Abcam, Ирландия, cat# ab26350), Donkey Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 488) (Abcam, Ирландия, cat# ab150105), DAPI (Sigma Aldrich (Merck), Индия, D9542), Mowiol® 4-88 (Sigma Aldrich (Merck), Индия, 81381).

Клеточные линии. Клеточные линии ОМЛ ТНР-1 и KG-1 получены из коллекции клеток Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина. Клетки культивировали в питательной среде RPMI 1640 («ПанЭко», Россия) с добавлением 150 мг/мл L-глутамин, 50 ЕД/мл

пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина («ПанЭко», Россия) и 10 % (для ТНР-1) и 20 % (для KG-1) эмбриональной бычьей сыворотки («ПанЭко», Россия). Клетки инкубировали при 37 °C и 5 % CO₂. Проверку на отсутствие микоплазмы проводили с помощью профилирования STR.

Измерение жизнеспособности клеток острого миелоидного лейкоза. Клетки линий ОМЛ высевали в 96-луночные планшеты в ранее подобранных количествах (для ТНР-1 — 37,5 тыс. клеток/мл, для KG-1 — 150 тыс. клеток/мл) в 180 мкл среды. Далее их обрабатывали 5-азациитидином и/или эфавирензом общим объемом 20 мкл и инкубировали 72 ч с 5-азациитидином в максимальной конечной концентрации 100 мкМ с пошаговым уменьшением концентрации в 1,5 раза; эфавиренз добавляли в концентрации 50 мкМ как для ТНР-1, так и для KG-1. Жизнеспособность клеток анализировали на основе метаболической активности с добавлением 0,177 мг/мл резазурина за 8–10 ч до окончания времени инкубации. Результаты в виде интенсивности сигнала флуоресценции считывали на микропланшетном флуориметре Fluoroskan FL (Thermo Scientific, США).

Полимеразная цепная реакция в реальном времени. Клетки ТНР-1 высевали в количестве 100 тыс. клеток/мл в 24-луночных планшетах и инкубировали в течение 120 ч с ГМА в различных концентрациях. По прошествии 72 ч обновляли питательную среду с добавлением 50 % концентрации ГМА. Тотальную РНК экстрагировали реагентом ExtractRNA согласно протоколу производителя («Евроген», Россия). Общий пул РНК (1 мкг как из необработанных, так и из обработанных противоопухолевыми препаратами клеток) подвергали ОТ с использованием MMLV-RT и случайных гексануклеотидных праймеров в 20 мкл реакционной смеси в соответствии с протоколом производителя («Евроген», Россия). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени проводили по стандартному протоколу с использованием 5 пар праймеров к 4 ампликонам (некодирующим последовательностям LINE1), а также гену *ORF1 LINE1* (табл. 1).

Каждая ПЦР основана на 5 нг ДНК, 1х ПЦР-буфере, 0,3 мМ dNTP, 3 мМ MgCl₂, 0,2 ед. ДНК-полимеразы Syn Taq и 0,2 мкМ прямого и обратного праймеров в объеме реакционной смеси 25 мкл. ПЦР проводили с помощью системы CFX96 Touch™ (Bio-Rad Laboratories, #1855201, Россия) по протоколу: начальный этап денатурации путем нагревания при 95 °C в течение 5 мин, затем 40 циклов по 15 с денатурации (при 95 °C), 20 с при соответствующей температуре (в зависимости от значений Tm используемого праймера) и элонгация — 25 с при 72 °C. Экспрессию интересующего фрагмента LINE1 нормализовали по конститутивно экспрессируемым генам домашнего хозяйства *RPL₀* и *GAPDH*. Последовательности используемых праймеров представлены в табл. 1. Относительный уровень экспрессии рассчитывали для каждого

Таблица 1. Последовательности праймеров, используемых для амплификации фрагментов длинных диспергированных повторов LINE1

Table 1. Sequences of primers used to amplify fragments of long interspersed repeats LINE1

Амплифицируемый фрагмент Amplified fragment	Последовательность праймера Primer sequence	
	прямого (3' → 5') forward (3' → 5')	обратного (3' → 5') reverse (3' → 5')
LINE1 set1	GCCAAGATGGCCGAATAGGA	AAATCACCCGTCTTCTGCGT
LINE1 set2	CGAGATCAAAGTGAAGGCG	CCGGCCGCTTTGTTTACCTA
LINE1 set3	TAAACAAAGCGGCCGGGAA	AGAGGTGGAGCCTACAGAGG
LINE1 set4	AGAGAGCAGTGGTTCTCCCA	CAGTCTGCCCCGTTCTCAGAT
LINE1 set5 (ORF1)	ACCTGAAAGTGACGGGGAGA	CCTGCCTTGCTAGATTGGGG
RPL0	CCTTCTCCTTTGGGCTGGTCATCCA	CAGACACTGGCAACATTGCGGACAC
GAPDH	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

образца методом 2^{-ΔΔCt}. Проводили не менее 5 биологических повторов на каждую точку.

Анализ активации экспрессии LINE1, индуцированной 5-азациитидином и эфавирензом, с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания антителами к ORF1 LINE1 и последующей проточной цитометрии. Для анализа активации экспрессии LINE1, индуцированной 5-азациитидином и эфавирензом, клетки ОМЛ высевали в 6-луночные планшеты (10⁵ клеток на лунку в 2 мл RPMI). Клетки обрабатывали интересующими соединениями в нетоксичных концентрациях и инкубировали в течение 72 ч. Затем промывали 3 раза PBS и фиксировали в холодном 4 % параформальдегиде в течение 15 мин. После следующих 3 промывок PBS их пермеабелизировали холодным 0,3 % Triton-X100 в течение 7 мин и блокировали бычьим сывороточным альбумином в течение 1 ч. Клетки были иммунофлуоресцентно окрашены антителами к LINE1-ORF1, последующее связывание со вторичными антителами AlexaFluor488 проводили в темноте. Клетки промыты PBS и проанализированы на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США). Оценивали долю клеток с высокоинтенсивным флуоресцентным сигналом и среднюю интенсивность флуоресценции клеток, нормализованную по отношению к контролю. Полученные данные проанализированы с помощью программного обеспечения Win-List™ 3D (версия 9.0.1, Verity Software House, США, <https://www.vsh.com/products/winlist/index.asp>).

Анализ количества апоптотических и некротических клеток с помощью двойного окрашивания аннексин-FITC/пропидий йодид и последующего анализа на проточном цитометре. Клетки окрашивали аннексином V-FITC и PI для оценки апоптоза методом проточной

цитометрии в соответствии с инструкциями производителя для обнаружения апоптоза FITC Annexin V (Sigma-Aldrich, США). Клетки обрабатывали нетоксичными концентрациями 5-азациитидина и эфавиренза в течение 72 ч. После этого их собирали, дважды промывали ледяным PBS и ресуспендировали в 0,5 мл раствора аннексин/V-FITC/PI в течение 30 мин в темноте в соответствии с протоколом производителя. После окрашивания при комнатной температуре клетки анализировали с помощью проточного цитометра BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США). Для каждого образца проанализированы 10 000 событий и проведена количественная оценка клеток с высокоинтенсивным флуоресцентным сигналом по FITC и/или PI с использованием программного обеспечения WinList™ 3D (версия 9.0.1, Verity Software House, США, <https://www.vsh.com/products/winlist/index.asp>).

Метод ДНК-комет. Клетки линий ТНР-1 и КГ-1 высевали по 100 тыс. клеток/мл в 6-луночных планшетах и инкубировали в течение 120 ч с 5-азациитидином в диапазоне концентраций от 0,5 до 20 мкМ для ТНР-1 и от 0,12 до 8,5 мкМ для КГ-1 с 20 мкМ эфавирензом или без него. По прошествии 72 ч обновляли питательную среду с добавлением 50 % концентрации 5-азациитидина и эфавиренза. Важными данными, получаемыми при проведении теста ДНК-комет, являются характеристики «хвоста кометы», соответствующие доле поврежденной ДНК. «Хвост кометы» представляет собой фракцию относительно низкомолекулярной ДНК, образовавшейся в результате появления двух- и одноцепочечных разрывов в высокомолекулярной хромосомной ДНК. «Момент хвоста» рассчитывается по формуле:

«Момент хвоста» = % ДНК в «хвосте» × длина «хвоста».

Показателем генотоксического действия является индекс повреждения (ИП), который вычисляли по формуле:

$$\text{ИП} = \frac{\text{«Момент хвоста» в обработанных клетках}}{\text{«Момент хвоста» в контрольных клетках}}.$$

Значение ИП >2 указывает на то, что исследуемое соединение обладает генотоксическими свойствами. Для статистического анализа различий величины «момента хвоста» использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса.

Клеточную суспензию центрифугировали в течение 5 мин при 1500 об/мин. Осадок промывали PBS и повторяли процедуру центрифугирования, далее осадок ресуспендировали в PBS из расчета 10 тыс. клеток/мл. Полученную суспензию смешивали с предварительно нагретой агарозой с низкой температурой плавления в соотношении 1:8 по объему, тщательно перемешивали и наносили 40 мкл суспензии на 20-луночное предметное стекло. После затвердевания стекла погружали в 25 мл холодного лизирующего раствора (10 mM Tris HCl; pH 10; 2,5 M NaCl; 100 mM Na₂EDTA) и инкубировали 90 мин при 4 °C. После окончания инкубации лизирующий раствор аспирировали, слайды заливали 25 мл холодного щелочного раствора (500 mM Na₂EDTA, pH 8; 300 mM NaOH, pH >13) и инкубировали 30 мин при 4 °C. После лизиса слайды промывали TBE (Tris Base, Na₂EDTA, борная кислота), помещали в горизонтальную электрофорезную камеру, заполненную холодным TBE, и проводили электрофорез (1 В/см, 20 мин). Далее стекла промывали в дистиллированной воде 2 раза по 5 мин. Для дегидратации минигелей слайды помещали в 70 % этанол на 5 мин. После сушки на воздухе все образцы окрашивали красителем ДНК SYBR Gold для подсчета. Процент ДНК в «хвосте» подсчитывали с помощью программного обеспечения Comet Scoring Freeware

(Version 2.0.0.0; <http://rexhooover.com/>). Для анализа взято не менее 100 клеток на каждую точку.

Статистическая обработка данных. Эксперименты выполнены минимум в 2 биологических повторах. Средние значения и средноквадратичные отклонения рассчитывали с помощью пакетов программ Microsoft Excel, OriginLab и GraphPad Prism. Сравнение данных экспериментальной и контрольных групп проведено с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и апостериорного теста Даннетта. Различия между группами считались значимыми при значении $p < 0,05$.

Основой статистической обработки результатов для определения наличия статистически значимых различий между несколькими группами для одной независимой переменной являются случайность выборок, равенство размера выборки и нормальность распределений использованных выборок. Нормальность распределения данных оценивали с помощью теста Колмогорова–Смирнова. Статистический анализ проводили с использованием программного решения GraphPad Prism 8.3.0 (GraphPad Software Inc., США). Для теста ДНК-комет значимость различий между контрольными необработанными клетками и клетками, обработанными 5-азациитидином и эфавирензом, определялась с помощью теста ANOVA (непараметрический критерий Краскела–Уоллиса) и апостериорного теста Даннетта.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние эфавиренза на цитотоксическую активность 5-азациитидина в отношении культивируемых клеток острого миелоидного лейкоза. При проведении сравнительной оценки уровней цитотоксичности 5-азациитидина с эфавирензом и без него в отношении клеток линий ОМЛ человека (KG-1 и THP-1) использован резазуриновый тест (рис. 1).

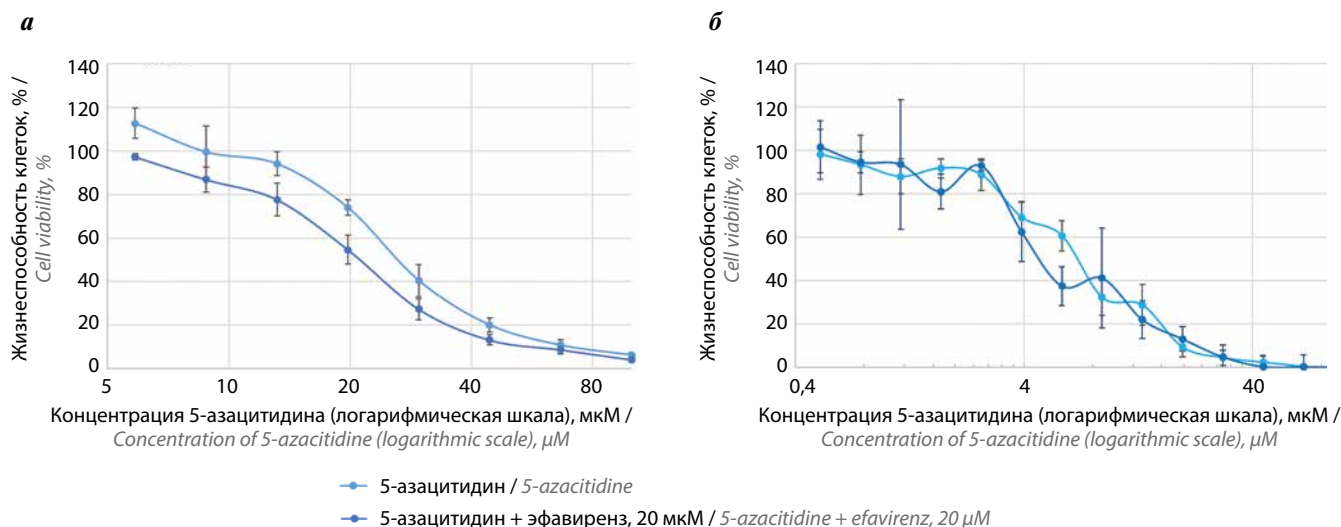


Рис. 1. Зависимость жизнеспособности клеток от концентраций 5-азациитидина на клеточных линиях THP-1 (а) и KG-1 (б) в присутствии и в отсутствие эфавиренза

Fig. 1. The dependence of cell viability on the concentration of 5-azacytidine on THP-1 (a) and KG-1 (b) cell lines in the presence and absence of efavirenz

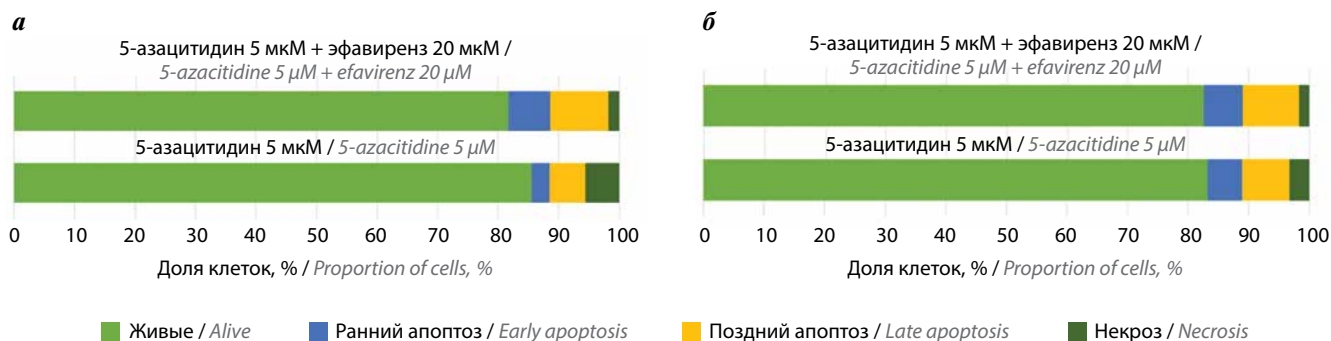


Рис. 2. Распределение популяции клеток на живые, апоптотические и некротические под действием комбинации 5-азациитидина и эфавиренза в нетоксичных концентрациях: а – клеточная линия ТНР-1; б – клеточная линия КГ-1

Fig. 2. Distribution of the cell population into live, apoptotic and necrotic cells under the influence of a combination of 5-azacytidine and efavirenz at non-toxic concentrations: а – THP-1 cell line; б – KG-1 cell line

При этом эфавиренз использовали в нетоксичной для данных клеточных линий концентрации 20 мкМ (данные не представлены). На клеточной линии ТНР-1 добавление эфавиренза несколько снижало жизнеспособность клеток при всех исследуемых концентрациях 5-азациитидина. На клеточной линии КГ-1 экспериментальные кривые по жизнеспособности клеток при воздействии 5-азациитидина в присутствии и в отсутствие эфавиренза неоднократно пересекались. Это указывает на то, что при воздействии эфавиренза жизнеспособность клеток, обработанных 5-азациитидином, не подвергалась значительным изменениям.

На основе полученных экспериментальных кривых для последующего анализа выбраны следующие нетоксичные концентрации 5-азациитидина: 5 мкМ для клеточной линии ТНР-1 и 0,5 мкМ для клеточной линии КГ-1.

Проанализировано влияние нетоксичных концентраций 5-азациитидина на долю жизнеспособных клеток при добавлении эфавиренза в концентрации 20 мкМ с помощью определения доли клеток с маркерами раннего и позднего апоптоза и некроза. В обеих клеточных линиях эфавиренз не оказывал статистически значимого влияния на жизнеспособность опухолевых клеток (рис. 2).

Влияние эфавиренза на индуцированную 5-азациитидином экспрессию LINE1. Для анализа изменения уровня экспрессии ретротранспозонов в клеточных линиях ОМЛ человека использованы 2 альтернативных подхода, один из которых – анализ активации экспрессии длинных диспергированных повторов 5-азациитидином с помощью ПЦР в реальном времени с применением 5 пар праймеров к 4 ампликонам (некодирующим последовательностям LINE1), а также к гену *ORF1 LINE1*.

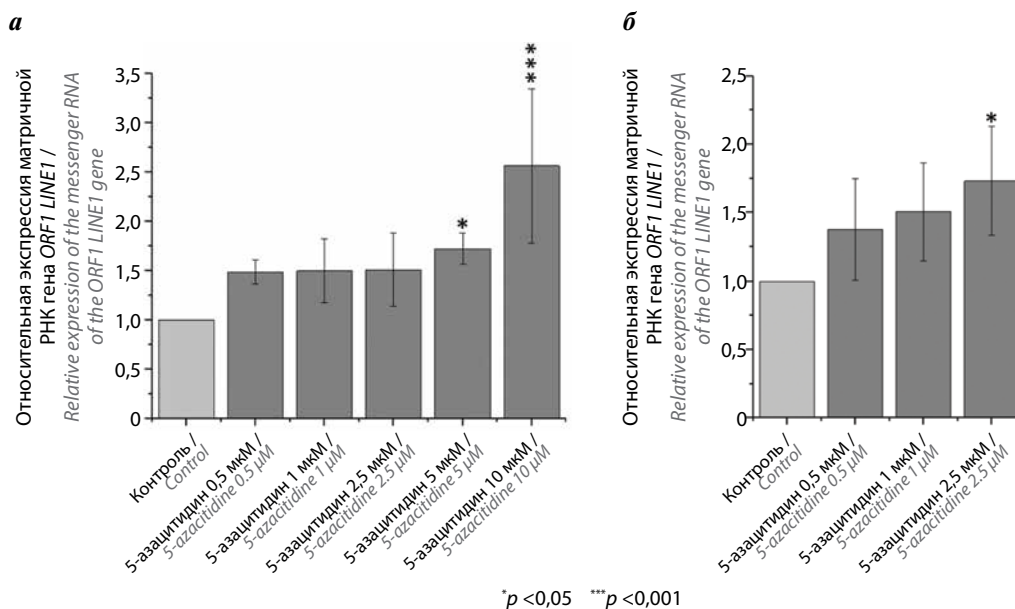


Рис. 3. Относительная экспрессия гена *ORF1 LINE1* на клеточных линиях острого миелоидного лейкоза под действием 5-азациитидина, среднее значение $\pm$ стандартное отклонение: а – клеточная линия ТНР-1; б – клеточная линия КГ-1. Статистическая обработка проведена с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)

Fig. 3. Relative expression of the *ORF1 LINE1* gene under the influence of 5-azacytidine in acute myeloid leukemia cell lines, mean $\pm$ standard deviation: а – THP-1 cell line; б – KG-1 cell line. Statistical processing was performed using univariate analysis of variance (ANOVA)

Таблица 2. Уровень экспрессии ампликонов *LINE1* при обработке клеток 5-азациитидином в концентрациях 5 мкМ (THP-1) и 0,5 мкМ (KG-1)

Table 2. *LINE1* amplicon expression levels in cells treated with 5-azacytidine at concentrations of 5 μ M (THP-1) and 0.5 μ M (KG-1)

Клеточная линия Cell line	Ампликон <i>LINE1</i> <i>LINE1</i> amplicon				
	1	2	3	4	ORF1
THP-1	—	+	+	+	+
KG-1	—	—	+	+	—

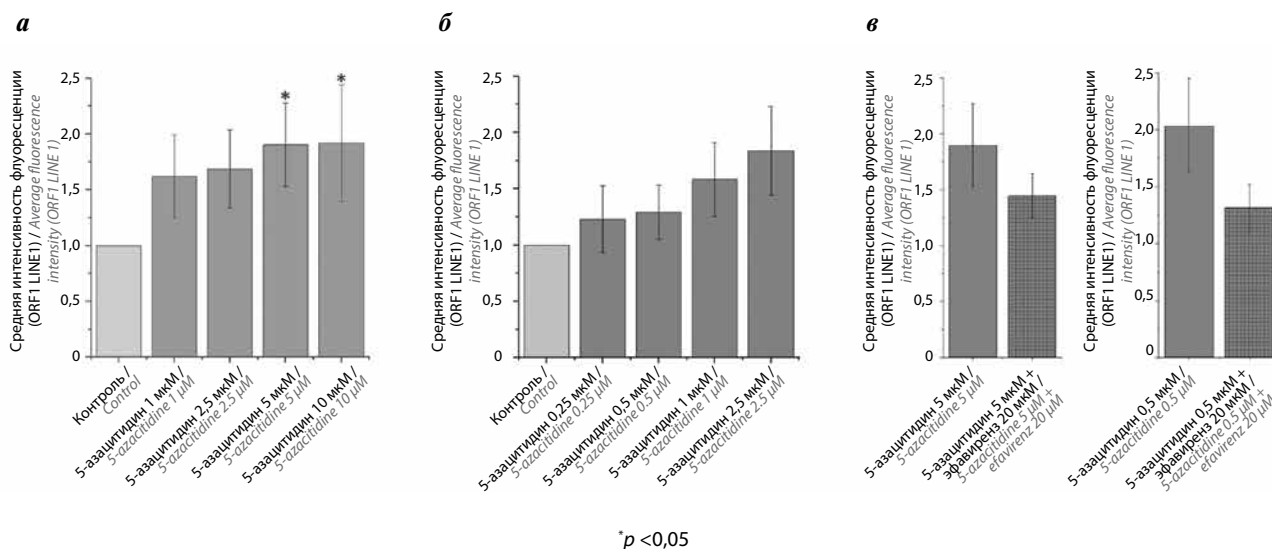
Результаты ПЦР-анализа продемонстрировали повышение уровня экспрессии гена *ORF1 LINE1* транспозона *LINE1* и других ампликонов *LINE1*, что свидетельствует о целесообразности оценки уровня экспрессии белка ORF1 в популяциях обработанных и необработанных клеток, окрашенных антителами к ORF1 *LINE1*, с помощью проточной цитометрии (рис. 3, табл. 2).

Под действием ГМА 5-азациитидина мы наблюдали дозозависимое увеличение средней интенсивности флуоресценции клеток, которая ассоциирована с количеством белка ORF1 *LINE1*, причем для клеточной линии THP-1 при его концентрации 5 мкМ и выше увеличение этого показателя было статистически значимым (рис. 4, а, б). Эфавиренз снижал экспрессию

белка ORF1 *LINE1*, однако различия не были статистически значимы относительно необработанных клеток (рис. 4, в).

Влияние эфавиренза на генотоксический эффект 5-азациитидина в клетках THP-1 и KG-1. Для оценки повреждений ДНК под действием гипометилирующих препаратов на клеточных линиях THP-1 и KG-1 использован метод ДНК-комет.

В контрольных клетках, не подвергавшихся обработке, «момент хвоста» для THP-1 составил $1,14 \pm 0,33$ %, для KG-1 — $1,12 \pm 0,2$ %. В клетках, инкубированных в течение 24 ч с ифосфамидом в дозе 5 мг/мл для THP-1 и 4 мг/мл для KG-1, «момент хвоста» оказался равен $4,31 \pm 1,28$ и $4,02 \pm 0,47$ % соответственно, что под-



* $p < 0,05$

Рис. 4. Влияние гипометилирующего препарата 5-азациитидин на экспрессию белка ORF1 *LINE1* в клетках линии острого миелоидного лейкоза, среднее значение $\pm$ стандартное отклонение: а — клеточная линия THP-1; б — клеточная линия KG-1; в — в присутствии ингибитора обратной транскриптазы вирусов эфавиренза. Статистическая обработка проведена с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)

Fig. 4. Effect of the hypomethylating drug 5-azacytidine on the expression of the ORF1 *LINE1* protein in acute myeloid leukemia cell lines, mean $\pm$ standard deviation: а — THP-1 cell line; б — KG-1 cell line; в — in the presence of the viral reverse transcriptase inhibitor efavirenz. Statistical processing was performed using univariate analysis of variance (ANOVA)

Таблица 3. Уровень повреждений ДНК клеток ТНР-1 при обработке 5-азациитидином по данным теста ДНК-комет
Table 3. The level of DNA damage in THP-1 cells during treatment with 5-azacytidine according to the DNA comet assay

Группа Group	«Момент хвоста», медиана (Q ₂₅ ; Q ₇₅) “Tail moment”, median (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Индекс повреждения Damage index
Контроль Control	1,14 ± 0,330 (0,000; 1,714)	—
Ифосфамид 5 мг/мл Ifosfamide 5 mg/ml	4,31 ± 1,281**** (0,06045; 4,295)	3,78
5-азациитидин 20 мкМ 5-azacytidine 20 µM	2,66 ± 0,656**** (0,008144; 2,839)	2,33
5-азациитидин 10 мкМ 5-azacytidine 10 µM	2,46 ± 0,355* (1,500e-005; 3,026)	2,16
5-азациитидин 5 мкМ 5-azacytidine 5 µM	1,89 ± 0,649*** (0,0005815; 2,673)	1,66
5-азациитидин 2 мкМ 5-azacytidine 2 µM	1,25 ± 0,204 (0,000; 1,647)	1,09

* $p \leq 0,05$. *** $p \leq 0,001$. **** $p \leq 0,0001$.

Примечание. Звездочками обозначены статистически значимые различия относительно группы 5-азациитидина. Здесь и в табл. 4–6: Q₂₅ – 25-й квартиль; Q₇₅ – 7-й квартиль.

Note. The asterisks indicate statistically significant differences relative to the 5-azacytidine group. Here and in tables 4–6: Q₂₅ – the 25th quartile; Q₇₅ – the 7th quartile.

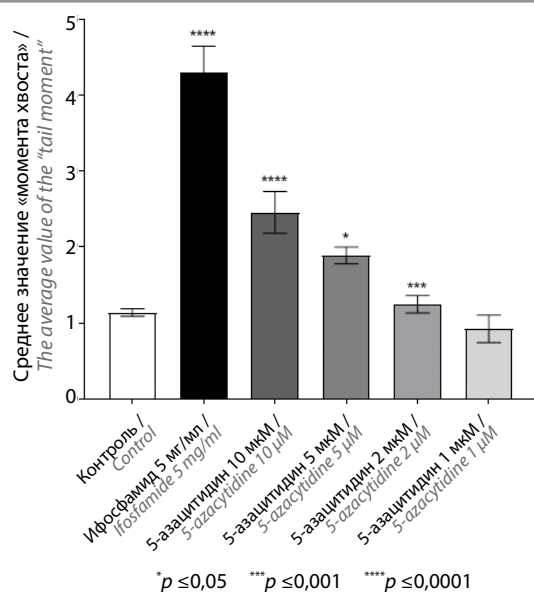


Рис. 5. Повреждения ДНК клеток ТНР-1 при обработке 5-азациитидином в ходе теста ДНК-комет. Нормальность распределения значений определяли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Значимость различий между клетками, обработанными 5-азациитидином и не обработанными им, оценивали с использованием теста ANOVA (непараметрический критерий Краскела–Уоллиса) и апостериорного теста Даннетта

Fig. 5. DNA damage in THP-1 cells treated with 5-azacytidine in the DNA comet assay. Normality of distribution of values was determined by the Kolmogorov–Smirnov test. The significance of differences between control untreated cells and cells treated with 5-azacytidine was determined using the ANOVA test (nonparametric Kruskal–Wallis test) and Dunnett’s post hoc test

тверждает генотоксические свойства ифосфамида, проявляемые в клетках человека, и обосновывает его использование в качестве положительного контроля. Для клеток ТНР-1, обработанных 5-азациитидином, показано, что уже при нетоксичной концентрации 5 мкМ происходит существенный рост величины «момента хвоста» относительно необработанных клеток. Доля повреждений ДНК в клетках после инкубации с эфавирензом статистически не отличалась от доли повреждений в группе отрицательного контроля, что свидетельствует об отсутствии повреждений ДНК под действием данного препарата в исследуемых клеточных линиях (табл. 3, рис. 5).

При обработке клеток ТНР-1 нетоксичной концентрацией 5-азациитидина (5 мкМ) добавление эфавиренза вызывает значительное понижение количества повреждений ДНК (в среднем в 2,7 раза) (табл. 4, рис. 6).

Для клеток KG-1, обработанных 5-азациитидином, показано, что уже при нетоксичной концентрации 0,25 мкМ происходит существенный рост величины «момента хвоста» относительно необработанных клеток (табл. 5, рис. 7).

При обработке клеток KG-1 нетоксичной концентрацией 5-азациитидина (0,5 мкМ) эфавиренз вызывал значительное уменьшение количества повреждений ДНК (в среднем в 2 раза) (табл. 6, рис. 8).

Таблица 4. Уровень повреждений ДНК клеток ТНР-1 при обработке 5-азациитидином в комбинации с эфавирензом по данным теста ДНК-комет

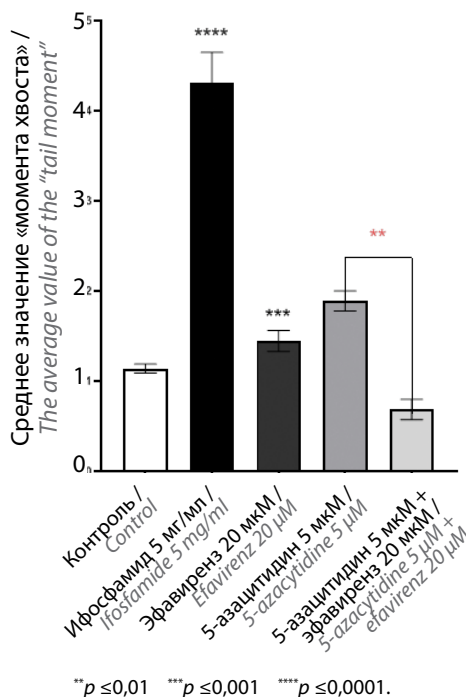
Table 4. The level of DNA damage in THP-1 cells during treatment with 5-azacytidine in combination with efavirenz according to the DNA comet assay

Группа Group	«Момент хвоста», медиана (Q_{25} ; Q_{75}) “Tail moment”, median (Q_{25} ; Q_{75})	Индекс повреждения Damage index
Без обработки (контроль) Without treatment (control)	$1,14 \pm 0,330$ (0,000; 1,714)	—
Ифосфамид 5 мг/мл Ifosfamide 5 mg/ml	$4,31 \pm 1,281^{****}$ (0,06045; 4,295)	3,78
Эфавиренз 50 мкМ Efavirenz 50 μ M	$1,45 \pm 0,498$ (0,002182; 1,909)	1,27
5-азациитидин 5 мкМ 5-azacytidine 5 μ M	$1,89 \pm 0,649^{***}$ (0,0005815; 2,673)	1,66
5-азациитидин 5 мкМ + эфавиренз 20 мкМ 5-azacytidine 5 μ M + efavirenz 20 μ M	$0,69 \pm 0,068^{**}$ (0,00007; 0,8954)	0,60

$^{**}p \leq 0,01$. $^{***}p \leq 0,001$. $^{****}p \leq 0,0001$.

Примечание. Звездочками обозначены статистически значимые различия относительно группы 5-азациитидина (5 мкМ).

Note. The asterisks indicate statistically significant differences relative to the 5-azacytidine group (5 μ M).



$^{**}p \leq 0,01$ $^{***}p \leq 0,001$ $^{****}p \leq 0,0001$.

Рис. 6. Повреждения ДНК клеток ТНР-1 при обработке 5-азациитидином и эфавирензом в монорежиме или в комбинации в ходе теста ДНК-комет. Нормальность распределения значений определяли с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Значимость различий между необработанными клетками и клетками, обработанными 5-азациитидином и эфавирензом, оценивали с использованием теста ANOVA (непараметрический критерий Краскала—Уоллиса) и апостериорного теста Даннетта. Черными звездочками обозначены статистически значимые различия относительно группы контроля, красными — различия между группами 5-азациитидина в комбинации с эфавирензом и 5-азациитидина

Fig. 6. DNA damage in THP-1 cells treated with 5-azacytidine and efavirenz alone or in combination in the DNA comet assay. Normality of distribution of values was determined by the Kolmogorov—Smirnov test. The significance of differences between control untreated cells and cells treated with 5-azacytidine and efavirenz was determined using the ANOVA test (nonparametric Kruskal—Wallis test) and Dunnett's post hoc test. The black asterisks indicate statistically significant differences relative to the control group, the red ones indicate the difference between the 5-azacytidine group in combination with efavirenz relative to the 5-azacytidine group

Таблица 5. Уровень повреждений ДНК клеток KG-1 при обработке 5-азациитидином по данным теста ДНК-комет
Table 5. The level of DNA damage in KG-1 cells during treatment with 5-azacytidine according to the DNA comet assay

Группа Group	«Момент хвоста», медиана (Q ₂₅ ; Q ₇₅) “Tail moment”, median (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Индекс повреждения Damage index
Контроль Control	1,12 ± 0,197 (0,000; 1,524)	—
Ифосфамид 4 мг/мл Ifosfamide 4 mg/ml	4,02 ± 0,468**** (0,000004; 5,414)	3,59
5-азациитидин 8,5 мкМ 5-azacytidine 8.5 μM	5,43 ± 1,376**** (0,04131; 7,379)	4,85
5-азациитидин 5 мкМ 5-azacytidine 5 μM	3,22 ± 0,904**** (0,003877; 3,952)	2,88
5-азациитидин 2,5 мкМ 5-azacytidine 2.5 μM	2,70 ± 0,714**** (0,002830; 3,917)	2,41
5-азациитидин 1 мкМ 5-azacytidine 1 μM	2,59 ± 0,506**** (3,550e-005; 3,611)	2,31
5-азациитидин 0,5 мкМ 5-azacytidine 0.5 μM	2,08 ± 0,293* (0,000; 2,533)	1,86
5-азациитидин 0,25 мкМ 5-azacytidine 0.25 μM	1,61 ± 0,417* (0,000006; 2,030)	1,44
5-азациитидин 0,12 мкМ 5-azacytidine 0.12 μM	1,26 ± 0,039 (0,000; 1,239)	1,13

* $p \leq 0,05$. **** $p \leq 0,0001$.
Примечание. Звездочками обозначены статистически значимые различия относительно группы 5-азациитидина.
Note. The asterisks indicate statistically significant differences relative to the 5-azacytidine group.

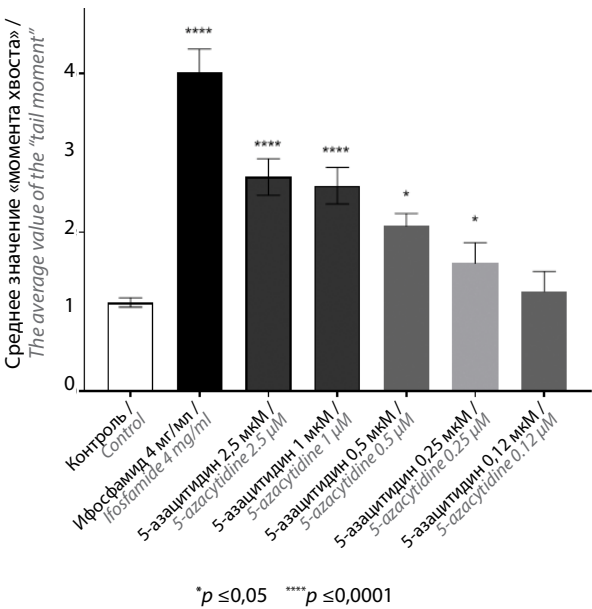


Рис. 7. Повреждения ДНК клеток KG-1 при обработке 5-азациитидином в ходе теста ДНК-комет. Нормальность распределения значений определяли с использованием критерия Колмогорова—Смирнова. Значимость различий между клетками, не обработанными и обработанными 5-азациитидином, оценивали с помощью теста ANOVA (непараметрический критерий Краскела—Уоллиса) и апостериорного теста Даннетта
Fig. 7. DNA damage in KG-1 cells treated with 5-azacytidine in the DNA comet assay. Normality of distribution of values was determined by the Kolmogorov—Smirnov test. The significance of differences between control untreated cells and cells treated with 5-azacytidine was determined using the ANOVA test (nonparametric Kruskal—Wallis test) and Dunnett's post hoc test

Таблица 6. Уровень повреждений ДНК клеток KG-1 при обработке 5-азациитидином в комбинации с эфавирензом по данным теста ДНК-комет

Table 6. The level of DNA damage in KG-1 cells during treatment with 5-azacytidine in combination with efavirenz according to the DNA comet assay

Группа Group	«Момент хвоста», медиана (Q_{25} ; Q_{75}) “Tail moment”, median (Q_{25} ; Q_{75})	Индекс повреждения Damage index
Контроль Control	$1,12 \pm 0,197$ (0,000; 1,524)	—
Ифосфамид 4 мг/мл Ifosfamide 4 mg/ml	$4,02 \pm 0,468^{****}$ (0,000004; 5,414)	3,59
Эфавиренз 50 мкМ Efavirenz 50 μ M	$1,01 \pm 0,0001$ (0,000; 0,7622)	0,90
5-азациитидин 0,5 мкМ 5-azacytidine 0.5 μ M	$2,08 \pm 0,293^*$ (0,000; 2,533)	1,86
5-азациитидин 0,5 мкМ + эфавиренз 20 мкМ 5-azacytidine 0.5 μ M + efavirenz 20 μ M	$1,03 \pm 0,0002^{****}$ (0,000; 0,7717)	0,92

* $p \leq 0,05$. **** $p \leq 0,0001$.

Примечание. Звездочками обозначены статистически значимые различия относительно группы 5-азациитидина (0,5 мкМ).

Note. The asterisks indicate statistically significant differences relative to the 5-azacytidine group (0.5 μ M).

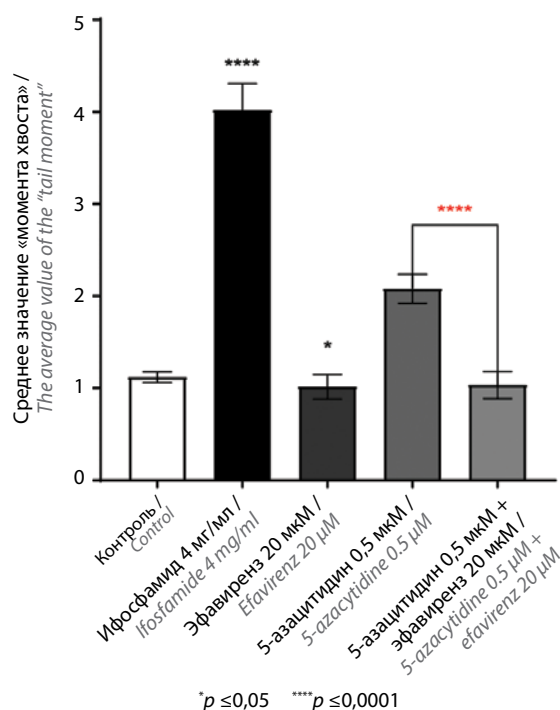


Рис. 8. Повреждения ДНК клеток KG-1 при обработке 5-азациитидином в комбинации с эфавирензом в ходе теста ДНК-комет. Нормальность распределения значений определяли по критерию Колмогорова—Смирнова. Значимость различий между клетками, не обработанными и обработанными 5-азациитидином, оценивали с помощью теста ANOVA (непараметрический критерий Краскела—Уоллиса) и апостериорного теста Даннетта. Черными звездочками обозначены статистически значимые различия относительно группы контроля, красными — различия между группами 5-азациитидина в комбинации с эфавирензом и 5-азациитидина

Fig. 8. DNA damage in KG-1 cells treated with 5-azacytidine in combination with efavirenz in the DNA comet assay. Normality of distribution of values was determined by the Kolmogorov—Smirnov test. The significance of differences between control untreated cells and cells treated with 5-azacytidine was determined using the ANOVA test (nonparametric Kruskal—Wallis test) and Dunnett's post hoc test. The black asterisks indicate statistically significant differences relative to the control group, the red ones indicate the difference between the 5-azacytidine group in combination with efavirenz relative to the 5-azacytidine group

ОБСУЖДЕНИЕ

Прогресс технологий секвенирования ДНК привел к открытию сложного ландшафта генома человека, в котором кодирующие последовательности составляют всего 1,2 % генома, в то время как остальная часть состоит из некодирующей ДНК [12, 13]. В результате стало очевидным, что некодирующая ДНК, долгое время считавшаяся «мусорной» [14], выполняет множество регуляторных функций. Около 45 % некодирующей ДНК состоит из различных семейств ретротранспозонов, среди которых наиболее распространены длинные диспергированные повторы LINE1, занимающие 17–20 % генома человека. В опухолевых клетках при многих злокачественных новообразованиях наблюдаются гипометилирование ДНК и дерепрессия ретротранспозонов LINE1 [15, 16], которые помимо влияния на профиль экспрессии генов сопровождаются массивной соматической ретротранспозицией [17–19]. При aberrантных интеграциях LINE1 может происходить инициация двухцепочечных разрывов ДНК и нехомологичного воссоединения концов (non-homologous end joining, NHEJ), а также удаление целых областей хромосом, что приводит к сложным транслокациям и крупномасштабным перестройкам [20]. Таким образом, одним из последствий активации LINE1 является повышение нестабильности генома опухолевых клеток, способствующее опухолевой прогрессии.

Ретротранспозиция LINE1 реализуется благодаря экспрессии кодируемого ими белка ORF2 LINE1, выполняющего функции эндонуклеазы и ОТ — фермента, обеспечивающего синтез ДНК на матрице РНК [10]. Этот фермент гомологичен ОТ, закодированной в геномах РНК-содержащих вирусов, что открывает возможность использования в онкологии антиретровирусных препаратов, действие которых основано на ингибировании ОТ. Одним из наиболее эффективных ингибиторов ОТ ретровирусов, который в настоящее время используется в терапии почти 30 % ВИЧ-инфицированных пациентов, является эфавиренз [21]. Он относится к препаратам I поколения класса ненуклеозидных ингибиторов ОТ ретровирусов, которые действуют аллостерически, изменяя конформацию фермента [22]. Результаты доклинических исследований противоопухолевых эффектов эфавиренза продемонстрировали, что он оказывает радиосенсибилизирующее действие на клетки ВхРС-3 аденокарциномы поджелудочной железы и ингибирует их колониеобразующий потенциал [23]. В клетках недифференцированной карциномы щитовидной железы ARO и FRO, меланомы A-375, аденокарциномы молочной железы MCF7 и карциномы предстательной железы PC3, культивируемых *in vitro*, эфавиренз вызывал снижение пролиферативной активности и индукцию процессов дифференцировки [10]. Кроме того, этот препарат успешно прошел II фазу клинических испытаний по оценке эффективности и безопасности при метастатическом кастрационно-резистентном раке предстательной железы [24].

В то же время возможности применения эфавиренза в комбинации с ГМА до настоящего времени не проанализированы. В нашем исследовании с помощью теста на жизнеспособность клеток по уровню метаболизма резазурина мы продемонстрировали, что данный препарат не изменяет цитотоксическое действие 5-азациитидина на культивируемые *in vitro* клетки линий ОМЛ ТНР-1 и КГ-1. К настоящему моменту опубликовано лишь одно исследование, результаты которого показали, что слаботоксичная концентрация для клеток ТНР-1 составила 44 мкМ [25]. Это согласуется с полученными нами данными о цитотоксичности эфавиренза. В то же время такие результаты свидетельствуют о том, что эфавиренз не должен влиять на противоопухолевый эффект 5-азациитидина. Согласно полученным нами данным этот препарат статистически значимо не влиял на уровень экспрессии LINE1, индуцированной 5-азациитидином. Поскольку повышение уровня экспрессии LINE1 является одним из путей активации интерферонового сигналинга 1-го типа [26], мы рассматриваем этот факт как аргумент в пользу эффективности 5-азациитидина в комбинации с эфавирензом. Согласно результатам нашего исследования при применении такой комбинации препаратов отмечается статистически значимое снижение генотоксичности 5-азациитидина. Таким образом, на культивируемых *in vitro* клетках ОМЛ линий ТНР-1 и КГ-1 мы продемонстрировали перспективность использования ГМА 5-азациитидина в комбинации с ненуклеозидным ингибитором ОТ ретровирусов эфавирензом в качестве препарата, не влияющего на противоопухолевое действие ГМА, но улучшающего отдаленные последствия такого воздействия путем повышения стабильности генома.

В то же время нельзя не отметить потенциальное ограничение возможности применения эфавиренза в клинической практике. При использовании данного препарата в стандартном протоколе лечения ВИЧ-инфицированных пациентов уже через 48 ч возникали гепатотоксические и нейротоксические эффекты, что являлось причиной прекращения антиретровирусной терапии в 1/3 случаев [27–30]. Одним из основных механизмов токсического действия эфавиренза было нарушение функционального состояния митохондрий путем ингибирования комплекса I дыхательной цепи и в результате активации оксидазы, индуцируемой оксидом азота [31–33]. Структурные нарушения митохондрий приводили к высвобождению цитохрома C и индукции митохондриального пути апоптоза [30, 34]. Предполагаемой причиной митохондриальной токсичности эфавиренза является его липофильность, которая обеспечивает накопление в митохондриях данного соединения в значительных количествах [29].

Следует учитывать и побочные эффекты 5-азациитидина. В частности, этот препарат является индуктором апоптоза, сопровождающегося снижением митохондриального мембранного потенциала и высвобождением

цитохрома С, вызывает разобщение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях, а также усиливает пролиферацию и хемирезистентность опухолевых клеток [35–38]. Перечисленные побочные эффекты эфавиренза и 5-азациитидина следует учитывать при дальнейшей разработке схем лечения онкологических заболеваний на основе комбинированного применения данных соединений.

Положительный опыт применения в клинической практике 5-азациитидина или децитабина в комбинации с ингибиторами ОТ ВИЧ, в том числе эфавирензом, описан в публикациях по терапии ВИЧ-инфицированных пациентов с миелодиспластическим синдромом и ОМЛ, что согласуется с результатами нашего исследования [39, 40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно результатам исследования на клетках ОМЛ линий ТНР-1 и KG-1 нуклеозидный ингибитор ОТ

ретровирусов эфавиренз не влияет на индуцированные ГМА 5-азациитидином цитотоксический эффект и активацию LINE1. К настоящему моменту получены данные о том, что ГМА вызывают не только изменение профиля экспрессии генов, но и, активируя экспрессию ретротранспозонов, индуцируют интерфероновый сигналинг 1-го типа, что вносит вклад в их противоопухолевое действие. В то же время активация ретротранспозонов приводит к повышению уровня генетической нестабильности, что способствует прогрессии опухоли.

Полученные нами данные свидетельствуют о возможности снижения генотоксичности 5-азациитидина при его использовании в комбинации с эфавирензом. Это открывает новые возможности для поиска более безопасной и эффективной противоопухолевой терапии ОМЛ и свидетельствует о необходимости дальнейших доклинических и клинических испытаний по изучению комбинирования ГМА с ингибиторами ОТ ретровирусов в лечении ОМЛ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Granatkin M.A., Nikitin E.A., Mikhailov E.S. et al. Combination of azacitidine and venetoclax in first-line therapy in elderly patients with acute myeloid leukemia: first experience. *Clin Oncohematol* 2022;15(3):282–8. DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-3-282-288
- Докшина И.А., Минаева Н.В., Поздеев Н.М. и др. Азациитидин — препарат выбора при лечении больных миелодиспластическим синдромом. *Гематология и трансфузиология* 2017;62(2):60–4. DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-2-60-64
- Dokshina I.A., Minaeva N.V., Pozdeev N.M. et al. Azacitidine is the preparation of choice in the treatment of myelodysplastic syndromes patients. *Gematologiya i transfusiologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology* 2017;62(2):60–4. (In Russ.). DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-2-60-64
- Jani C.T., Ahmed A., Singh H. et al. 1990–2019: estimates from the global burden of disease study. *JCO Glob Oncol* 2023;9:e2300229. DOI: 10.1200/JGO.23.00229
- Seymour J.F., Döhner H., Butrym A. et al. Azacitidine improves clinical outcomes in older patients with acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes compared with conventional care regimens. *BMC Cancer* 2017;17(1):852. DOI: 10.1186/s12885-017-3803-6
- Christman J. 5-azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy. *Oncogene* 2002;21:5483–95. DOI: 10.1038/sj.onc.1205699
- Gu X., Tohme R., Tomlinson B. et al. Decitabine- and 5-azacytidine resistance emerges from adaptive responses of the pyrimidine metabolism network. *Leukemia* 2021;35(4):1023–36. DOI: 10.1038/s41375-020-1003-x
- Brocks D., Schmidt C.R., Daskalakis M. et al. DNMT and HDAC inhibitors induce cryptic transcription start sites encoded in long terminal repeats. *Nat Genet* 2017;49(7):1052–60. DOI: 10.1038/ng.3889
- Daskalakis M., Brocks D., Sheng Y.H. et al. Reactivation of endogenous retroviral elements via treatment with DNMT- and HDAC-inhibitors. *Cell Cycle* 2018;17(7):811–22. DOI: 10.1080/15384101.2018.1442623
- Chiappinelli K.B., Strissel P.L., Desrichard A. et al. Inhibiting DNA methylation causes an interferon response in cancer via dsRNA including endogenous retroviruses. *Cell* 2015;162(5):974–86. DOI: 10.1016/j.cell.2015.07.011
- Власова О.А., Антонова И.А., Магомедова Х.М. и др. Потенциальные возможности использования в онкологии ингибиторов обратной транскриптазы вирусов. *Успехи молекулярной онкологии* 2024;11(2):8–28. DOI: 17650/2313-805X-2024-11-2-8-28
- Vlasova O.A., Antonova I.A., Magomedova Kh.M. et al. Potential to use of viral reverse transcriptase inhibitors in oncology. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2024;11(2):8–28. (In Russ.). DOI: 17650/2313-805X-2024-11-2-8-28
- Singh A.K., Kumar A., Arora S. et al. Current insights and molecular docking studies of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Chem Biol Drug Des* 2024;103(1):e14372. DOI: 10.1111/cbdd.14372
- Lander E.S., Linton L.M., Birren B. et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409(6822):860–921. DOI: 10.1038/35057062
- Cordaux R., Batzer M.A. The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nat Rev Genet* 2009;10(10):691–703. DOI: 10.1038/nrg2640
- Orgel L.E., Crick F.H. Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature* 1980;284(5757):604–7. DOI: 10.1038/284604a0
- Ardeljan D., Taylor M.S., Ting D.T., Burns K.H. The human long interspersed element-1 retrotransposon: an emerging biomarker of neoplasia. *Clin Chem* 2017;63(4):816–22. DOI: 10.1373/clinchem.2016.257444
- Howard G., Eiges R., Gaudet F. et al. Activation and transposition of endogenous retroviral elements in hypomethylation induced tumors in mice. *Oncogene* 2008;27(3):404–8. DOI: 10.1038/sj.onc.1210631
- Payer L.M., Burns K.H. Transposable elements in human genetic disease. *Nat Rev Genet* 2019;20(12):760–72. DOI: 10.1038/s41576-019-0165-8
- Scott E.C., Devine S.E. The role of somatic L1 retrotransposition in human cancers. *Viruses* 2017;9(6):131. DOI: 10.3390/v9060131
- Burns K.H. Transposable elements in cancer. *Nat Rev Cancer* 2017;17(7):415–24. DOI: 10.1038/nrc.2017.35
- Rodriguez-Martin B., Alvarez E.G., Baez-Ortega A. et al. Pan-cancer analysis of whole genomes identifies driver rearrangements promoted by LINE-1 retrotransposition. *Nat Genet* 2020;52(3):306–19. DOI: 10.1038/s41588-019-0562-0

21. Торопов С.Э., Рудакова А.В., Захарова Н.Г. и др. Фармакоэкономический анализ первой линии антиретровирусной терапии. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии 2015;7(1):29–39. DOI: 10.22328/2077-9828-2015-7-1-29-39
Toropov S.E., Rudakova A.V., Zakharova N.G. et al. Pharmacoeconomic analysis of first-line antiretroviral therapy. VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders 2015;7(1):29–39. (In Russ.). DOI: 10.22328/2077-9828-2015-7-1-29-39
22. Costa B., Vale N. Efavirenz: history, development and future. Biomolecules 2022;13(1):88. DOI: 10.3390/biom13010088
23. Hecht M., Harrer T., Körber V. et al. Cytotoxic effect of efavirenz in BxPC-3 pancreatic cancer cells is based on oxidative stress and is synergistic with ionizing radiation. Oncol Lett 2018;15(2):1728–36. DOI: 10.3892/ol.2017.7523
24. Houédé N., Pulido M., Mourey L. et al. A phase II trial evaluating the efficacy and safety of efavirenz in metastatic castration-resistant prostate cancer. Oncologist 2014;19(12):1227–8. DOI: 10.1634/theoncologist.2014-0345
25. Heaton B.J., Jensen R.L., Line J. et al. Exposure of human immune cells, to the antiretrovirals efavirenz and lopinavir, leads to lower glucose uptake and altered bioenergetic cell profiles through interactions with SLC2A1. Biomed Pharmacother 2022;150:112999. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.112999
26. Tang H., Yang J., Xu J. et al. The transcription factor PAX5 activates human LINE1 retrotransposons to induce cellular senescence. EMBO Rep 2024;25(8):3263–75. DOI: 10.1038/s44319-024-00176-9
27. Tan Z., Jia X., Ma F. et al. Increased MMAB level in mitochondria as a novel biomarker of hepatotoxicity induced by efavirenz. PLoS One 2017;12(11):e0188366. DOI: 10.1371/journal.pone.0188366
28. Martinez-Arroyo O., Gruevska A., Victor V.M. et al. Mitophagy in human astrocytes treated with the antiretroviral drug efavirenz: lack of evidence or evidence of the lack. Antiviral Res 2019;168:36–50. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.04.015
29. Ganta K.K., Mandal A., Chaubey B. Depolarization of mitochondrial membrane potential is the initial event in non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz induced cytotoxicity. Cell Biol Toxicol 2017;33(1):69–82. DOI: 10.1007/s10565-016-9362-9
30. Apostolova N., Gomez-Sucerquia L.J., Gortat A. et al. Autophagy as a rescue mechanism in efavirenz-induced mitochondrial dysfunction: a lesson from hepatic cells. Autophagy 2011;7(11):1402–4. DOI: 10.4161/auto.7.11.17653
31. Blas-García A., Apostolova N., Ballesteros D. et al. Inhibition of mitochondrial function by efavirenz increases lipid content in hepatic cells. Hepatology 2010;52(1):115–25. DOI: 10.1002/hep.23647
32. Apostolova N., Funes H.A., Blas-García A. et al. Involvement of nitric oxide in the mitochondrial action of efavirenz: a differential effect on neurons and glial cells. J Infect Dis 2015;211(12):1953–8. DOI: 10.1093/infdis/jiu825
33. Imaizumi N., Kwang Lee K., Zhang C., Boelsterli U.A. Mechanisms of cell death pathway activation following drug-induced inhibition of mitochondrial complex I. Redox Biol 2015;4:279–88. DOI: 10.1016/j.redox.2015.01.005
34. Li M., Sopeyin A., Painsil E. Combination of tenofovir and emtricitabine with efavirenz does not moderate inhibitory effect of efavirenz on mitochondrial function and cholesterol biosynthesis in human T lymphoblastoid cell line. Antimicrob Agents Chemother 2018;62(9):e00691–18. DOI: 10.1128/AAC.00691-18
35. Khan R., Schmidt-Mende J., Karimi M. et al. Hypomethylation and apoptosis in 5-azacytidine-treated myeloid cells. Exp Hematol 2008;36(2):149–57. DOI: 10.1016/j.exphem.2007.10.002
36. Kim D.Y., Cheong H.T., Ra C.S. et al. Effect of 5-azacytidine (5-aza) on UCP2 expression in human liver and colon cancer cells. Int J Med Sci 2021;18(10):2176–86. DOI: 10.7150/ijms.56564
37. Derdak Z., Mark N.M., Beldi G. et al. The mitochondrial uncoupling protein-2 promotes chemoresistance in cancer cells. Cancer Res 2008;68(8):2813–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0053
38. Dalla Pozza E., Fiorini C., Dando I. et al. Role of mitochondrial uncoupling protein 2 in cancer cell resistance to gemcitabine. Biochim Biophys Acta 2012;1823(10):1856–63. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.06.007
39. Boada M., Grille S. Myelodysplastic syndrome in patients living with HIV infection. Hematol Transfus Cell Ther 2023;45(1):119–23. DOI: 10.1016/j.htct.2021.06.006
40. Forghieri F., Nasillo V., Bettelli F. et al. Acute myeloid leukemia in patients living with HIV infection: several questions, fewer answers. Int J Mol Sci 2020;21(3):1081. DOI: 10.3390/ijms21031081

Вклад авторов

Х.М. Магомедова: работа с культурами клеток, анализ цитотоксического действия препаратов, выполнение полимеразной цепной реакции, анализ экспрессии белков с помощью проточной цитометрии, обработка полученных данных, написание текста статьи, подготовка иллюстративного материала;

И.А. Антонова: работа с культурами клеток, проведение теста ДНК-комет, анализ и интерпретация результатов, оформление текста рукописи; М.С. Стрелков, В.А. Нуртдинова: работа с культурами клеток, выполнение полимеразной цепной реакции, анализ и интерпретация результатов; В.Т. Чешевик: обзор литературы по теме статьи, сравнительный анализ эффектов эфавиренза с опубликованными данными, редактирование; К.И. Кирсанов, Г.А. Белицкий: проведение системного анализа, редактирование;

М.Г. Якубовская: разработка концепции исследования, проведение системного анализа, обобщение данных, написание текста статьи, редактирование;

О.А. Власова: разработка концепции и дизайна исследования, обзор литературы по теме статьи, анализ и обобщение полученных данных, написание текста статьи, редактирование, подготовка иллюстративного материала, руководство проведением исследования.

Authors' contributions

Kh.M. Magomedova: working with cell cultures, analyzing the cytotoxic effects of drugs, performing polymerase chain reaction, analyzing protein expression using flow cytometry, processing the data obtained, article writing, preparing illustrative material;

I.A. Antonova: working with cell cultures, conducting a DNA comet test, analyzing and interpreting the results, formatting the text of the manuscript; M.S. Strelkov, V.A. Nurtadinova: working with cell cultures, performing a polymerase chain reaction, analyzing and interpreting the results;

V.T. Cheshchevik: literature review on the topic of the article, comparative analysis of efavirenz effects with published data, editing;

K.I. Kirsanov, G.A. Belitsky: system analysis, editing;

M.G. Yakubovskaya: developing a research concept, conducting a system analysis, summarizing data, article writing, editing;

O.A. Vlasova: development of the research concept and design, review of the literature on the topic of the article, analysis and generalization of the data obtained, article writing, editing, preparation of illustrative material, management of the research.

ORCID авторов / ORCID of authors

Х.М. Магомедова / Kh.M. Magomedova: <https://orcid.org/0009-0004-8514-3859>

И.А. Антонова / I.A. Antonova: <https://orcid.org/0009-0004-3482-8954>

М.С. Стрелков / M.S. Strelkov: <https://orcid.org/0009-0007-4778-0584>

В.Т. Чешевик / V.T. Cheshchevik: <https://orcid.org/0000-0002-1457-8570>

К.И. Кирсанов / K.I. Kirsanov: <https://orcid.org/0000-0002-8599-6833>

Г.А. Белицкий / G.A. Belitsky: <https://orcid.org/0000-0002-3167-7204>

М.Г. Якубовская / M.G. Yakubovskaya: <https://orcid.org/0000-0002-9710-8178>

О.А. Власова / O.A. Vlasova: <https://orcid.org/0000-0002-1498-849X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-00276).

Funding. The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 23-25-00276).