

О.О. Кленов,
Ю.В. Яніш,
І.О. Сумнікова

Інститут експериментальної
патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна

Ключові слова: поліаміни,
спермін, госсипол, дисульфідрам,
клітинні лінії раку передміху-
рової залози людини.

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.01.044>

ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ АЛЬДЕГІД- ДЕГІДРОГЕНАЗ ТА ЇХ КОМБІНАЦІЙ ЗІ СПЕРМІНОМ НА ПРОФІЛЬ ПОЛІАМІНІВ В КЛІТИНАХ ЛІНІЙ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ

Мета: дослідити дію інгібіторів альдегіддегідрогеназ, сперміну (Спн) та їх комплексний вплив на профіль поліамінів в клітинних лініях раку передміхурової залози (РПЗ) людини і співставити зміни профілю поліамінів з виживаністю пухлинних клітин. **Об'єкт і методи:** дослідження проведені на культурах клітин андрогенчутливої (LNCaP) та андроген-резистентної (DU-145) ліній РПЗ людини. Профіль поліамінів в пухлинних клітинах визначали за допомогою методу вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). **Результати:** додавання в культуральне середовище Спн викликало суттєве накопичення цього поліаміну в клітинах. Застосування інгібіторів альдегіддегідрогенази (госсиполу та дисульфідраму) супроводжувалося зниженням рівня сперміну (Спд). Інкубація клітин зі Спн призводила до падіння показника проліферації — молярного співвідношення Спд/Спн. Особливо низькі значення співвідношення Спд/Спн спостерігалися при використанні Спн разом з інгібіторами альдегіддегідрогеназ. За таких умов були найнижчими і показники виживаності клітин. Це свідчило про більш ефективне гальмування росту клітин при поєднаному застосуванні цих чинників порівняно із використанням їх окремо, навіть у значно вищих концентраціях. **Висновки:** застосування інгібіторів альдегіддегідрогеназ окремо та разом зі Спн викликає характерні для гальмування росту зміни профілю поліамінів в пухлинних клітинах і зниження молярного співвідношення Спд/Спн. Такі зміни більш виражені при застосуванні цих чинників разом та супроводжуються зниженням виживаності клітин андрогенчутливої (LNCaP) і андрогенрезистентної (DU-145) ліній РПЗ людини. Застосування госсиполу та дисульфідраму разом зі Спн більш ефективно знижувало виживаність андрогенчутливих клітин лінії LNCaP порівняно з андрогенрезистентними клітинами лінії DU-145. Отримані результати свідчать про перспективність подальшого вивчення Спн та його комбінацій з інгібіторами альдегіддегідрогеназ як потенційних засобів лікування РПЗ.

Рак є чи не основною причиною смерті в більшості країн світу. За прогнозами ВООЗ у 2040 р. очікується понад 28 млн нових випадків раку [1]. Рак передміхурової залози (РПЗ) вражає одного з восьми чоловіків протягом життя. Американське онкологічне товариство вказує на 5-річну виживаність 100% для локалізованого або регіонального РПЗ. Ця виживаність падає до 30% для пацієнтів із віддаленими метастазами [2]. Така ситуація викликає певні соціальні проблеми в різних країнах світу. Дослідники багатьох країн вивчають механізми виникнення та перебігу онкологічних захворювань. Вченими проводиться інтенсивна робота по вивченню нових препаратів та їх комбінацій для лікування раку, відпрацювання нових методів

лікування онкологічних хворих. Відпрацьовуються нові більш ефективні протоколи їх застосування.

Одним із препаратів, який інтенсивно вивчається і показав свою ефективність є госсипол. Госсипол (Гос) — це жиророзчинний поліфенол, виділений із рослини бавовнику (рід *Gossypium*). Він також відомий як оральний чоловічий контрацептив. Численні дослідження показали його протипухлинну, антиоксидантну, протівірусну, антимікробну та імуномодулюючу дію [3]. Зовсім недавно Гос досліджувався *in vitro* щодо його протипухлинної активності при різних видах раку, включаючи рак молочної залози (MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-468, ZR-75-1 і T47D), товстої

кишки (COLO 225), підшлункової залози (ВхРС-3 і MIA PaCa-2), рак шийки матки людини (HeLa і SiHa), рак легені людини (H1299, H358) і рак передміхурової залози [4, 5]. Було показано, що Гос індукує апоптоз в пухлинних клітинах через генерацію активних форм кисню (АФК) [6]. Індукований Гос апоптоз характеризується конденсацією хроматину, фрагментацією ДНК і взаємодією з білками сімейства Bcl-2 [7], та може реалізуватися шляхом активації каспази-3 і каспази-9 [8]. Залежна від Bcl-2 аутофагія, ініційована Гос, була описана для кількох ліній злоякісних клітин [9]. Іншим важливим шляхом індукції апоптозу є ендогенний апоптоз, викликаний змінами проникності зовнішньої мембрани мітохондрій [10]. Індукований Гос апоптоз може реалізуватися також незалежно від АФК. Крім того, Гос може впливати на клітинний цикл і клітинні сигнальні шляхи [11]. Інший можливий механізм протипухлинної дії Гос, вірогідно, відбувається через вплив на метаболізм андрогенів. Це характерно, зокрема, для раку простати. Показано, що госсиполу ацетат значно пригнічує 5 α -редуктазу I і 3 α -гідроксистероїддегідрогеназу щурів [12]. У той час як Гос має різноманітний вплив на ракові клітини, включаючи РПЗ, його використання обмежене через вузький терапевтичний діапазон доз та ризик постійної необоротної стерильності.

Іще один препарат, який, не дивлячись на його багаторічне використання в медичній практиці, залишається перспективним для застосування в онкології — це дисульфірам. Застосування дисульфіраму (Дис) досліджували в різних областях (паразитологія) та при інфекційних захворюваннях. Дисульфірам або дисульфід тетраетилтіураму є електрофільною четвертинною амонієвою сполукою, яка потужно пригнічує ряд метаболічних ферментів включаючи альдегіддегідрогеназу, метилтрансферазу, уреазу та кіназу [13]. Було виявлено декілька важливих механізмів інгібування, хоча поточні дослідження продовжують описувати нові можливості.

У 1940-х роках було описано здатність Дис хелатувати іони металів. Пізніші дослідження визначили діетилдитіокарбамат (ДДТК) як метаболіт дисульфіраму, відповідальний за хелатну здатність препарату. ДДТК є відновленою формою дисульфіраму і потужним хелатором іонів перехідних двовалентних металів, включаючи мідь і цинк. Варто зазначити, що присутність двовалентних катіонів впливає на ефективність Дис, оскільки добавки Zn, Cu та Ag можуть збільшити його протипухлинну активність.

Через хелатування основних кофакторів ДДТК може порушувати функцію металовмісних ферментів, включаючи супероксиддисмутази та дофамін- β -гідроксилазу [5]. Реакція хелатування між ДДТК та іонами міді вивільняє активні форми

кисню у внутрішньоклітинне середовище [14]. АФК є побічним продуктом окисно-відновних реакцій. Виснаження іонів міді та інших металів, таких як цинк, може пригнічувати важливі антиоксидантні ферменти, ще більше порушуючи баланс клітинних про- та антиоксидантів [15]. Дис, як специфічний інгібітор альдегіддегідрогенази, запобігає інактивації АФК і детоксикації за допомогою ізоферментів альдегіддегідрогенази [16]. Підвищення рівня АФК та інгібування його інактивації посилює окислювальний стрес клітини, що додатково спричиняє пошкодження ДНК, ліпідів і білків та викликає загибель клітин. Було показано, що генерація АФК дисульфірамом активує проапоптотичний шлях (АФК-протеїнкіназ) ROS-JNK [17] і запускає залежний від аутофагії апоптоз ракових клітин [18]. Цікаво, що в ряді робіт показано антиоксидантні властивості Дис, які захищають від утворення або розповсюдження АФК і, зрештою, можуть бути корисними для зменшення запалення при певних патологіях [19]. Необхідні додаткові дослідження для уточнення про- та антиоксидантних властивостей Дис та його метаболітів.

Дис демонструє протипухлинну дію при раку кишечника [20], молочної залози [21], недрібноклітинному раку легені (NSCLC) [22], нирок [23], передміхурової залози [24] та інших локалізацій [17]. Як показують дослідження *in vivo*, застосування Дис разом із променевою та хіміотерапією також було ефективним. Цікаво відзначити, що антипроліферативні ефекти Дис були селективними для клітин РПЗ, оскільки нормальні епітеліальні клітини передміхурової залози (PrEC) показали лише обмежену токсичність при впливі концентрацій Дис, які індукували пригнічення росту ракових клітин [24]. Хоча було виявлено механізми, які можуть бути специфічними для раку певної етіології, епідеміологічні дані свідчать про те, що Дис може бути перспективним засобом лікування всіх типів раку.

Поліаміни (ПА) — це невеликі аліфатичні полікатіони, які зв'язують негативно заряджені молекули у фізіологічних умовах, включаючи ДНК, РНК, АТФ, певні типи білків і фосфоліпіди [25]. Вони відіграють важливу роль у клітинному рості, проліферації, диференціації, імунних реакціях, міграції клітин, регуляції генів, стабільності ДНК та синтезі білків і нуклеїнових кислот [26, 27]. ПА залучені до механізмів клітинної адгезії. Вони беруть участь у специфічних процесах передачі сигналів, задіяні в інвазії та метастазуванні ракових клітин та знижують протипухлинну функцію імунних клітин [28, 29]. Рівні ПА підтримуються у вузькому діапазоні і порушення їх регуляції призводить до важких фізіологічних ефектів. Виражене зниження рівня ПА може запобігти проліферації та міграції клітин [26]. З іншого боку,

підвищена внутрішньоклітинна концентрація ПА пов'язана із трансформацією клітин [30]. У нормальних фізіологічних умовах ПА регулюються складною системою біосинтезу, катаболізму та транспорту.

Зважаючи на фундаментальне значення ролі ПА в різних фізіологічних процесах, що відбуваються в клітині, залишається актуальним вивчення механізмів регуляції ПА при онкопатології та відпрацювання нових методів впливу на механізми їх регуляції. Не дивлячись на значну кількість досліджень щодо комбінованого застосування як Гос, так і Дис разом із хіміо- та радіотерапією, ми не знайшли в доступній літературі інформації щодо застосування їх разом з ПА, а це, очевидно, є перспективним.

Мета роботи: дослідити дію інгібіторів альдегіддегідрогеназ (Гос та Дис), сперміну (Спн) та їх комплексний вплив на профіль поліамінів в клітинних лініях РПЗ людини і співставити зміни профілю поліамінів з виживаністю пухлинних клітин.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В роботі використані культури клітинних ліній РПЗ людини: андрогенчутлива диференційована LNCaP та андрогенрезистентна низькодиференційована DU-145, отримані з Банку клітинних ліній з тканин людини та тварин ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Клітини культивували у живильному середовищі DMEM з високим вмістом глюкози та L-глутаміном (Biowest, США), з додаванням 10% телячої сироватки і 1% суміші антибіотиків пеніцилін/стрептоміцин (Biowest, Франція) у культуральних флаконах (SPL, Корея) з корисною площею 25 або 75 см² (5 або 20 мл живильного середовища, відповідно) та інкубували у CO₂-інкубаторі (37°C, 5% CO₂). Як інгібітори альдегіддегідрогеназ використовували Гос (Cayman Chemical Company, США) та Дис (Thermo Scientific, Німеччина). Досліджували речовини, окремо або в комбінації зі Спн (Sigma-Aldrich, США), в різних

концентраціях вносили до середовища у логарифмічній фазі росту клітин і через 24 год. інкубування визначали виживаність клітин, проліферативну активність та профіль ПА.

Вживаність визначали, забарвлюючи клітини 0,08% трипановим синім (Merck, Німеччина). Для визначення вмісту ПА у пухлинних клітинах використовували метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [31] з деякими нашими модифікаціями [32]. Дослідження проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 (США). Для аналізу зразків використовували колонку Supelco Zorbax ODS 4,6 mm I.D. × 250 mm. Рівні ПА в пухлинних клітинах обраховували в пМоль/мг білка.

Статистичну обробку отриманих результатів проведено з використанням *t*-критерію Стьюдента. Середні значення та стандартні відхилення досліджуваних величин обчислювали з використанням пакету програм STATISTICA 6 (Statsoft) [33].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

В своїй роботі ми провели дослідження впливу інгібіторів альдегіддегідрогеназ та їх комбінації зі Спн на профіль ПА в клітинах андрогенчутливо-чутливої (LNCaP) та андрогенрезистентної (DU-145) ліній РПЗ людини. Як свідчать отримані дані (табл. 1), при застосуванні Дис в комбінації зі Спн в клітинах LNCaP спостерігалось зниження рівня путресцину більш ніж на порядок, що можливо пояснити пригніченням активності орнітиндекарбоксилази (ОДК). Як наслідок, відбувалося зниження рівня спермідину (Спд) майже вдвічі порівняно з контрольними показниками. Також зафіксовано підвищення рівня Спн втричі порівняно з контролем, імовірно за рахунок екзогенного Спн, внаслідок чого суттєво знизився індекс Спд/Спн. Рівні N¹-ацетилспермідину та N¹-ацетилсперміну були дещо вищими, ніж у контролі, але нижчими, ніж при застосуванні Дис окремо.

Проведено визначення поліамінного профілю в андрогенрезистентних клітинах РПЗ лінії DU-145

Таблиця 1

Зміни вмісту ПА (пМ/мг білка) в андрогенчутливих клітинах РПЗ лінії LNCaP під впливом дисульфіраму (Дис) та його комбінації із сперміном (Спн)

Речовина	Контроль	Дис (25,0 нМ)	Дис (22,0 нМ) + Спн (0,4 мМ)
N ¹ -ацетилспермідин	6274,6 ± 1230,3	7467,8 ± 1436,1	6554,83 ± 1263,0
Путресцин	979,3 ± 208,4	932,92 ± 227,6	62,2 ± 14,5*
N ¹ -ацетилспермін	119,7 ± 24,4	1566,3 ± 307,1*	728,8 ± 140,2*
Спермідин	2294,6 ± 441,3	2320,4 ± 456,4	1273,5 ± 265,4*
Спермін	1015,7 ± 207,3	958,4 ± 187,9	3313,9 ± 649,8*
Спд/Спн	2,26	2,42	0,38
Вживаність клітин, %	97,1 ± 1,4	54,9 ± 2,0*	48,5 ± 1,9*

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем.

Таблиця 2

**Зміни вмісту ПА (пМ/мг білка) в андрогенрезистентних клітинах РПЗ лінії DU-145
під впливом дисульфіраму (Дис) та його комбінації зі сперміном (Спн)**

Речовина	Контроль	Дис (25,0 нМ)	Дис (20,0 нМ) + Спн (0,4 мМ)
N ¹ -ацетилспермідин	4379,6 ± 893,8	4233,9 ± 846,8	3572,8 ± 744,3
Путресцин	190,2 ± 39,6	121,9 ± 23,9	54,5 ± 11,1*
N ¹ -ацетилспермін	300,4 ± 66,8	311,9 ± 61,2	289,2 ± 56,7
Спермідин	976,0 ± 199,2	711,0 ± 142,2	703,6 ± 143,4
Спермін	217,9 ± 44,0	150,7 ± 30,4	1025,70 ± 201,1*
Спд/Спн	4,48	4,72	0,69
Вживаність клітин, %	94,2 ± 2,2	55,4 ± 1,4*	53,0 ± 1,9*

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем.

при культивуванні їх зі Спн, Дис та їх комбінацією. Результати наведені в *табл. 2*. Продемонстроване незначне зниження рівнів всіх досліджуваних ПА під впливом Дис окремо, індекс Спд/Спн збільшувався по відношенню до контрольних показників.

При культивуванні клітин із сумішшю Дис (20,0 нМ) + Спн (0,4 мМ) відмічено тенденцію до зменшення в них вмісту більшості ПА ($p > 0,05$) нижче контрольних значень, найбільш виражену для путресцину ($p \leq 0,05$), що відбувається швидше за все за рахунок гальмування активності ОДК. Також зафіксоване значне підвищення рівня Спн за рахунок екзогенної сполуки, внаслідок чого індекс Спд/Спн знижувався майже на порядок.

У *табл. 3* представлені результати визначення профілю ПА в андрогенчутливих клітинах РПЗ лінії LNCaP при культивуванні їх зі Спн, Гос та їх комбінацією. Під впливом Гос (31,0 мкМ) вміст N¹-ацетилспермідину в дослідних зразках набув суттєво менших значень порівняно з контрольними показниками. Рівні путресцину та N¹-ацетилсперміну при застосуванні Гос знижувалися до нуля, а рівень Спд — майже вдвічі. Водночас рівень сперміну вдвічі підвищувався, внаслідок чого

індекс Спд/Спн зменшувався від 2,80 в контрольній групі до 0,79 у зразках з Гос.

При культивуванні клітин LNCaP із Спн та Гос одночасно спостерігалось незначне підвищення рівня N¹-ацетилспермідину та Спд порівняно з варіантом застосування Гос окремо, але ці показники загалом залишалися нижчими, ніж у контролі.

Крім того, в цій групі зріс рівень Спн до 6001,01 пМ/мг білка, тоді як в контролі він залишався на рівні 270,78 пМ/мг білка, очевидно за рахунок екзогенного сперміну. Як наслідок, при застосуванні Спн разом із Гос індекс Спд/Спн знижувався до 0,06. Застосування як Гос окремо, так і разом із Спн викликало гальмування росту клітин LNCaP.

У *табл. 4* представлені результати дослідження профілю ПА в андрогенрезистентних клітинах РПЗ лінії DU-145 при культивуванні їх зі Спн, Гос та їх комбінацією. Культивування клітин лінії DU-145 із Гос викликало зниження рівня путресцину майже вдвічі і дещо підвищувало рівень інших ПА. При цьому індекс проліферації Спд/Спн не змінювався.

Комбінована дія Гос та Спн призводила до зниження рівня путресцину від 439,81 пМ/мг біл-

Таблиця 3

**Зміни рівня поліамінів (пМ/мг білка) в андрогенчутливих клітинах РПЗ лінії LNCaP
під впливом госсиполу (Гос) та його комбінації зі сперміном (Спн)**

Речовина	Контроль	Гос 31,0 мкМ	Гос 15,4 мкМ + Спн 1,0 мМ
N ¹ -ацетилспермідин	7386,0 ± 1507,2	4641,6 ± 937,7	4725,4 ± 926,6
Путресцин	384,7 ± 78,5	0,00	0,00
N ¹ -ацетилспермін	371,2 ± 77,3	0,00	0,00
Спермідин	758,1 ± 152,2	437,38 ± 88,4*	342,59 ± 67,2*
Спермін	270,8 ± 54,7	556,1 ± 109,0*	6001,0 ± 1176,7**
Спд/Спн	2,80	0,79	0,06
Вживаність клітин, %	98,0 ± 1,4	53,0 ± 1,2	48,1 ± 1,6*

Примітка: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$ порівняно з контролем.

Зміни рівня поліамінів (пМ/мг білка) в андрогенрезистентних клітинах РПЗ лінії DU-145 під впливом госсиполу (Гос) та його комбінації зі сперміном (Спн)

Речовина	Контроль	Гос 34,0 мкМ	Гос 22 мкМ + Спн 1,2 мМ
Путресцин	439,8 ± 88,3	220,3 ± 44,1*	34,5 ± 6,9**
N ¹ -ацетилспермін	528,5 ± 103,6	785,8 ± 160,4	172,22 ± 34,8*
Спермідин	1074,3 ± 210,6	1090,4 ± 218,0	403,5 ± 81,5*
Спермін	470,0 ± 95,0	477,1 ± 95,8	6524,3 ± 1279,2**
Спд/Спн	2,29	2,29	0,06
Вживаність клітин, %	96,0 ± 1,2	53,0 ± 1,6*	51,0 ± 2,1*

Примітка: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$ порівняно з контролем.

ка в контрольних до 34,48 пМ/мг білка в дослідних зразках, що може бути пов'язане із зміною активності ОДК. Культивування в присутності суміші Гос та Спн викликало зниження рівня N¹-ацетилсперміну втричі порівняно з контролем та зниження рівня Спд від 1074,27 в контролі до 403,51 пМ/мг білка в дослідних зразках. Швидше за все це наслідок зменшення пулу путресцину в клітинах (див. *табл. 4*).

При комбінованій дії Гос та Спн спостерігалось дуже значне (більш ніж на порядок) підвищення рівня Спн в клітинах. Наслідком цього було зниження індексу Спд/Спн до 0,06. Треба зауважити, що культивування як клітин лінії DU-145, так і лінії LNCaP з комбінацією Дис і Спн не давало такого значного підвищення рівня внутріклітинного Спн; такий ефект викликав саме Гос. Оскільки очевидно, що підвищення рівня Спн в клітинах пов'язано саме з наявністю екзогенного Спн, можна припустити, що Гос суттєво впливає на системи транспорту ПА в клітині.

Таким чином нами показано що додавання в культуральне середовище Спн суттєво змінює в клітинах профіль як основних фракцій ПА, так і їх ацетильованих форм: викликає накопичення Спн в клітинах, призводить до падіння рівня путресцину і Спд. Зниження вмісту путресцину, очевидно, є наслідком інгібування ОДК екзогенним Спн, який здатний активувати антизиму ОДК та пригнічувати активність інгібітора антизиму, залученого у її регуляцію. Зниження рівня Спд в клітинах, ймовірно, обумовлене виснаженням пулу путресцину, необхідного для його синтезу, внаслідок інгібування ОДК. Вплив сперміну призводить до падіння показника проліферації — молярного співвідношення Спд/Спн. При дії Спн разом з інгібіторами альдегіддегідрогеназ спостерігались найнижчі значення індексу проліферації Спд/Спн та найменші показники виживаності клітин, що свідчило про більш ефективне гальмування їх росту при поєднаному застосуванні цих чинників порівняно із застосуванням їх окремо. При цьому застосування Спн разом з інгібіторами альдегіддегідрогеназ більш ефективно знижувало

виживаність андрогенчутливих клітин лінії LNCaP РПЗ людини порівняно із андрогенрезистентними клітинами лінії DU-145.

ВИСНОВКИ

1. Застосування інгібіторів альдегіддегідрогеназ окремо та разом із Спн викликає характерні для гальмування росту зміни профілю поліамінів в пухлинних клітинах і зниження молярного співвідношення Спд/Спн. Такі зміни більш виражені при застосуванні цих чинників разом та супроводжуються зниженням виживаності андрогенчутливих клітин РПЗ людини лінії LNCaP і андрогенрезистентних — лінії DU-145.

2. Застосування інгібіторів альдегіддегідрогеназ разом зі Спн більш ефективно знижувало виживаність андрогенчутливих клітин лінії LNCaP РПЗ людини порівняно з андрогенрезистентними клітинами лінії DU-145.

3. Отримані результати свідчать про перспективність подальшого вивчення Спн та його комбінацій з інгібіторами альдегіддегідрогеназ як потенційних засобів лікування РПЗ.

Дослідження виконані в межах НДР за темою № 2.2.5.444 “Комбінована дія сперміну і модуляторів його катаболізму як перспективна модель лікування раку передміхурової залози”, 2022–2026 рр.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, *et al.* Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021; **71** (3): 209–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
2. American Cancer Society: <https://www.cancer.org/cancer/types/prostate-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html>.
3. Kim JY, Cho Y, Oh E, *et al.* Disulfiram targets cancer stem-like properties and the HER2/Akt signaling pathway in HER2-positive breast cancer. *Cancer Lett* 2016; **379** (1): 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.05.026>.
4. Randel RD, Chase CC, Wyse SJ. Effects of Gossy 01 and cottonseed products on reproduction of mammals. *J Anim Sci* 1992; **70** (5): 1628–38. <https://doi.org/10.2527/1992.7051628x>.

5. **Schroeder JP, Cooper DA, Schank JR, et al.** Disulfiram attenuates drug-primed reinstatement of cocaine seeking via inhibition of dopamine β -hydroxylase. *Neuropsychopharmacology* 2010; **35** (12): 2440–9. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.127>.
6. **Xu R, Tian E, Tang H, et al.** Proteomic analysis of gossypol induces necrosis in multiple myeloma cells. *Biomed Res Int.* 2014; **2014**: 839232. <https://doi.org/10.1155/2014/839232>.
7. **Hsiao W-T, Tsai M-D, Jow G-M, et al.** Involvement of Smac, p53, and caspase pathways in induction of apoptosis by gossypol in human retinoblastoma cells. *Mol Vis* 2012; **18**: 2033–42.
8. **Mohammad RM, Wang S, Aboukameel A, et al.** Preclinical studies of a nonpeptidic small-molecule inhibitor of Bcl-2 and Bcl-X(L) (-)-gossypol against diffuse large cell lymphoma. *Mol Cancer* 2005; **4** (1): 13–21. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.13.4.1>.
9. **Wang B, Chen L, Ni Z, et al.** Hsp90 inhibitor 17-AAG sensitizes Bcl-2 inhibitor (-)-gossypol by suppressing ERK-mediated protective autophagy and Mcl-1 accumulation in hepatocellular carcinoma cells. *Exp Cell Res* 2014; **328** (2): 379–87. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.08.039>.
10. **Zerp SF, Stoter TR, Hoebbers FJP, et al.** Targeting anti-apoptotic Bcl-2 by AT-101 to increase radiation efficacy: Data from in vitro and clinical pharmacokinetic studies in head and neck cancer. *Radiat Oncol* 2015; **10**: 158. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13014-015-0474-9>.
11. **Zhang M, Liu H, Guo R, et al.** Molecular mechanism of gossypol-induced cell growth inhibition and cell death of HT-29 human colon carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2003; **66** (1): 93–103. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952-\(03\)00248-x](https://doi.org/10.1016/s0006-2952-(03)00248-x).
12. **Cao S, Wang G, Ge F, et al.** Gossypol inhibits 5 α -reductase 1 and 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase: its possible use for the treatment of prostate cancer. *Fitoterapia* 2019; **133**: 102–8. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.12.024>.
13. **Frazier KR, Moore JA, Long TE.** Antibacterial activity of disulfiram and its metabolites. *J Appl Microbiol* 2019; **126** (1): 79–86. <https://doi.org/10.1111/jam.14094>.
14. **Ekinci E, Rohondia S, Khan R, Dou QP.** Repurposing disulfiram as an anti-cancer agent: Updated review on literature and patents. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2019; **14** (2): 113–32. <https://doi.org/10.2174/1574892814666190514104035>.
15. **Sun Y, Lu Y, Saredy J, et al.** ROS systems are a new integrated network for sensing homeostasis and alarming stresses in organelle metabolic processes. *Redox Biol* 2020; **37**: 101696. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101696>.
16. **Guo F, Yang Z, Shouli J, Kaufmann AM.** Blockade of ALDH in cisplatin-resistant ovarian cancer stem cells in vitro synergistically enhances chemotherapy-induced cell death. *Curr Oncol* 2022; **29** (4): 2808–22. <https://doi.org/10.3390/curroncol29040229>.
17. **Lu C, Li X, Ren Y, Zhang X.** Disulfiram: A novel repurposed drug for cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2021; **87** (2): 159–72. <https://doi.org/10.1007/s00280-020-04216-8>.
18. **O'Brien SP, Xi Y, Miller JR, et al.** Disulfiram (Antabuse) activates ROS-dependent ER stress and apoptosis in oral cavity squamous cell carcinoma. *J Clin Med* 2019; **8** (5): 611. <https://doi.org/10.3390/jcm8050611>.
19. **DengW, Yang Z, Yue H, et al.** Disulfiram suppresses NLRP3 inflammasome activation to treat peritoneal and gouty inflammation. *Free Radic Biol Med* 2020; **152**: 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.03.007>.
20. **Hu H, Cui L, Lu J, et al.** Intestinal microbiota regulates anti-tumor effect of disulfiram combined with Cu in a mice model. *Cancer Med* 2020; **9** (18): 6791–801. <https://doi.org/10.1002/cam4.3346>.
21. **Wang R, Shen J, Yan H, et al.** The evolving role of disulfiram in radiobiology and the treatment of breast cancer. *Oncotargets Ther* 2020; **13**: 10441–6. <https://doi.org/10.2147/OTT.S271532>.
22. **Wu X, Xue X, Wang L, et al.** Suppressing autophagy enhances disulfiram/copper-induced apoptosis in non-small cell lung cancer. *Eur J Pharmacol.* 2018; **15**: 827–31 <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.02.039>.
23. **Yoshino H, Yamada Y, Enokida H, et al.** Targeting NPL4 via drug repositioning using disulfiram for the treatment of clear cell renal cell carcinoma. *PLoS ONE* 2020; **15** (7): e0236119. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236119>.
24. **Iljin K, Ketola K, Vainio P, et al.** High-throughput cell-based screening of 4910 known drugs and drug-like small molecules identifies disulfiram as an inhibitor of prostate cancer cell growth. *Clin Cancer Res* 2009; **15** (19): 6070–8. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-1035>.
25. **Campos-Fernández E, Barcelos LS, De Souza AG, et al.** Research landscape of liquid biopsies in prostate cancer. *Am. J. Cancer Res.* 2019; **9**: 1309–28.
26. **Cooperberg MR, Simko JP, Cowan JE, et al.** Validation of a cell-cycle progression gene panel to improve risk stratification in a contemporary prostatectomy cohort. *J Clin Oncol* 2013; **31**: 1428–34. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.46.4396>.
27. **Hoffman RM.** Clinical practice. Screening for prostate cancer. *N Engl J Med* 2011; **365** (21): 2013–9. <https://doi.org/10.1056/NEJMcpl103642>.
28. **Alexander ET, Minton A, Peters MC, et al.** A novel polyamine blockade therapy activates an anti-tumor immune response. *Oncotarget* 2017; **8** (48): 84140–52. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20493>.
29. **Soda K.** The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; **30** (1): 95. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-30-95>.
30. **Murray-Stewart TR, Woster PM, Casero RA Jr.** Targeting polyamine metabolism for cancer therapy and prevention. *Biochem J* 2016; **473** (19): 2937–53. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160383>.
31. **Gerbaut L.** Determination of erythrocytic polyamines by reversed-phase liquid chromatography. *Clin Chem* 1991; **37**: 2117–20.
32. **Zaletok SP, Klenov OO, Bentrads VV, et al.** Polyamines as new potential biomarkers for differential diagnosis of prostate cancer and estimation of its aggressiveness. *Exp Oncol* 2022; **44** (2): 148–54. <https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-2.17758>.
33. **Lakin GF.** *Biometrics.* M: Higher School, 1990. 352 p.

THE EFFECT OF ALDEHYDE DEHYDROGENASE INHIBITORS AND THEIR COMBINATION WITH SPERMINE ON THE PROFILE OF POLYAMINES IN HUMAN PROSTATE CANCER CELL LINES

O.O. Klenov, Yu.V. Yanish, I.O. Sumnikova

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. *Aim:* to investigate the effect of aldehyde dehydrogenase inhibitors, spermine (Spn) and their complex effect on the polyamine profile in human prostate cancer (PCa) cell lines and to compare changes in the polyamine profile with tumor cell survival. **Object and methods:** the study was conducted on cell cultures of androgen-sensitive (LNCaP) and androgen-resistant (DU-145) cell lines. The profile of polyamines in tumor cells was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC).

Results: the addition of Spn to the culture medium caused a significant accumulation of this polyamine in the cells. The use of aldehyde dehydrogenase inhibitors (gossypol and disulfiram) was accompanied by a decrease in the level of spermidine (Spd). Incubation of cells with Spn led to a decrease in the proliferation rate — the molar ratio Spd/Spn. Especially low values of the Spd/Spn ratio were observed when Spn was used in combination with aldehyde dehydrogenase inhibitors. When Spn was used in combination with aldehyde dehydrogenase inhibitors,

cell survival rates were also the lowest. This indicated a more effective inhibition of cell growth with the combined use of these factors compared to their use separately, even in much higher concentrations. **Conclusions:** the use of aldehyde dehydrogenase inhibitors alone and in combination with Spn causes changes in the profile of polyamines in tumor cells characteristic of growth inhibition and a decrease in the molar ratio of Spd/Spn. These changes are more pronounced when these factors are used together and are accompanied by a decrease in the survival of androgen-sensitive (LNCaP) and androgen-resistant (DU-145) human prostate cancer cell lines. At the same time, the use of aldehyde dehydrogenase inhibitors together with Spn more effectively reduced the survival of androgen-sensitive LNCaP cells of human prostate compared to androgen-resistant DU-145 cells. The results obtained indicate the prospects for further study of SPN and its combinations with aldehyde dehydrogenase inhibitors as potential treatment agents for PCa.

Keywords: polyamines, spermine, gossypol, disulfiram, human prostate cancer cell lines.

Адреса для листування:

Кленов О.О.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

E-mail: klenov@ukr.net

Одержано: 27.03.2025