

УДК 57.085.23:616-006.5

## ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА АКТИВНОСТИ HSF1 ИЗ СЕМЕЙСТВА КАРДЕНОЛИДОВ (CL-43) НА ОПУХОЛЕВЫЕ И НЕТРАНСФОРМИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ

© 2024 г. С. А. Владимирова<sup>1</sup>, Б. А. Маргулис<sup>1</sup>, И. В. Гужова<sup>1</sup>, А. Д. Никотина<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия

\* E-mail: nikotina.ad@gmail.com

Поступила в редакцию 17.11.2023 г.

После доработки 30.11.2023 г.

Принята к публикации 04.12.2023 г.

Возникновение непереносимых побочных эффектов у пациентов, проходящих химиотерапию, по-прежнему остается серьезным клиническим препятствием. В связи с этим поиск опухолеспецифичной терапии, не оказывающей токсичного воздействия на здоровые ткани, остается актуальной задачей. Известно, что фактор белков теплового шока HSF1 является важным маркером онкологической прогрессии, а продукты его транскрипционной активности позволяют опухолевым клеткам успешно избегать негативных эффектов противоопухолевой терапии. В связи с этим использование препаратов, ингибирующих активность HSF1, является перспективной стратегией. В настоящей работе мы обнаружили, что применение ингибитора активности HSF1 из группы карденолидов CL-43 оказывает цитопротекторное действие на первичные нетрансформированные клетки дермальных фибробластах (DF-2) и делает их менее чувствительными к этопозиду, в то время как в опухолевых клетках линии DLD1, наоборот, мы наблюдали увеличение этой чувствительности. Помимо этого, мы установили, что CL-43 влияет на внутриядерный транспорт активной формы HSF1, а также увеличивает его активность и, соответственно, синтез HSP70 в фибробластах человека, тогда как в опухолевых клетках CL-43 подавляет эту активность дозозависимым образом. Наши результаты свидетельствуют о высоком терапевтическом потенциале CL-43 и его уникальности как опухолеспецифического соединения.

**Ключевые слова:** HSF1, комбинированная терапия, CL-43, клетка DF-2

**Принятые сокращения:** HSF1 и pHSF1 – фактор белков теплового шока и его фосфорилированная форма по Ser326 соответственно; ДМСО – диметилсульфоксид.

**DOI:** 10.31857/S0041377124020049, **EDN:** RKNDEK

Химиотерапия является одним из наиболее простых и эффективных способов борьбы с онкологическими заболеваниями. В большинстве случаев она способствует продлению жизни, но не гарантирует полного излечения. Химиотерапия использует препараты, уменьшающие вероятность возвращения опухоли и облегчающие симптомы заболевания (боль и прочие тяжелые последствия) (Ajtegea, Ajtegea 2023). Химиотерапия останавливает или замедляет рост быстрорастущих трансформированных клеток, но может оказывать токсическое воздействие и на нормальные клетки. Повреждение и гибель нормальных клеток, окружающих злокачественные клетки, является ключевым побочным эффектом, связанным с текущими стратегиями лечения (Gao et al., 2019). В связи с этим существует необходимость в поиске новых противоопухолевых соединений и стратегий лечения.

Сердечные гликозиды являются ингибиторами Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазы и в течение продолжительного

времени используются в медицине для лечения некоторых сердечно-сосудистых заболеваний (Cerella et al., 2013). Однако они являются кандидатами на репрофилирование, поскольку около 50 лет назад был обнаружен их противоопухолевый потенциал, который активно исследуют до сих пор. Несмотря на это, одним из серьезных ограничений работы с сердечными гликозидами как с противоопухолевыми препаратами является их высокая токсичность по отношению к здоровым тканям (Botelho et al., 2019).

В 2018 г. обнаружили сердечный гликозид из семейства карденолидов, который был назван CL-43 (Nikotina et al., 2018). Мишенью этого соединения является фактор теплового шока 1 (HSF1), уровень которого повышен у раковых клеток (Richard, Carpenter, 2019). Активный HSF1 совместно со своими мишенями поддерживает биосинтетические потребности раковой клетки, а также регулирует ответ на стресс, что в итоге

приводит к поддержанию пролиферации, а затем инвазии и метастазированию (Carpenter et al., 2015). Во время исследования противоопухолевых способностей CL-43 было обнаружено, что эта молекула нетоксична в отношении опухолевых клеток, однако за счет подавления активности HSF1 и синтеза некоторых из ее мишеней (молекулярных шаперонов) молекулы CL-43 способствуют увеличению чувствительности опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам (позволяя применять более низкие дозы), что в перспективе снизит негативное воздействие химиотерапии на организм (Nikotina et al., 2018). Однако для более качественной оценки потенциала этого соединения необходимо выяснить его влияние в отношении здоровой ткани.

В нашей работе мы сравнили влияние CL-43 на статус HSF1 в нетрансформированных клетках DF-2 и колоректальной карциномы DLD1, а также эффективность комбинированного воздействия CL-43 и этопозиды на клетки этих линий.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

**Клетки.** Клетки колоректальной карциномы человека DLD1 были любезно предоставлены д-ром Н. А. Барлевым (ИНЦ РАН), линия нормальных фибробластов человека DF-2 была получена из ЦКП “Коллекция культур клеток позвоночных” Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Клетки линии DLD1 культивировали в среде DMEM (“БиолоТ”, Россия), DF-2 культивировали в среде DMEM F-12 (“БиолоТ”, Россия) при 37 °C и 5% CO<sub>2</sub>. В среду для культивирования дополнительно вносили 10% фетальной эмбриональной бычьей сыворотки, 100 ед/мл пенициллина G и 0.1 мг/мл стрептомицина (“БиолоТ”, Россия).

**Соединение CL-43** получали из коллекции InterBioScreen, растворяли в диметилсульфоксиде (DMCO) до финальной концентрации 20 мМ и хранили при –20 °C. В текущем исследовании CL-43 использовали в следующих рабочих концентрациях: 0.125, 0.25 и 0.5 мкМ. В качестве противоопухолевого препарата мы использовали этопозид (SigmaAldrich, США) в концентрации 10 мкМ.

**Анализ цитотоксичности в системе xCELLigence.** Для сравнения чувствительности опухолевых и нетрансформированных клеток к комбинации препаратов CL-43 и этопозиды использовали прибор xCELLigence (Agilent Technologies, США), который позволяет измерить в режиме реального времени клеточный индекс – безразмерный параметр, от-

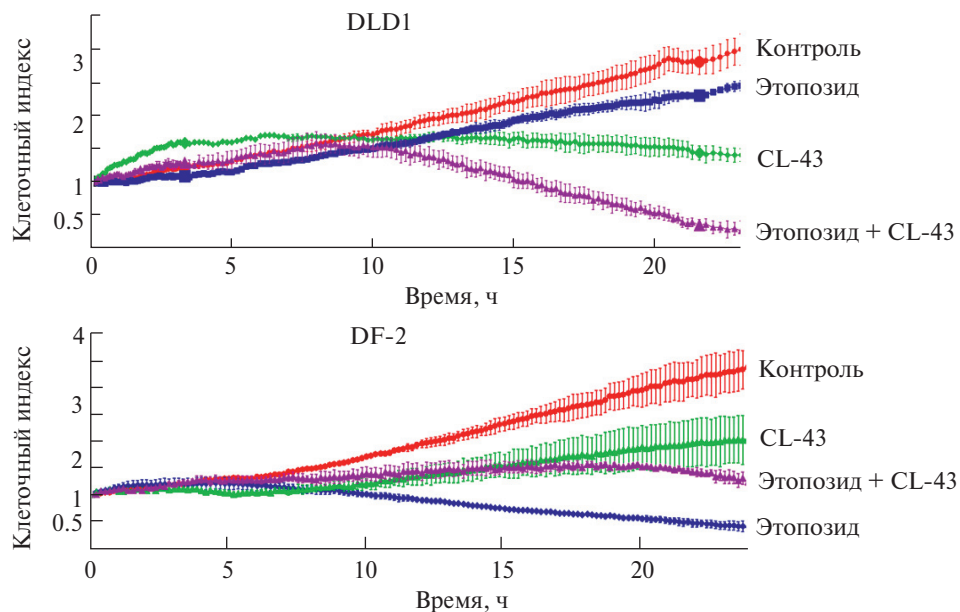
ражающий изменение сопротивления клеток (импеданс) в определенный момент, который коррелирует с количеством живых клеток на дне лунки.

Для анализа клеточного индекса в лунки 16-луночной E-платы, на дне которой вмонтированы золотые микроэлектроды, рассеивали клетки DLD1 (8 тыс./лунка) и DF-2 (2 тыс./лунка) На следующий день меняли среду и одновременно вносили противоопухолевый препарат этопозид (10 мкМ) и/или CL-43 (0.25 мкМ) и далее на протяжении 40 ч каждые 10 мин оценивали клеточный индекс. Контролем служили клетки, в среду которых добавляли только DMCO в концентрации, соответствующей таковой в среде с внесенным CL-43. Результаты обрабатывали в программе RTCA Data Analysis Software 2.0 (Acea Bio, США).

**Иммуноблоттинг.** Для определения количества активного HSF1, фосфорилированного по Ser326, клетки линии DLD1 и DF-2 культивировали в присутствии 0.125, 0.25 или 0.5 мкМ CL-43 в течение 18 ч, затем их центрифугировали и трижды отмывали в фосфатно-солевом буферном растворе. Далее к клеточному осадку добавляли лизирующий буфер High RIPA (20 мМ Tris-HCl pH 7.5, 150 мМ NaCl, 0.1% Тритона X-100, 0.5% SDS, 1% дезоксихолата натрия, 2 мМ EDTA) и ингибитор протеаз PMSF. После этого пробы подвергали сонификации, центрифугировали при 13400 об/мин и определяли концентрацию белка по методу Брэдфорд. Лизаты клеток (30 мкг на дорожку) использовали для проведения электрофореза и иммуноблоттинга.

В работе использовали следующие первичные антитела: ранее полученные в лаборатории клоны 3B5 и 2H9 антител к HSP70, а к фосфорилированной по Ser326 форме HSF1 (SU31-03, ThermoFisher, США) антитела к тубулину (MA1-80017, ThermoFisher, США). Для визуализации белков готовили раствор для проявления (2 мМ TrisHCl pH 8.5, 1.25 мМ люминола, 68 мМ кумаровой кислоты, 0.1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) или раствор Femto-ECL (ThermoFisher, США), съемку мембраны проводили на приборе ChemiDoc (Bio-Rad, США).

**Иммунофлуоресцентное окрашивание.** Клетки DLD1 и DF-2 рассеивали в лунки 24-луночного планшета, в которые предварительно помещали покровные стекла. На следующий день в среду добавляли 0.25 мкМ CL-43. После этого клетки промывали в PBS, фиксировали в 4%-ном растворе формалина и пермеабелизировали с помощью 0.1%-ного Тритона X100. Далее проводили иммунологическое окрашивание во влажной камере



**Рис. 1.** Изменения клеточного индекса клеток DLD1 и DF-2 в присутствии этопозида и/или CL-43. Клетки высевали в 16-луночные E-платы и культивировали в присутствии 10 мкМ этопозида и/или 0.25 мкМ CL-43 в течение 20 ч; съемку проводили с регистрацией клеточного индекса каждые 10 мин.

с антителами к фосфорилированной форме pHSF1 (по Ser326) (Abcam, Великобритания), в качестве вторичных антител использовали флуоресцентные антитела с меткой GAR Alexa 488 (ThermoFisher, США). После этого трижды промывали PBS, далее окрашивали ядра флуоресцентным красителем DAPI (Sigma Aldrich, США). Для заключения препаратов использовали DAKO fluorescent mounting medium (DAKO corporation, США). Препараты исследовали с помощью конфокального микроскопа (OLYMPUS FV3000, Германия). Обработку результатов проводили с помощью программы Image J.

**Статистический анализ.** Использовали программу GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). Для оценки различий между группами использовали t-тест Стьюдента, а также однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA) с апостериорными сравнениями по критерию Тьюки. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0.05$ .

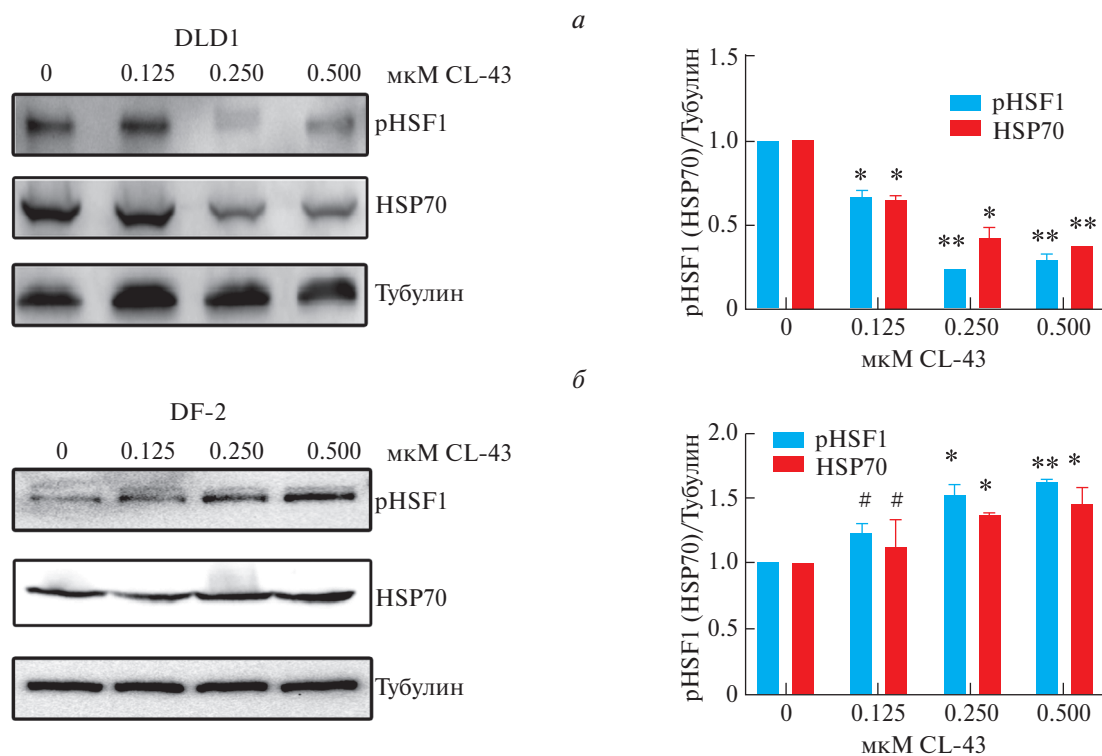
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Отличительной чертой карденолида CL-43 является его низкая способность влиять на жизнеспособность трансформированных клеток. Другие соединения из этой группы, оубаин или дигитоксин, показывают противоопухолевые эффекты, но при более высоких концентрациях и обладают значительной токсичностью в отношении нор-

мальных клеток, что затрудняет их применение в клинике (Kim et al., 2016; Shen et al., 2020).

В нашей работе мы решили более подробно осветить влияние CL-43 на опухолевые клетки, сравнив его с действием CL-43 на нормальные нетрансформированные клетки. В качестве модели последних мы выбрали дермальные фибробласты, полученные от здорового донора мужского пола (DF-2). Для этого мы использовали систему xCELLigence, которая позволяет наблюдать за пролиферативной активностью в режиме реального времени. Мы установили, что культивирование клеток DLD1 после добавления CL-43 (0.25 мкМ) и этопозида (10 мкМ) приводит через 24 ч к снижению клеточного индекса в 10 раз ( $2.46 \pm 0.034$ ) по сравнению с вариантом, когда вносится только этопозид ( $0.28 \pm 0.15$ ), что свидетельствует об усилении цитотоксического эффекта этопозида при его совместном использовании с CL-43 (рис. 1, *верхняя панель*). Аналогичный эксперимент, проведенный с клетками DF-2, показал, что внесение в среду только этопозида в той же концентрации приводит к снижению клеточного индекса до значения  $0.3 \pm 0.34$ , в то время как внесение комбинации препаратов этопозида и CL-43 приводило к росту клеточного индекса до  $1.1 \pm 0.1$ . Эти данные свидетельствуют о возможных цитопротекторных свойствах CL-43 (рис. 1, *нижняя панель*).

Так как CL-43 был обнаружен нами как ингибитор синтеза белка теплового шока HSP70, мы предположили, что различное влияние на чув-



**Рис. 2.** Изменение количества pHSF1 и его мишени HSP70 в клетках DLD1 (а) и DF-2 (б) под действием CL-43. Слева — иммуноблоты лизатов клеток после их культивирования в течение 20 ч в присутствии 0.125, 0.25 или 0.5 мкМ CL-43. Справа — графическое представление изменения интенсивности полос на блотах; интенсивность каждой зоны нормировали на тубулин, который использовали как контроль нагрузки. Интенсивность зон оценивали с помощью программы ImageLab.

ствительность опухолевых и нормальных клеток может быть связано с разницей во влиянии на транскрипционный фактор белков теплового шока HSF1 и сам HSP70. Для проверки этой гипотезы мы культивировали клетки обеих линий в присутствии 0.125, 0.25 или 0.5 мкМ CL-43 в течение 20 ч, после чего их лизировали и подвергали электрофорезу и последующему иммуноблотингу.

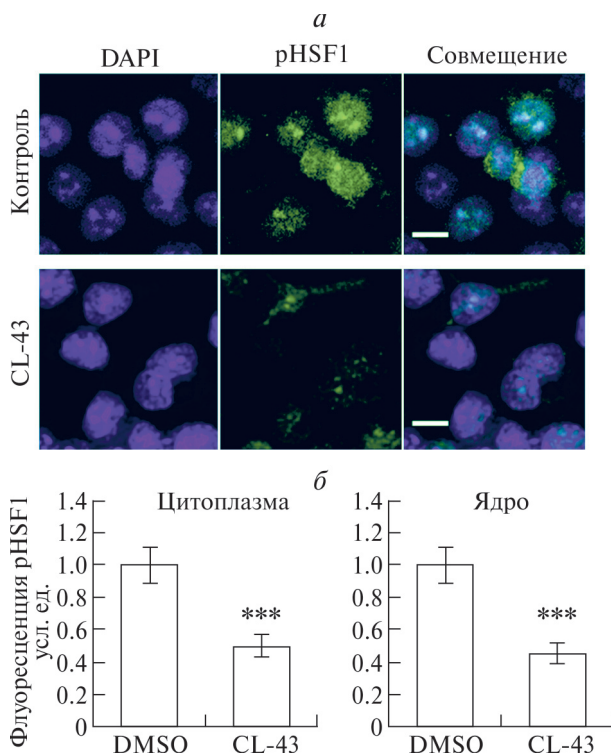
Мы заметили, что CL-43 имеет разнонаправленный эффект в нетрансформированных фибробlastах человека и опухолевых клетках. В клетках линии DLD1 наблюдали снижение количества HSP70 (на  $65 \pm 2\%$ ) и количества активной формы его транскрипционного фактора HSF1 (pHSF1, фосфорилированного по Ser326) на  $53 \pm 1.4\%$  при использовании рабочей концентрации CL-43 250 нМ (рис. 2а). В то же время действие CL-43 в такой же концентрации на клетки фибробlastов человека DF-2 приводило к активации HSF1 и синтезу HSP70, о чем свидетельствовало возрастание их количества на  $43 \pm 1.7$  и  $37 \pm 2.1\%$  соответственно (рис. 2б).

Известно, что активация транскрипционного фактора белков теплового шока — это сложный и многоступенчатый процесс, включающий несколько

стадий: 1) под действием высоких температур или других стрессовых воздействий, нарушающих нативную конформацию белков, шапероны рекрутируются для выполнения своих фолдирующих функций, высвобождая тем самым мономеры HSF1 (Guo et al., 2001; Neef et al., 2014); 2) HSF1 подвергается пост-трансляционным модификациям (в основном фосфорилированию), тримеризуется и транслоцируется в ядро (Dai, 2016); 3) в ядре проходят связывание с промоторной областью HSE (heat shock elements) благодаря ДНК-связывающему домену и гидрофобным повторам и активация транскрипции благодаря трансактивирующему домену (Neudegger et al., 2016). Как результат, проходит активация транскрипции ряда генов белков, задействованных в ответе на тепловой шок, и к ним относятся не только белки семейства HSP70.

Поскольку изложенные результаты обнаружили разницу количества активной формы pHSF1 после обработки CL-43 трансформированных и нетрансформированных клеток, мы предположили, что наше соединение может также влиять на транспорт pHSF1 в ядро клетки. Для проверки этого предположения мы использовали иммунофлу-



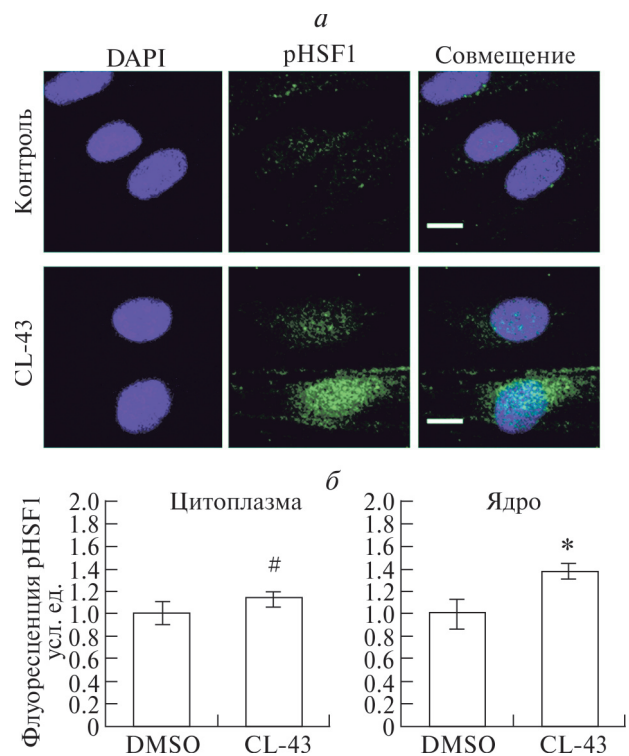


**Рис. 3.** Локализация активного HSF1 (pHSF1) в клетках DLD1 (а) и его количественное распределение (б) после обработки CL-43 в концентрации 250 нм; а – конфокальная микроскопия; после фиксации клетки взаимодействовали с первичными антителами к pHSF1 и вторичными, конъюгированными с меткой Alexa 488. Ядра дополнительно окрашивали DAPI (синий цвет). Контролем служили клетки, в среду которых добавляли ДМСО в концентрации, соответствующей варианту с добавлением раствора CL-43; масштабная линейка: 5 мкм; б – гистограммы показывают средние значения и среднеквадратичные отклонения (из 100 клеток) интенсивности флуоресценции (усл. ед.) pHSF1 в цитоплазме и ядре; (\*\*\*) – различие достоверно при  $p < 0.005$ .

оресцентное окрашивание: клетки DF-2 и DLD1 культивировали при 250 нМ CL-43 в течение 20 ч, после чего окрашивали флуоресцентно мечеными антителами к pHSF1. Мы установили, что обработка клеток DLD1 карденолидом CL-43 приводит к снижению количества активного pHSF1 (Ser326) как в цитоплазме, так и в ядре клетки на  $49 \pm 2.4\%$  и  $42 \pm 2.2\%$  соответственно (рис. 3а, б).

Аналогичные исследования на линии клеток дермальных фибробластов вновь продемонстрировали отличные от опухолевых клеток результаты, а именно: после обработки клеток CL-43 не было значимых изменений уровня pHSF1 в цитоплазме, однако в ядре сигнал возрастал в 1.4 раза (рис. 4а, б).

Таким образом, мы установили, что найденное вещество по-разному действует на активность



**Рис. 4.** Локализация активного HSF1 (pHSF1) и его количественное распределение (б) в клетках DF-2 (а) после обработки CL-43 в концентрации 250 нм. Объяснения те же, что и к рис. 3. (\*) – различие достоверно при  $p < 0.05$ ; # – отсутствие достоверных различий.

HSF1, активируя реакцию на стресс в нормальных и подавляя ее в раковых клетках. Существенным ограничением работы является то, что мы использовали клеточные линии разного происхождения, но сам факт ее выявления говорит, что нам удалось найти агент с двойным действием и с возможным перспективным применением в терапии сложных онкологических заболеваний. Механизм действия CL-43 на фактор стрессовой реакции до сих пор неизвестен, но несмотря на это, мы можем предполагать, что основной его мишенью, как представителя группы карденолидов, являются  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза и связанная с ней Src-киназа (Banerjee et al., 2018), которая является важнейшим центром *up*-регуляции многих каскадов, в том числе и MEK/ERK (Wang et al., 2015). Помимо этого известно, что Src-киназа является важнейшим онкогеном и сверхэкспрессирована во многих опухолях, в отличие от не-трансформированных клеток (Irby, Yeatman, 2000). В то же время в литературе есть данные об участии MEK/ERK сигнального каскада в регуляции активности HSF1 как транскрипционного фактора, которые в числе прочего могут обеспечивать его фосфорилирование по Ser326 (Dai, 2018).

Таким образом, CL-43 является своего рода уникальным веществом, так как способен не только ингибировать главный активатор защитных механизмов в опухолевых клетках, но и повышать его уровень в здоровых клетках, что важно в контексте борьбы с побочными эффектами терапии. Несмотря на это, механизмы его работы все еще неизвестны и остаются предметом наших дальнейших исследований.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность д-ру Н.А. Барлеву за предоставление клеточной линии DLD1. Фибробласты линии DF-2 получены из ЦКП “Коллекция культур клеток позвоночных” Института цитологии РАН (Санкт-Петербург), которая поддерживается Министерством науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-683).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа финансирована за счет средств Российского научного фонда (проект № 23-24-00538).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В работе отсутствуют исследования человека или животных.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ajmeera D., Ajmeera R.* 2023. Drug repurposing: A novel strategy to target cancer stem cells and therapeutic resistance. *Genes Dis.* V. 11. P. 148. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.12.013>
- Banerjee M., Cui X., Li Z., Yu H., Cai L., Jia X., Daheng H., Wang C., Gao T., Xie Z.* 2018. Na/K-ATPase Y260 phosphorylation-mediated Src regulation in control of aerobic glycolysis and tumor growth. *Sci. Rep.* V. 8. P. 1. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-29995-2>
- Botelho A.F.M., Pierezan F., Soto-Blanco B., Melo M.M.* 2019. A review of cardiac glycosides: structure, toxicokinetics, clinical signs, diagnosis and antineoplastic potential. *Toxicon.* V. 158. P. 63. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.11.429>
- Carpenter R.L., Paw I., Dewhirst M.W. and Lo H-W.* 2015. Akt phosphorylates and activates HSF-1 independent of heat shock, leading to Slug overexpression and epithelial-mesenchymal transition (EMT) of HER2-overexpressing breast cancer cells. *Oncogene.* V. 34. P. 546.
- Carpenter R.L., Yesim G-P.* 2019. HSF1 as a cancer biomarker and therapeutic target. *Curr. Cancer Drug Targets.* V. 19. P. 515.
- Cerella C., Dicato M., Diederich M.* 2013. Assembling the puzzle of anti-cancer mechanisms triggered by cardiac glycosides. *Mitochondrion.* V. 13. P. 225. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mito.2012.06.003>
- Dai C., Sampson S.B.* 2016. HSF1: guardian of proteostasis in cancer Chengkai. *Trends Cell Biol.* V. 26. P. 17.
- Dai C.* 2018. The heat-shock, or HSF1-mediated proteotoxic stress, response in cancer: from proteomic stability to oncogenesis. *Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.* V. 373. P. 20160525.
- Gao Q.X., Zhou G.X., Lin S.J., Paus R., Yue Z.C.* 2019. How chemotherapy and radiotherapy damage the tissue: comparative biology lessons from feather and hair models. *Exper. Dermatol.* V. 28. P. 413.
- Guo Y., Guettouche T., Fenna M., Boellmann F., Pratt W.B., Toft D.O., Smith D.F., Voellmy R.* 2001. Evidence for a mechanism of repression of Heat Shock Factor 1 transcriptional activity by a multichaperone complex. *J. Biol. Chem.* V. 276. P. 45791. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M105931200>
- Irby R.B., Yeatman T.J.* 2000. Role of Src expression and activation in human cancer. *Oncogene.* V. 19. P. 5636. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1203912>
- Kim N., Yim H.Y., He N., Lee C.J., Kim J.H., Choi J.S., Lee H.S., Kim S., Jeong E., Song M., Jeon S-M., Kim W-Y., Mills G.B., Cho Y-Y., Yoon S.* 2016. Cardiac glycosides display selective efficacy for STK11 mutant lung cancer. *Sci. Rep.* V. 6. P. 29721.
- Neef D.W., Jaeger A., Gomez-Pastor R., Willmund F., Frydman J., Thiele D.J.* 2014. A direct regulatory interaction between chaperonin TRiC and stress responsive transcription factor HSF1. *Cell Rep.* V. 9. P. 955.
- Neudegger T., Verghese J., Hayer-Hartl M., Hartl F.U., Bracher A.* 2016. Structure of human heat-shock transcription factor 1 in complex with DNA. *Nat. Struct. Mol. Biol.* V. 23. P. 140.
- Nikotina A.D., Koludarova L., Komarova E.Y., Mikhaylova E.R., Aksenov N.D., Suezov R., Kartzev V.G., Margulis B.A., Guzhova I.V.* 2018. Discovery and optimization of cardenolides inhibiting HSF1 activation in human colon HCT-116 cancer cells. *Oncotarget.* V. 9. P. 27268.
- Shen J., Zhan Y., Li H., Wang Z.* 2020. Ouabain impairs cancer metabolism and activates AMPK-Src signaling pathway in human cancer cell lines. *Acta Pharmacol. Sin.* V. 41. P. 110. <http://dx.doi.org/10.1038/s41401-019-0290-0>
- Wang Y., Zhan Y., Xu R., Shao R., Jiang J., Wang Z.* 2015. Src mediates extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation and autophagic cell death induced by cardiac glycosides in human non-small cell lung cancer cell lines. *Mol. Carcinog.* V. 54. P. 26.

## EFFECT OF THE HSF1 INHIBITOR CL-43 ON TUMORS AND NON-TRANSFORMED CELLS

S. A. Vladimirova<sup>a</sup>, B. A. Margulis<sup>a</sup>, I. V. Guzhova<sup>a</sup>, A. D. Nikotina<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup> *Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064, Russia*

\* *e-mail: nikotina.ad@gmail.com*

The occurrence of severe side effects in patients undergoing chemotherapy remains a significant clinical challenge. Therefore, the urgent task is to search for tumor-specific therapies that target opposing responses in non-transformed and tumorigenic cells. HSF1 is known to be an important marker of cancer progression and its transcriptional activity products allow tumor cells to escape the adverse effects of anticancer therapies. Thus, drugs inhibiting HSF1 activity hold promise as a therapeutic strategy. Our study shows that using the cardenolide group's HSF1 activity inhibitor, CL-43, provides cytoprotective effects on primary, untransformed dermal fibroblast (DF-2) cells, making them less sensitive to etoposide, whereas we observed an increase in sensitivity in the DLD1 tumor cell line. Furthermore, our results show that CL-43 interferes with the intranuclear transport of the active form of HSF1, increasing its activity and consequently the synthesis of HSP70 in human fibroblasts, while suppressing this activity in tumor cells in a dose-dependent manner. Our findings demonstrate the unique potential of CL-43 as a tumor-specific compound with high therapeutic value.

*Keywords:* HSF1, combination therapy, CL-43, dermal fibroblast