

ПРОТИВОБЛАСТОМНЫЕ СРЕДСТВА

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-8-32-35

ВЛИЯНИЕ ЦИСПЛАТИНА И ГИБРИДНОГО ОЛОВООРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА РОСТ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ LEWIS В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М. А. Додохова¹, М. С. Алхусейн-Кулягинова¹, А. В. Сафроненко¹,
И. М. Котиева¹, Д. Б. Шпаковский², Е. Р. Милаева²

На модели перевиваемой опухоли эпидермоидной карциномы Lewis в экспериментах на мышках (самки) линии C57Bl/6 изучали противоопухолевое и антиметастатическое действие комбинированной терапии цисплатином и гибридным оловоорганическим соединением (Me5) при курсовом внутрибрюшинном введении в малых дозах. Показано, что при пятикратном внутрибрюшинном введении исследуемых соединений в сочетанном режиме наблюдался синергический тип взаимодействия. На 21 сут после перевивки опухолевого материала у животных опытной группы размер первичного опухолевого узла уменьшился на 25 %, а также снизилась интенсивность метастазирования на 32 %, $p \leq 0,05$.

Ключевые слова: оловоорганические соединения; цисплатин; противоопухолевые средства; эпидермоидная карцинома Lewis; *in vivo*.

ВВЕДЕНИЕ

В России неуклонно увеличивается темп активного выявления злокачественных опухолей различной локализации. Несмотря на высокую онкологическую настороженность населения и медицинских работников амбулаторно-поликлинического звена здравоохранения, а также определенные успехи в ранней диагностике злокачественных новообразований, остается высоким процент пациентов с впервые выявленной, но генерализованной стадией процесса. Для такой категории пациентов основным методом лечения остается лекарственная терапия. В настоящее время активно разрабатываются новые режимы комбинированного применения противоопухолевых лекарственных средств (ЛС), относящиеся к метронормной химиотерапии. Принципиальное отличие данного вида химиотерапии заключается в регулярном применении на протяжении длительного периода времени цитотоксических препаратов в дозах, значительно меньших максимально переносимых [7].

К наиболее распространенным противоопухолевым ЛС относят алкилирующие ЛС, в том числе, соединения платины. Первым ЛС на основе данного металла был цисплатин, который до сих пор используется в ка-

честве основного ЛС средства для лечения опухолей различной локализации [11]. Однако, эффективность терапии платиносодержащими ЛС ограничивается, главным образом, их высокой системной токсичностью, в том числе нейро-, нефро- и ототоксичностью [5]. Механизм действия цисплатина достаточно подробно изучен. Основной мишенью для проявления цисплатином противоопухолевого эффекта является ДНК с ингибированием репликации и/или транскрипции, а также активацией апоптоза. Другим, менее выраженным механизмом является окислительный стресс, приводящий к увеличению уровня активных форм кислорода (АФК) и повреждению митохондриальной мембраны [4, 12].

С целью повышения эффективности химиотерапии и преодоления резистентности при повторном курсовом и метронормном режиме лечения злокачественных новообразований, успешно применяется подход комбинированного использования уже известных противоопухолевых ЛС, а также новых перспективных кандидатов в ЛС на этапе их изучения.

Оловоорганические соединения рассматриваются нами как перспективные кандидаты в ЛС для лечения злокачественных новообразований [10]. Их высокая противоопухолевая и антиметастатическая эффективность была доказана на различных моделях *in vivo* [2]. Особый интерес вызывают гибридные оловоорганические соединения. Для данной группы соединений гомолитический разрыв связи “металл-углерод” оказывается предпочтительным направлением фрагментации [6]. В результате первого этапа биотрансформации

¹ ФГБОУ ВО “Ростовский государственный медицинский университет” Минздрава РФ, Россия, 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, д. 29; e-mail: dodohova@mail.ru.

² ФГБОУ ВО “Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова”, Химический факультет, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3.

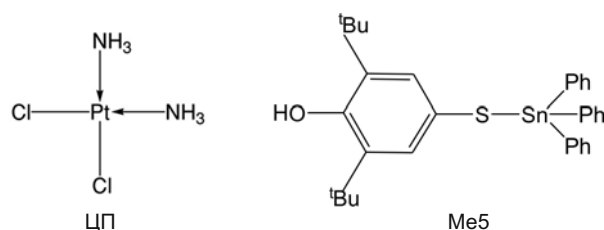


Рис. 1. Структурные формулы исследуемых соединений.

Примечание. Обозначение радикалов: tBu — трет-бутил, Ph — фенил.

в клетке образуется два фрагмента: биоцидный олово-содержащий и протекторный, содержащий группы пространственно затрудненных фенолов. Комбинация антиоксидантного фрагмента и каталитического центра металла определяет возможность двойственного характера действия данных молекул в окислении субстратов. Такая уникальная структура позволяет достичь оптимального соотношения “активность — неспецифическая токсичность” [1]. Одним из наиболее изученных механизмов действия органических производных олова (IV) является образование избыточного количества АФК, индукцией окислительного стресса, приводящего к нарушению проницаемости мембран и апоптозу [13].

Различные механизмы действия исследуемых соединений дают возможность использовать их для сочетанного введения. Комбинирование цисплатина и оловоорганического соединения может обеспечить более выраженный эффект, по сравнению с их применением в монорежиме.

Целью настоящего исследования была оценка противоопухолевого и антиметастатического эффекта, а также возможности использования в метронном режиме цисплатина и гибридного оловоорганического соединения при комбинированном введении в малых дозах, на рост и метастазирование эпидермоидной карциномы Lewis в эксперименте.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования (рис. 1) явились следующие соединения: ЛС — цисплатин (ЦП, Teva, Израиль) и органическое производное олова (IV) (3,5-дитрет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) трифенилолова (Me5). Оловоорганическое соединение Me5 было отобрано в ходе предварительного изучения из панели соединений — аналогов по принципу оптимального соотношения “активность — токсичность” и максимальной эффективности для используемой модели опухолевого процесса.

Экспериментальная часть выполнена на 48 мышах (самках) линии С57В1/6 8-недельного возраста массой 21 – 22 г. Животные получены из сертифицированного питомника НИЦ “Курчаговский институт” — “ПЛЖ “Рапполово”. После окончания карантина животные были осмотрены и стандартизированы по полу и массе тела. Работу проводили при строгом соблюдении

международных правил работы с лабораторными животными.

Для выявления противоопухолевого и антиметастатического эффектов исследуемых соединений нами была использована универсальная модель перевиваемой опухоли со спонтанным метастазированием — эпидермоидная карцинома Lewis. Штамм получен из банка опухолевых материалов НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ имени Н. Н. Блохина. Поддержание штамма осуществляли путем внутримышечной перевивки (мышца бедра), а опытным животным производили процедуру подкожно в правую подмышечную область. Использовали третий пассаж опухолевого материала. Через 48 ч после перевивки животные были рандомизированы с помощью таблицы случайных чисел. Все соединения вводили 1 раз в день в течение 5 дней внутривентриально [9]. Исследуемые группы были сформированы следующим образом: I (опытная) — ЦП в дозе 1 мг/кг + Me5 в дозе 25 мг/кг; II (группа сравнения) — ЦП в дозе 1 мг/кг; III (сравнения) — Me5 в дозе 25 мг/кг; IV (контрольная группа) — без фармакологических веществ. Животным контрольной группы вводили однопроцентный водный желатиновый раствор в аналогичных режимах и объемах. Количество особей во всех группах было одинаковым ($n = 12$). Через 21 день после перевивки опухоли всех животных подвергали эвтаназии. Для оценки противоопухолевого и антиметастатического эффекта соединений были определены следующие показатели: масса опухоли (M , г), процент торможения роста опухоли по массе (ТРОм, %), количество метастазов в легких на 1 мышь (q , шт), частота метастазирования опухоли (ЧМ, %), индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %). При нахождении расчетных показателей терапии были использованы следующие формулы:

$$\text{ТРО}_m, \% = (M_k - M_o) / M_k \cdot 100\%,$$

где M_k и M_o — средняя масса опухоли в контрольной и опытной группе;

$$\text{ЧМ}, \% = \eta_{\text{мет}} / \eta_{\text{общ}} \cdot 100 \%,$$

где $\eta_{\text{мет}}$ — количество животных в группе с выявленным метастазированием в легкие, $\eta_{\text{общ}}$ — количество животных в группе;

$$\text{ИИМ}, \% = \{(\text{ЧМ}_k \cdot \text{КМ}_k) - (\text{ЧМ}_o \cdot \text{КМ}_o)\} / (\text{ЧМ}_k \cdot \text{КМ}_k) \cdot 100 \%,$$

где ЧМ_k и ЧМ_o — частота метастазирования в легкие у животных контрольной и опытных групп, КМ_k и КМ_o — среднее число метастазов в легких у животных контрольной и опытной групп.

Результаты исследования выражали в виде средней величины показателя \pm ошибка средней величины. Совокупность показателей в группе проверялась на нор-

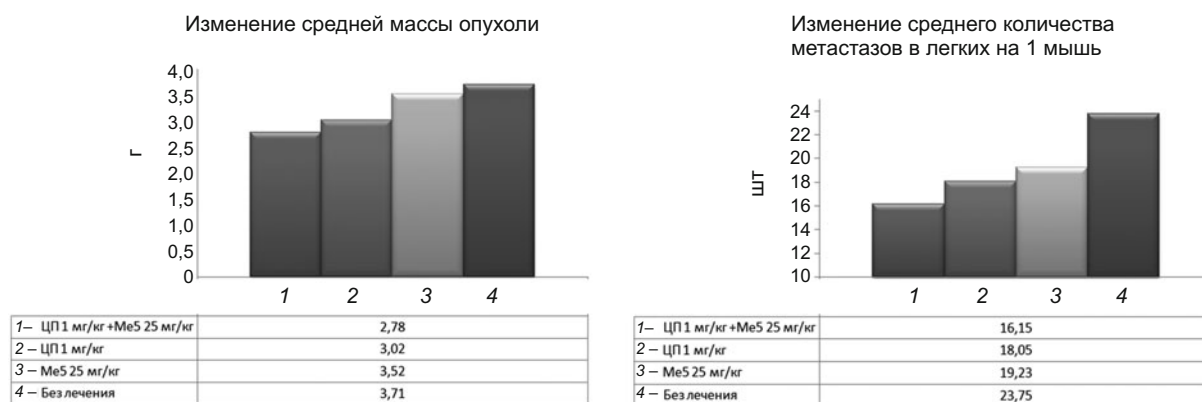


Рис. 2. Влияние введения ЦП и Me5 на массу опухоли и количество метастазов в легких.

мальность распределения посредством теста Андерсона — Дарлинга. Различия показателей в опытной группе по отношению к контрольной оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента и считали статистически значимыми при вероятности выше 95 %. Результаты обработаны с помощью программы Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На модели эпидермоидной карциномы Lewis была произведена оценка комбинированного действия ЦП и нового гибридного оловоорганического соединения в малых дозах на рост и активность метастазирования опухоли (рис. 2, таблица). В предварительном исследовании на данной модели максимальная противоопухолевая и антимастигическая эффективность выявлена при введении в суммарной дозе 250 мг/кг при 5-кратном внутрибрюшинном введении. На 21 сут после перевивки опухолевого материала процент торможения роста опухоли по массе при введении в максимально эффективной дозе составил 28 %, а индекс ингибирования метастазирования был чрезвычайно высок и был равен 68 %.

Следует обратить внимание на то, что в эксперименте применяли исследуемые вещества в малых (пороговых) дозах в классическом 5-кратном внутрибрюшинном режиме введения. Нами было отмечено, что влияние комбинации исследуемых веществ в малых дозах имеет более выраженный противоопухолевый и антимастигический эффект во всех категориях оценивания, чем применение данных соединений в монорежиме. Данное наблюдение позволяет говорить о синергическом эффекте двух повреждающих веществ

при совместном применении [3, 8], что открывает широкие перспективы для использования гибридных органических производных олова (IV) в экспериментальной и клинической фармакологии.

Для опытной группы и групп сравнения изменения имели однонаправленный характер, но были разной степени выраженности. У всех животных было отмечено метастазирование опухоли. При введении Me5 в монорежиме выявлена тенденция к уменьшению массы первичного очага и достоверный антимастигический эффект. Снижение количества метастазов в легких отмечено на 19 %, что сопоставимо с эффектом в наиболее эффективной разовой дозе 50 мг/кг/сут. Введение ЦП в монорежиме оказало более выраженный противоопухолевый и антимастигический эффекты, причем уменьшение количества метастазов на 1 мыш имело минимальные отличия в 2 группах сравнения. Наибольшее подавление роста первичного очага опухоли и интенсивности метастазирования получено при комбинированном введении цисплатина и Me5. Следует отметить, что регистрируемые эффекты сохраняются на протяжении достаточно длительного времени и наблюдаются спустя 16 сут после окончания лечения.

Одним из результатов данной работы стало выявление чувствительности универсальной модели опухолевого роста со спонтанным метастазированием в легкие эпидермоидной карциномы Lewis для исследований нового направления в экспериментальной и клинической фармакологии — метромной химиотерапии.

При классическом 5-кратном внутрибрюшинном введении комбинации исследуемых соединений в ма-

Исследуемые вещества	Процент торможения роста опухоли по массе (ТРОМ, %)	Частота метастазирования опухоли (ЧМ, %)	Индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %)
ЦП 1 мг/кг + Me5 25 мг/кг	25, $p \leq 0,05$	100	32, $p \leq 0,05$
ЦП 1 мг/кг	18,6, $p \leq 0,05$	100	24, $p \leq 0,05$
Me5 25 мг/кг	5	100	19, $p \leq 0,05$
Без исследуемых веществ	–	100	–

Примечание. Сравнение показателей было проведено по отношению к контрольной группе.

лых дозах показано синергическое влияние на рост и развитие опухолевого процесса, а также увеличение эффективности, по сравнению с результатами влияния цисплатина и Me5 в монорежимах. Применение исследуемой комбинации противоопухолевых и антиметастатических веществ в малых дозах является целесообразным и требует дальнейшего всестороннего изучения.

ВЫВОД

Противоопухолевый и антиметастатический эффект сочетанного применения цисплатина и гибридного оловоорганического соединения Me5 в малых дозах достоверно выше, чем при применении данных веществ в монорежиме. На 21 сут после перевивки опухолевого материала у животных опытной группы размер первичного опухолевого узла уменьшился на 25 %, а также снизилась интенсивность метастазирования на 32 %, $p \leq 0,05$.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (20-03-00471) и РНФ (грант 19-13-00084).

ЛИТЕРАТУРА

1. М. А. Додохова, А. В. Сафроненко, И. М. Котиева и др., *Уральский медицинский журнал*, **20**(3), 73 – 77 (2021); doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-3-73-77.

2. М. А. Додохова, А. В. Сафроненко, И. М. Котиева и др., *Биофарм. журн.*, **13**(3), 30-34 (2021); doi: 10.30906 / 2073-8099-2021-13-3-30-34.
3. Е. С. Евстратова, В. Г. Петин, *Исследования и практика в медицине*, № 7, 82 – 91(2020); doi: 10.17709 / 2409-2231-2020-7-2-8.
4. Т. Н. Замай, А. К. Старков, О. С. Коловская и др., *Биологические мембраны*, **37**(1), 69 – 75 (2020).
5. А. С. Критченков, Я. М. Станишевский, Ю. А. Скорик, *Хим.-фарм. журн.*, **53**(1), 8 – 16 (2019).
6. Е. Р. Милаева, А. З. Рубежов, Л. Ю. Ухин, О. Ю. Охлобыстин, *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 2, 443 – 446 (1980).
7. М. Ю. Федянин, И. А. Покатаев, С. А. Тюляндин, *Онкологическая колопроктология*, **6**(1), 27 – 35 (2016).
8. В. А. Чубенко, Л. А. Загорская, В. С. Чубенко и др., *Практическая онкология*, **20**(4), 289 – 298 (2019).
9. *Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США*, З. П. Софьина, А. Б. Сыркин (СССР), А. Голдин, А. Кляйн (США) (ред.), Москва (1980).
10. М. А. Dodokhova, I. M. Kotieva, A. V. Safronenko, et al., *J. Clin. Oncol.*, **39**(S15), e15054 (2021).
11. M. Imran, W. Ayub, I. S. Butler, Z. U. Rehman, *Coord. Chem. Rev.*, **12**, 405 – 429 (2018).
12. K. Kohno, K. Y. Wang, M. Takahashi, *Int. J. Mol. Sci.*, **16**(8), 19836 – 19850 (2015); doi: 10.3390 / ijms160819836.
13. E. R. Milaeva, V. Yu. Tyurin, *Pure and Applied Chemistry*, **89**(8), 1065 – 1088 (2017); doi: 10.1515 / pac-2016-1130.

Поступила 08.08.21

EFFECT OF CISPLATIN AND HYBRID ORGANOTIN COMPOUND IN LOW DOSES ON THE GROWTH AND METASTASIS OF LEWIS EPIDERMOID CARCINOMA IN EXPERIMENT

M. A. Dodokhova^{1,*}, M. S. Alkhuseyn-Kulyaginova¹, A. V. Safronenko¹, I. M. Kotieva¹, D. B. Shpakovskii², and E. R. Milaeva²

¹ Rostov State Medical University, per. Nakhichevanskii 29, Rostov-on-Don, 344022 Russia

² Department of Chemistry, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

* e-mail: dodokhova@mail.ru

The antitumor and antimetastatic effects of combined therapy with cisplatin and hybrid organotin compound (Me5) in the course of intraperitoneal administration at small doses were studied in experiments on C57Bl/6 female mice with a tumor model of transferable Lewis epidermoid carcinoma. It was found that a five-fold repeated intraperitoneal administration of the compounds studied in combined regime resulted in a synergistic type of their interaction. On the 21st day after transplantation of the tumor material in the experimental group, the size of primary tumor node decreased by 25%, and the intensity of metastasis decreased by 32% ($p \leq 0.05$).

Keywords: organotin compounds; cisplatin; antitumor agents; Lewis epidermoid carcinoma; *in vivo* studies.