

Секция «Биохимические аспекты диагностики и лечения онкологических заболеваний», научный руководитель – Князева О.А.

УДК 546.92:615.035.4:616-006

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ПЛАТИНЫ В ТЕРАПИИ ОНКОЗАБОЛЕВАНИЙ

Ахтямов А.Э.

Научный руководитель: Князева О.А., проф., д.б.н.,  
Башкирский государственный медицинский университет,  
г. Уфа, e-mail: akhtyamov.artyom@gmail.com

Механизмы антиканцерогенного действия соединений платины основаны на возникновении в ДНК внутрицепочечных связей, создающих препятствия для репликации за счет проникновения комплекса платины с ионами лиганда в раковую клетку. Была проанализирована модель взаимодействия соединений платины на клетку, а также непосредственно на ДНК. Было выделено, что основой цитостатичности соединений платины основана на возникновении платиновых «сшивок» в самой ДНК. А также приведены данные частного взаимодействия соединений на отдельные пары нуклеотидов. Подобрана модель для исследования противоопухолевого процесса комплекса платины на мышцах линии BALB/c с перевиваемой миеломой штамма Sp 2/0 Ag 14, оцениваемого по четырем критериям: торможение развития асцита (ТРА), торможение прироста массы тела (ТПМ), медиана продолжительности жизни (МПЖ), увеличение продолжительности жизни (УПЖ).

**Ключевые слова:** платина, канцерогенез, линейные мыши BALB/c, миелома Sp 2/0 Ag 14

## USING OF PLATINUM COMPOUNDS IN CANCER THERAPY

Akhtyamov A.E.

Scientific Advisor: Knyazeva O.A., prof., Grand PhD Biol. Sci.  
Bashkir State Medical University, Ufa, e-mail: akhtyamov.artyom@gmail.com

Mechanisms of anticarcinogenic action of platinum compounds are based on the occurrence of intrachain bonds in the DNA, which create obstacles for replication due to the penetration of the platinum complex with ligand ions into the cancer cell. The model of interaction of platinum compounds on a cell, and also directly on DNA, was analyzed. It was noted that the basis of cytostatic compounds of platinum is based on the occurrence of platinum «cross-links» in the DNA itself. Also, the data of the partial interaction of compounds on individual pairs of nucleotides. A model was selected for the study of the antitumor effect of platinum compounds in BALB/c mice with a myeloma-transduced strain Sp 2/0 Ag 14, assessed according to four criteria (measures): inhibition of ascites development (IAD), inhibition of weight gain (IWG), median survival time (MST), prolongation of life (PL).

**Keywords:** Platinum, carcinogenesis, linear mice BALB/c, myeloma Sp 2/0 Ag 14

В настоящее время рак является одной из главных причин смертности по всему миру. Ежегодно регистрируется около 14 миллионов новых случаев онкологических заболеваний, а смертность от них составляет порядка 8,2 миллионов человек. Рак возникает в результате преобразования нормальных клеток в опухолевые в ходе многоэтапного процесса в результате взаимодействия между генетическими и внешними факторами, включающими физические, химические и биологические канцерогены. Высокое количество регистрируемых заболеваний, их дифференцировка, а также трудности в лечении привели к тому, что лишь на разработку противоопухолевых препаратов тратится более 1 миллиарда долларов [2].

В ходе исследований ученые обратили внимание на соединения платины. Так при изучении роста *E.coli* в электрическом поле

двух платиновых электродов в растворе хлорида аммония было обнаружено довольно странное явление: бактерии начинали сильно разрастаться в длину, а вскоре переставали делиться. Лишь спустя некоторое время стало понятно, что причина данного явления лежит в переходе платины на иную степень окисления и образовании комплексов с ионами аммония и хлора. Так начались исследования элемента №78, которые вскоре дали свои плоды. История применения соединений на основе металлов в противораковой химиотерапии насчитывает уже 40 лет. Синтез цисплатина в 1965 году произвел революцию противоопухолевой терапии, что подвигло ученых на дальнейшие поиски соединений платины, способных эффективно бороться с различного рода онкологическими заболеваниями. Как бы то ни было, лишь немногие из них имели превосходящий фар-

макологический эффект. Лишь три соединения, главным компонентом которых была платина (карбоплатин, цисплатин и оксалиплатин) утвердились на рынке противоопухолевых препаратов и используются активно по сей день [3]. На данный момент около 10 новых платиновых комплексов находятся на стадии клинических испытаний, и более сотни соединений находятся на стадии разработки и доклинических исследований [2].

Структура цисплатина является основой для синтеза новых соединений платины и других металлов, т.к. все препараты платиновой природы имеют аналогичный механизм действия, включающий в себя взаимодействие с цепью ДНК и образование связей с ней. Хотя на сегодняшний день уже известны соединения, структурно отошедшие от данной модели [4].

Изучение соединений платины является одним из наиболее приоритетных направлений в борьбе против рака. Поэтому следует разобраться, что же делает платину такой уникальной среди остальных элементов и почему ее соединения считают основой химиотерапии против рака, несмотря на побочные эффекты (рвота, почечная токсичность, ухудшение слуха), ограничивающие их применение в высоких дозах [1].

**Цель работы:** исследование литературных данных по биохимическим механизмам антиканцерогенного действия соединений платины и подготовка к эксперименту

по определению терапевтической дозы комплекса Pt с производным пиримидина на линейных мышцах BALB/c, зараженных миеломой Sp 2/0 Ag14.

### Материалы и методы исследования

Противоопухолевое действие соединения платины с производным пиримидина будет изучаться *in vivo* на мышцах линии BALB/c с перевиваемой миеломой штамма Sp 2/0 Ag 14.

Мыши получены из Института биофизики клетки РАН (Пушино). Линия поддерживается нами путем близкородственного скрещивания (метод инбридинга). Для эксперимента отобраны 2,5 месячные самцы, с массой тела 25-30 г в количестве 60 штук. За сутки до начала эксперимента мышам внутрибрюшинно инъецируется суспензия клеток миеломы штамма Sp 2/0 Ag14 (10<sup>6</sup> клеток на мыш). Оценка противоопухолевой активности препаратов проводится на 16-е сутки по трем критериям: торможение развития асцита (ТРА), торможение прироста массы тела (ТПМ) и медиана продолжительности жизни (МПЖ). Через полгода рассчитывается еще один критерий -увеличение продолжительности жизни (УПЖ). Исследования будут проводиться в 5-ти группах, в каждой из которых по 12 животных: 1 – «контроль-интактные», 2 – «контроль-миелома», 3-5 – «контроль-миелома+соединение платины».

## Материалы и методы

**1** 2,5 месячные мыши BALB/c, самцы, (из Института биофизики клетки РАН (Пушино)) с массой тела 25-30 г в количестве 60 штук.

**2** За сутки до начала эксперимента мышам внутрибрюшинно инъецируется суспензия клеток миеломы штамма Sp 2/0 Ag14 (10<sup>6</sup> клеток на мыш).

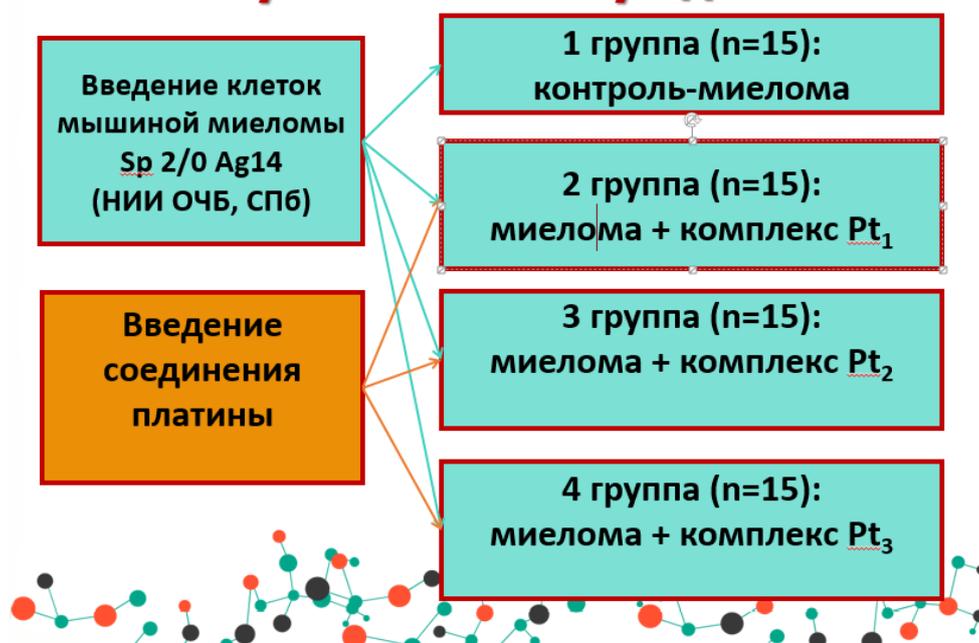
**3** Оценка противоопухолевой активности препаратов проводится на 16-е сутки по 4 критериям: торможение развития асцита (ТРА), торможение прироста массы тела (ТПМ), медиана продолжительности жизни (МПЖ) и УПЖ (увеличение продолжительности жизни)

### Результаты и обсуждение

В применяемых лекарственных препаратах платина имеет степень окисления 2+ и 4+, так как эти состояния характеризуются: 1 – строго определенным расположением лигандов в координационной сфере комплекса (для Pt(II) это в большинстве случаев квадрат, для Pt(IV) октаэдр с четырьмя и шестью положениями соответственно); 2 – наличием так называемого «эффекта трансвлияния», когда химическая подвижность адденда в координационной сфере определяется природой его соседа напротив (в транс-положении), на чем основаны все

методики синтезов в современной координационной химии платиновых металлов; 3 – кинетической заторможенностью реакций (при комнатной температуре на количественное замещение одного лиганда другим требуется не менее суток); 4 – отсутствием или низкой скоростью внутрисферных изомеризаций (например, переход цис-транс при комнатной температуре не длится менее нескольких дней, даже в растворе); 5 – «хорошей» геометрией, благодаря которой возможно взаимодействие платины с ДНК с образованием координационных и водородных связей.

## Результаты и обсуждение



Благодаря всем этим свойствам платина, как антиканцерогенный препарат, является уникальной. Ее препараты оказывают цитостатическое воздействие за счет возникновения в ДНК внутрицепочечных поперечных и продольных связей, создающих препятствия для репликации. Такой эффект возможен, благодаря химическому составу препаратов, в центре которых расположен атом платины, связанный с двумя ионами аммония и хлора. Весь этот комплекс целиком и полностью имеет отрицательный заряд. Однако, в случае проникновения в раковую клетку, он гидролизуется с замещением хлорид-ионов на ОН-группы и меняет заряд на положительный. ОН-группы,

в свою очередь, легко вытесняются и дают возможность платиновому соединению полноценно воздействовать на ДНК раковых клеток. Когда-то, считалось, что цитостатический эффект возможно реализовать исключительно при условии совокупности с двумя центрами ДНК, потому как это дает возможность пересекающиеся связи между отдельными участками ДНК. Но уже в восьмидесятых годах, ученые стали проводить исследования заряженных платиновых комплексов, которые не просто связывались с центром ДНК, но и производили цитостатический эффект [5]. Таким образом, основная причина цитостатичности цисплатина проявляется в нарушении репли-

кации ДНК из-за образования платиновых «сшивок» [5]. С нуклеотидными основаниями цисплатин образует продукты вытеснения атомов хлора из координационной сферы Pt. Например, с пуриновыми нуклеотидами атом платины связывается через гетероциклический атом азота N7, образуя комплексы состава  $\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Guanine-N7})_2$  и  $\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Guanine-N7})(\text{Adenine-N7})$ . Резкое преобладание первых объясняется образованием дополнительной связи (водородной) между протоном аминогруппы и экзоциклическим C6-кислородом гуанина. С цитозином же связывание происходит через атом азота N3, а с тиминном и урацилом связывание наблюдается довольно слабо.

Однако единого представления о том, как именно цисплатин попадает в клетку пока нет. Цисплатин относится к малым полярным молекулам с большим дипольным моментом. На данный момент наиболее известны три основных пути поступления веществ данного комплекса в клетку: пассивная диффузия, транспорт через транспортер органических катионов OCT2 и транспорт через высокоаффинный импортер меди CTR1. CTR1 представляет собой небольшой белок, содержащий три трансмембранных домена, функционирующих в виде стабильного гомотримера. Основное место локализации CTR1 – плазматическая мембрана. Пассивная диффузия не может объяснить динамику поступления данного препарата в клетки различных дифферонов. Есть данные о том, что белок OCT2 транспортирует цисплатин, но он экспрессируется в незначительном количестве тканей и наборе клеток, что не позволяет считать данный белок универсальным переносчиком неорганической молекулы. Поэтому некоторые ученые склоняются к высокоаффинному импортеру меди CTR1. Исследование [6] свидетельствует, что делеция CTR1 приводит к развитию устойчивости клеток к платиновым препаратам, в частности к цисплатину, однако на данный момент единого мнения на этот счет нет. Известно лишь то, что до точки назначения доходит незначительная часть препарата. Как правило, зачастую, вместе с опухолевыми клетками при терапии цисплатином и иными платиновыми препаратами повреждаются все быстро обновляющиеся ткани организма: слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта, эпителий мочевыводящих путей, эпителий кожи и роговицы, клетки крови. Клетки данных дифферонов получают аналогичное количество препарата, а так как

скорость их деления также высока, то и негативный эффект для них будет такой же силы. Результаты подобной терапии могут варьировать: различного рода косметические повреждения кожи, выпадение волос, нарушения функционирования какого-либо органа или системы органов (почечная недостаточность, угнетение гемопоэза, изъязвления желудочно-кишечного тракта).

Таким образом, синтез препаратов на основе платины послужил новым шагом в борьбе против рака. Попытки создания новых препаратов на основе комплекса Pt многочисленны, так как их применение в противоопухолевой терапии является перспективным. Мы, в свою очередь, лишь попытались понять, в чем же особенность данного металла и препаратов на его основе и можно ли по праву считать, что за открытием новых препаратов стоит ответ на такую загадку для человечества как рак.

#### Заключение и выводы

Механизмы антиканцерогенного действия соединений платины основаны на возникновении в ДНК внутрицепочечных связей, создающих препятствия для репликации за счет проникновения комплекса платины с ионами лиганда в раковую клетку.

Отработана модель для исследования противоопухолевого действия соединений платины на линейных мышцах BALB/c с переливаемой миеломой Sp 2/0 Ag 14, которое будет оцениваться по четырем критериям: торможение развития асцита (ТРА), торможение прироста массы тела (ТПМ), медиана продолжительности жизни (МПЖ) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ).

#### Список литературы

1. В.И. Чиссов. Онкология: национальное руководство / под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1072 с.
2. M. Fanelli, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, M. Micheloni, P. Paoli. New trends in platinum and palladium complexes as antineoplastic agents/ M. Fanelli, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, M. Micheloni, P. Paoli // *Coordination chemistry reviews* 310 (2016) 41-79 – pp. 42-76
3. N. Cutillas, G. S. Yellol, C. de Haro, C. Vicente, V. Rodriguez, J. Ruiz. Anticancer cyclometalated complexes of platinum group metals and gold / N. Cutillas, G. S. Yellol, C. de Haro, C. Vicente, V. Rodriguez, J. Ruiz // *Coordination chemistry reviews* 257 (2013) pp. 2784-2797
4. T. Boulikas, M. Vougiouka. Cisplatin and platinum drugs at the molecular level/ T. Boulikas, M. Vougiouka// *Oncology reports* 10. 2003. – pp. 1663-1682
5. J. Reedijk. The mechanism of action of platinum anti-tumor drugs/ J. Reedijk // *Pure & Applied Chemistry* 1987, vol. 59, № 2, pp. 181-192.
6. S. Ishida, J. Lee, DJ. Thiele, I. Herskowitz. Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals/ S. Ishida, J. Lee, DJ. Thiele, I. Herskowitz // *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(22):14298-302 2002 Oct 29; 99(22): 14298–14302.