

I.Yu. Maklakova – Doctor of Science (Medicine), Assistant Professor;
D.Yu. Grebnev- Doctor of Science (Medicine), Assistant Professor.

УДК: 615.012.1

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ПЛАТИНЫ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Мария Дмитриевна Тохтуева¹, Яна Борисовна Кокшарова², Альфия Флюровна Сулейманова³, Олег Станиславович Ельцов⁴, Всеволод Викторович Мелехин⁵

¹⁻⁵ИЦ ХФТ ХТИ, ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

⁵ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

¹ezhneva@icloud.com

Аннотация

Введение. Выраженная токсичность многокурсовой химиотерапии и формирование лекарственной устойчивости к ней остаются одними из самых основных проблем в лечении больных с онкологическими патологиями. Соединения платины известны как наиболее эффективные противоопухолевые химические агенты, в особенности цисплатин. Однако при его длительном использовании у опухолевых клеток может развиться резистентность к нему.

Цель исследования – изучить влияние циклоплатинированных комплексов на жизнеспособность опухолевых клеток и синтезировать химические соединения для создания новых противоопухолевых препаратов. **Материалы и методы.**

Исследование проводилось на культурах опухолевых клеток глиобластомы (ГБ), остеосаркомы (ОС), карциномы печени (КП), карциномы легкого (КЛ) и на нормальных клетках почки эмбриона человека. Клеточные культуры инкубировали в 96-луночных планшетах, куда позднее вносили суспензии исследуемых соединений. В качестве сравнения использовали цисплатин.

Результаты. Полученные в ходе исследования данные указывают на влияние циклоплатинированного комплекса SAF-08 на жизнеспособность опухолевых клеток, причем соединение показало избирательность действия в отношении опухолей различного происхождения. На нормальные клетки токсическое влияние было на значительно меньшем уровне. **Обсуждение.** На основе качественного и количественного анализа был выявлен потенциально возможный противоопухолевый агент, обладающий выраженной активностью в отношении подавления жизнедеятельности культивируемых клеток злокачественных новообразований. **Выводы.** Избирательность соединения SAF-08 в отношении нормальных клеток и опухолевых клеток различного генеза позволяет рассматривать данное соединение как достаточно эффективное против опухолевых линий и не чрезмерно токсичное для здоровых клеток.

Ключевые слова: цитотоксический эффект, цисплатин, циклоплатинированные комплексы, противоопухолевая активность.

THE EFFECT OF PLATINUM COMPOUNDS ON THE VIABILITY OF CULTURED MALIGNANT NEOPLASM CELLS

Mariya D. Tokhtueva¹, Yana B. Koksharova², Alfiya F. Suleymanova³, Oleg S. Yeltsov⁴, Vsevolod V. Melekhin⁵

¹⁻⁵Innovation Center of the Chemical and Pharmaceutical Technologies, Institute of Chemical Technology, Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

⁵Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

¹lezhneva@icloud.com

Abstract

Introduction. The pronounced toxicity of multi-course chemotherapy and the formation of drug resistance to it remain one of the most basic problems in the treatment of patients with oncological pathologies. Platinum compounds are known as the most effective anticancer chemical agents, especially cisplatin. However, with its prolonged use, tumor cells may develop resistance to it. **The aim of the study** – to study the effect of cycloplatinated complexes on the viability of tumor cells and the detection of chemical compounds for the creation of new antitumor drugs. **Materials and methods.** The study was conducted on cultures of tumor cells of glioblastoma (GB), osteosarcoma (OS), liver carcinoma (CP), lung carcinoma (CL) and on normal human embryo kidney cells. Cell cultures were incubated in 96-well plates, where suspensions of the studied compounds were later introduced. Cisplatin was used as a comparison. **Results.** The data obtained during the study indicate the effect of the cycloplatinated SAF-08 complex on the viability of tumor cells, and the compound showed selectivity of action against tumors of various origins. The toxic effect on normal cells was at a much lower level. **Discussion.** On the basis of qualitative and quantitative analysis, a potentially possible antitumor agent with pronounced activity in relation to the suppression of the vital activity of cultured cells of malignant neoplasms was identified. **Conclusions.** The selectivity of the SAF-08 compound with respect to normal cells and tumor cells of various genesis allows us to consider this compound as sufficiently effective against tumor lines and not excessively toxic to healthy cells.

Keywords: cytotoxic effect, cisplatin, cycloplatinated complexes, antitumor activity.

ВВЕДЕНИЕ

В лечении онкологических больных остается много нерешенных проблем, основные из которых – выраженная токсичность многокурсовой химиотерапии и формирование множественной лекарственной устойчивости [1].

Одними из наиболее эффективных противоопухолевых химических агентов являются соединения платины, среди которых широко используется препарат цисплатин. Однако при его длительном использовании со временем клетки злокачественных новообразований начинают проявлять резистентность к терапии [2]. Также, серьезным ограничением при лечении злокачественных опухолей с помощью препаратов платины является их высокая

нейротоксичность, нефротоксичность и отоксичность [3]. Поэтому существует острая необходимость в разработке новых противоопухолевых препаратов, позволяющих решить вышеуказанные проблемы. И, так как цисплатин демонстрирует значительный клинический успех, на сегодняшний день ведутся поиски в двух направлениях. С одной стороны, развиваются исследования новых химиотерапевтических средств с иными механизмами цитотоксического действия, с более избирательным действием на опухоль, С другой стороны, делаются попытки модификации координационных соединений платины с целью снижения их токсичности и увеличения биосовместимости [4].

Цель исследования – изучение противоопухолевого действия циклоплатинированного комплекса SAF-08.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводился на культурах опухолевых клеток – ГБ (линия А-172 и Т98G), ОС (линия НОS), КП (линия НерG2), КЛ (линия А-549) и нормальных клеток – почка эмбриона человека (линия НЕК-293), которые были получены от Института цитологии РАН, г. Санкт-Петербург.

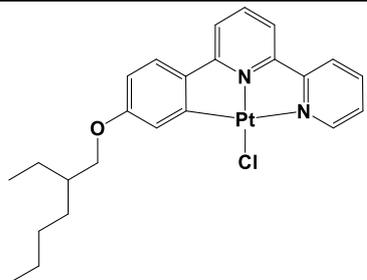
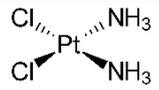
Клетки рассеивали за день до внесения исследуемых веществ в лунки 96-луночного планшета, в которых ряд 1 – контроль без клеток, ряд 2 и 3 – контроль с интактными клетками. Среда DMEM/Ham F-12 (SigmaAldrich, США), на которой культивировали клеточные культуры, содержала 10 % бычьей фетальной сыворотки (SigmaAldrich, США).

Вносили суспензии исследуемых соединений в культуральной среде, приготовленные серийными разведениями из исходного раствора в различных концентрациях: 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128 μ M. В качестве нового цитостатика использовался циклоплатинированный комплекс SAF-08, синтезированный в ФГАОУ ВО УрФУ им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Способ получения – кипячение соответствующего лиганда с тетрахлорплатинатом в течение 18 часов с последующей фильтрацией [5]. В качестве препарата сравнения использовался цисплатин (таблица 1).

Клетки инкубировали при условиях 5 % содержания CO₂, t=37 °C и 95 % влажности в течение 24 часов.

Таблица 1

Характеристика исследуемых препаратов

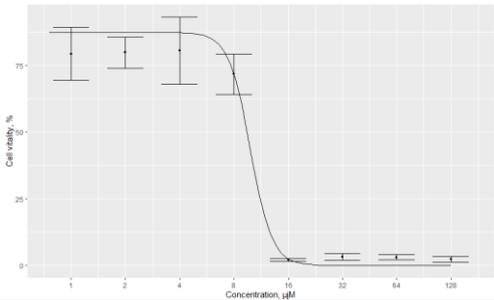
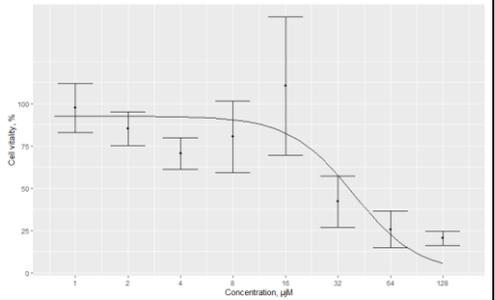
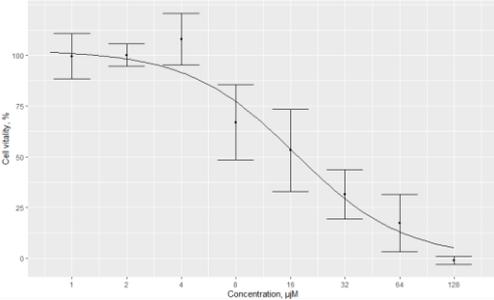
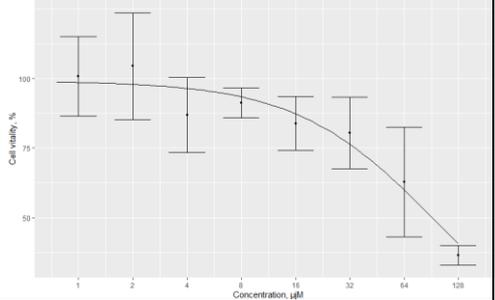
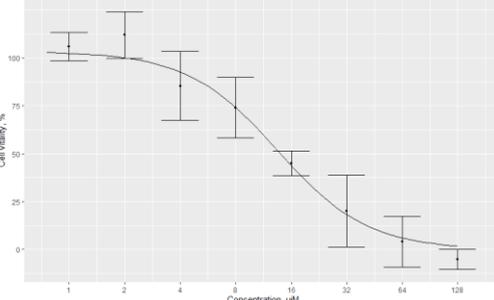
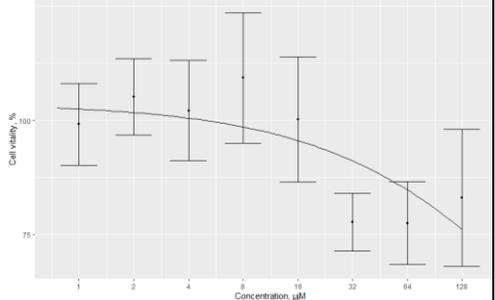
Соединение	Молярная масса, г/моль	Полное название	Структура
SAF-08	590,03	Хлор-платиновый (II) комплекс 6-(4-((2-этилгексил)оксифенил)-2,2'-бипиридина	
Цисплатин	301,1	(SP-4-2)-диамминдихлороплатина	

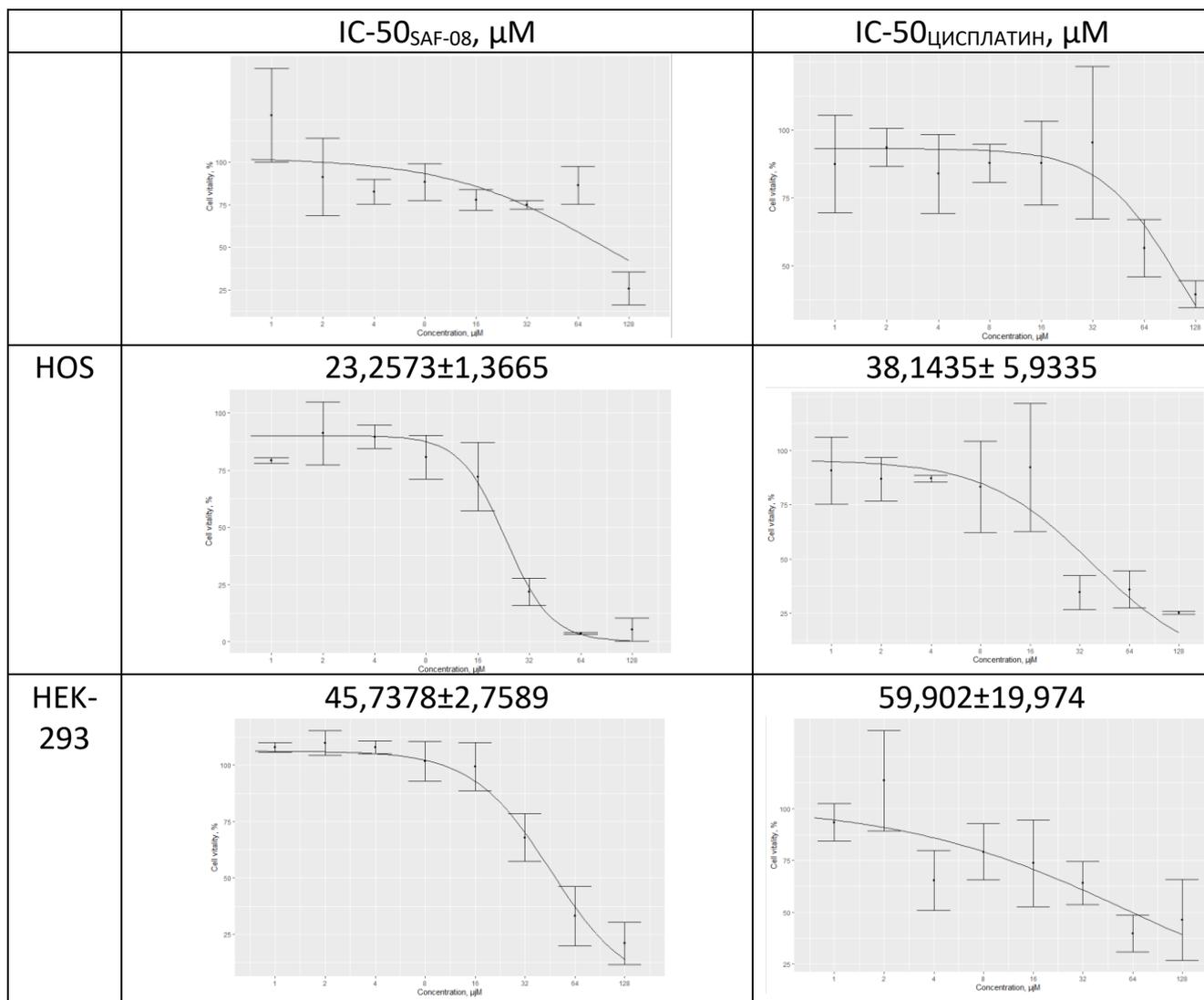
РЕЗУЛЬТАТЫ

Цитотоксический эффект исследовался с помощью МТТ теста. Полученные данные статистически обрабатывались в программе RStudio (Version 0.99.491 – RStudio, Inc.) с использованием пакета R версии 4.1.1. Средняя ингибиторная концентрация (IC-50) рассчитываюсь путем построения кривых «доза-эффект» с помощью пакета «drc» (по оси ординат – % выживаемости, по оси абсцисс – концентрация препарата в лунке). Результаты представлены как «значение IC-50 ± стандартная ошибка» (таблица 2).

Таблица 2

Значение IC-50 после 24 часов инкубации

	IC-50 _{SAF-08} , μM	IC-50 _{ЦИСПЛАТИН} , μM
A172	9,85406±0,82556 	39,5067±6,3879 
T98G	17,0948±2,0085 	92,593±12,991 
HepG 2	13,4866±1,5025 	>128 
A-549	87,109±23,41	99,022±14,023



ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты говорят о более выраженной противоопухолевой активности SAF-08 в сравнении с цисплатином. Данный эффект наблюдается на всех клеточных линиях, используемых в эксперименте. Так, значение IC-50, для SAF-08, полученное на ГБ (линия A172) значительно ниже, чем для цисплатина. Аналогичные выводы можно сделать и по остальным клеточным культурам – ГБ (линия T98G), КП (линия HepG2), КЛ (линия A-549), ОС (линия HOS). Более того, можно отметить избирательность действия препарата SAF-08 в отношении клеток злокачественных новообразований. Об этом говорят отличия в цитотоксическом действии на клеточные линии опухолевых клеток и нормальных (линия HEK-293), поскольку значения IC-50 для злокачественных линий находятся на более низкой отметке, нежели, чем для нормальных клеток (за исключением линии A-549). Это даёт возможность эффективного использования соединения SAF-08, так как позволит применять соединение в такой концентрации, чтобы оно было в достаточной степени эффективно против опухолевых линий, и не чрезмерно токсично для здоровых клеток.

ВЫВОДЫ

В ходе исследования было оценено влияние нового циклоплатинированного комплекса SAF-08 на жизнеспособность культивируемых клеток злокачественных новообразований на примере ГБ, ОС, КП и КЛ человека. В качестве препарата сравнения использовался цисплатин.

Возможно отличие в действии циклоплатинированного комплекса SAF-08 в отношении нормальных клеток и опухолевых клеток различного генеза связано с тем, что исследуемое соединение и цисплатин, хоть оба и являются платиносодержащими соединениями, действуют на клетки по другим механизмам, однако только этих данных еще недостаточно для подтверждения гипотезы. Но, важно отметить, что в литературе при описании структурно похожих соединений было описано, что их противоопухолевое действие действительно обусловлено другими механизмами, чем у цисплатина [6]. Таким образом этот вопрос будет являться целью дальнейших исследований, для получения более точных данных относительно механизма действия, что может в будущем эффективно использовать соединения данного типа против цисплатин-резистентных опухолевых клеток.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Наволокин Н. А. Патоморфоз и механизмы гибели опухолевых клеток в культурах и перевитых опухолях под влиянием флавоноидсодержащих экстрактов – Саратов: ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского. – 2020. – 230 с.
2. Amable L. Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmacological Research*. – 2016; 106: 27-36.
3. Mechanisms of Cisplatin-Induced Ototoxicity and Prevention / Rybak L. P. et al. // *Seminars in hearing*. – 2019; 40(2): 197–204.
4. Яценко Л. Д. Роль препаратов платины в лечении злокачественных опухолей // *Вестник проблем биологии и медицины*. – 2014. – №19(106). – С. 36–39.
5. Measuring self-association of Pt complexes by ¹⁹⁵Pt NMR / Suleymanova A. F., Eltsov O. S., Kozhevnikov, D. N. et al. // *ChemistrySelect*. – 2017; 2: 3353-3355.
6. Monofunctional Platinum(II) Anticancer Agents / Jin S., Guo Y., Guo Z. et. al. // *Pharmaceuticals*. – 2021; 14: 1-23.

Сведения об авторах

М.Д. Тохтуева – инженер-исследователь лаборатории первичного биоскрининга, клеточных и генных технологий ИЦ ХФТ ХТИ УрФУ

Я.Б. Кокшарова – магистрант ХТИ УрФУ

А.Ф. Сулейманова – кандидат химических наук, аспирант-исследователь ХТИ УрФУ

О.С. Ельцов – кандидат химических наук, доцент кафедры ТОС ХТИ УрФУ, заведующий лаборатории КИЭООМ ЦКП УрФУ

В.В. Мелехин – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лаборатории ПБКиГТ

Information about the authors

M.D. Tokhtueva – Research Engineer of the Laboratory of Primary Bioscreening, Cellular and Gene Technologies of the Innovation Center of the Chemical and Pharmaceutical Technologies, Institute of Chemical Technology, UrFU

Ya.B. Koksharova – postgraduate student of Institute of Chemical Technology, UrFU

A.F. Suleymanova – Candidate of Sciences (Chemistry), PostDoctoral researcher of Institute of Chemical Technology, UrFU

O.S. Eltsov – Candidate of Sciences (Chemistry), Associate Professor of the Department of Organic Synthesis Technologies, Head of the Laboratory of Complex Research and Expert Evaluation of Organic Materials

V.V. Melekhin – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Head of the Laboratory of Primary Bioscreening, Cellular and Gene Technologies

УДК: 57(2788)

HELA-КЛЕТКИ: ОСОБЕННОСТИ, ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ

Милана Евгеньевна Трибушная¹, Юлия Евгеньевна Катырева²

^{1,2}ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России,

Екатеринбург, Российская Федерация

¹mtribushnaya@bk.ru

Аннотация

Введение. В статье рассмотрены важные особенности клеток HeLa, их отличия от нормальных клеток, использование в научных исследованиях, а также роль в биологии и медицине. **Цель исследования** - изучить особенности клеток HeLa, их роль в развитии биологии и медицины. **Материалы и методы.** Сравнение, анализ и синтез информации на основе медико-биологических источников и научной литературы по теме. **Результаты.** Был проведен анализ зарубежной научной литературы по теме, сравнение и синтез полученной из источников информации. **Обсуждение.** Выявлены основные особенности клеток HeLa. На основе числовых данных, взятых из зарубежного научно-медицинского источника, составлен график, отражающий зависимость жизнеспособности клеток HeLa от добавления некоторых концентраций экстракта *Eucheuma cottonii*, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 мг/мл соответственно, в течение двух промежутков времени, 24 и 48 часов соответственно. Сделан вывод, что процент жизнеспособности клеток HeLa снижался дозозависимым образом в обоих случаях. **Выводы.** Собранные данные помогли нам определить и оценить индивидуальные особенности клеточной линии HeLa, ее роль для биологии и медицины, а составленный график помог оценить метаболическую активность данной клеточной линии и сделать вывод о высокой устойчивости HeLa.

Ключевые слова: HeLa-клетки, культивирование, теломераза, полиомиелит, COVID-19.

HELA CELLS: FEATURES, SIGNIFICANCE FOR BIOLOGY AND MEDICINE