

ЛЕКЦІЇ

© Л. Д. Яценко

УДК 616-006:615.28

Л. Д. Яценко

ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Национальный институт рака (г. Киев)

Данная работа является фрагментом НИР Национального института рака «Розробити методи підвищення ефективності лікування хворих на злоякісні пухлини органів грудної порожнини III-IV стадій», № государственной регистрации 0103U003014.

Обзор современных научных представлений о природе, механизмах и факторах врожденной и приобретенной лекарственной резистентности злокачественных новообразований человека к противоопухолевым химиопрепаратам, прежде всего к препаратам платины, а также поиск исследований, направленных на уничтожение стойкости раковых клеток и повышения эффективности противоопухолевой химиотерапии.

Приобретенная химио(и радио)резистентность, возрастающая в процессе специфической терапии, от курса к курсу, обусловлена реактивным, индуцибельным усилением функции предсуществующих защитных систем клетки. Чем злокачественнее опухоль, тем менее стабилен генотип ее клеток, тем вероятнее, что мутагенный эффект лучевой и химиотерапии будет способствовать отбору и закреплению более резистентных генотипов. Так, линия клеток рака яичников A2780 чувствительна к цисплатину, тогда как изогенная линия A2780CR, полученная на средах с возрастающими концентрациями цисплатина, в 20-30 раз более резистентна [8].

В обеспечении противоопухолевой химиорезистентности участвуют несколько независимых систем и механизмов. В разных клетках различных опухолей относительный вклад этих механизмов различен. Наиболее изученные системы химиорезистентности – мембранный Р-гликопротеин и группа мембранных кассетных белков множественной лекарственной резистентности (MRP) [11]. Это интегральные белки (Р-гликопротеин – 170 кДа, MRP-1 – 190 кДа), мембранные насосы. Под влиянием введения химиопрепаратов возрастает экспрессия и амплификация (появление до 28 копий) гена Р-гликопротеина, с соответствующим усилением выброса ксенобиотиков из клетки и увеличением химиорезистентности. Семейство белков множественной лекарственной резистентности насчитывает 7 членов. Это АТФ-зависимые мембранные транспортеры органических анионов,

выбрасывающие из клетки как препараты-анионы (метотрексат), так и нейтральные молекулы, координирующие с кислыми лигандами (такими как восстановленный глутатион GSH, глюкуронат, сульфат) или сопровождаемые свободным GSH. MRP-1 обеспечивает устойчивость к препаратам мышьяка, MRP-2 – к цисплатину (оба вещества транспортируются в комплексе с GSH [9, 10]. MRP-3 особенно быстро экспрессируется после введения препаратов платины [9]. MRP-4 обеспечивает высокий уровень устойчивости к нуклеозидным аналогам [8]. MRP-6, экспрессирующийся в печени и почках, участвует в формировании резистентности к натуральным агентам [10]. H⁺-АТФазы – группа протон-транслоцирующих ферментов мембран. Одна субъединица из этой группы – АТРС, индуцируется цисплатином; вызываемое ею увеличение внутриклеточного рН снижает связывание цисплатина с ДНК и, следовательно, его эффективность. Кислый рН усиливает эффект препаратов платины. Некоторые авторы предлагают различать активные механизмы индукции химиорезистентности, увеличивающие плечо на кривой доза-эффект цисплатина, и пассивные (напр., инактивация гена р53), снижающие наклон или терминальное плато на кривой [8]. Интересно и практически важно, что в цисплатин-резистентных клетках (с мутировавшим р53) чувствительность к препаратам таксола парадоксальным образом возрастает, что говорит об известной избирательности механизмов химиорезистентности [17] и подтверждает целесообразность комбинированной терапии с участием обоих препаратов.

Резистентность к препаратам платины и другим химиотерапевтическим средствам связана и с определенными клеточными механизмами. Клеточный стресс, вызванный введением цисплатина, индуцирует ответ в виде сверх-экспрессии металлотioneинов – белков-перехватчиков тяжелых металлов, а также стрессовых белков (белков теплового шока) БТШ27, БТШ70, БТШ60, 90а, 90б. При этом не только возрастает резистентность опухолей, но и ухудшается прогноз, снижается выживаемость больных. Нарушение процессов репарации ДНК в результате блокирования поврежденного участка белками раскручивания относится к числу

важнейших механизмов противоопухолевого действия соединений платины, а резистентность к ним предполагает сохранение репаративной активности. Селекция резистентности к цисплатину в процессе лечения им сопровождается снижением экспрессии гена MMR – одного из генов репарации ДНК. Репарация повреждений ДНК, вызванных алкилирующими и сшивающими агентами, является важным механизмом устойчивости опухолевых клеток к химиопрепаратам. В резистентных к цисплатину клетках репарация его аддуктов с ДНК ускорена вдвое по сравнению с изогенными нерезистентными клетками [15].

Антиапоптозный механизм также играет важную роль в механизме химиорезистентности. Доксорубин-резистентные клетки (нейробласты) продуцируют антиапоптозные факторы, снижающие активность ферментов апоптоза (каспазы-3) и фрагментацию ДНК. Выделены 4 супрессорных антиапоптозных фактора, нарушающих протеиназо -А-регуляторный путь, включенный в механизм апоптоза.

Важнейшим фактором детоксикации и, следовательно, повышения устойчивости клеток к действию цитостатиков является внутриклеточное содержание тиоловых соединений и прежде всего GSH и зависимых от него энзимов, а также металлотионеинов. В уникальной по устойчивости к цисплатину линии клеток A2780cis уровень восстановленного глутатиона в 70 раз выше, чем в клетках исходной линии [19]. Содержание GSH в клетке в норме велико (5-8 мМ) и возрастает по мере формирования резистентности, в то время как по мере озлокачествления клеток содержание тиоловых соединений в них снижается. Из числа GSH-зависимых ферментов важнейшим в механизме химиорезистентности является группа GSH-S-трансфераз, тогда как ингибитор фермента сульфизоксазол сенсibiliзирует цисплатин-резистентные клетки. Наиболее специфичной к препаратам платины является изоформа Пи-трансфераза, тогда как по отношению к 5-фторурацилу большее значение имеет дигидропиримидин-дегидрогеназа. Эти ферменты могут рассматриваться как маркеры резистентности и вероятного роста риска неблагоприятного течения болезни. Препараты, быстро увеличивающие количество окиси азота NO*, способствуют нитрованию тирозиновых остатков в молекулах GSH-S-трансферазы и снижению их активности, что может увеличить результативность противоопухолевой химиотерапии. Участвует в формировании резистентности еще один внутриклеточный тиол – тиоредоксин (пероксиредоксин), он ингибирует, в случае сверх-экспрессии, цисплатин-индуцированный апоптоз и увеличивает выживаемость клеток.

Переход топоизомеразы 11а из ядра в цитоплазму может рассматриваться как биомаркер клеточной лекарственной резистентности. [13] Цитокин IL-6, наряду с регуляцией иммунного и воспалительного ответа, повышает также устойчивость

клеток к химиотерапии. Так, на чувствительной к паклитакселу линии клеток остеосаркомы человека U20S показано, что генетический перенос (трансфекция с помощью вирусного вектора рi RES neo) генов, высокоэкспрессирующих IL-6, увеличил в 7 раз резистентность к этому препарату таксола и в 4 раза – к адриамицину. [12] Причем резистентный фенотип не связан с увеличением уровней MDR-1, MRP или LRP. Таким образом, IL-6 реализует особый механизм повышения лекарственной устойчивости клеток. Поскольку лекарственная устойчивость – основная причина низкой эффективности химиотерапии рака, постольку усилия ученых уже ряд лет направлены на ее преодоление, в первую очередь на устранение (смягчение) эффекта наиболее изученных факторов резистентности – Р-гликопротеина и белков множественной лекарственной устойчивости. Таких ингибиторов получено много, но большинство из них токсичны, усиливают побочные эффекты противоопухолевых препаратов. Поиск селективных, минимально токсичных ингибиторов лекарственной резистентности увенчался определенными успехами. MS-209 – новое производное хинолина, непосредственно взаимодействует с белками множественной резистентности в клетках рака желудка человека с высокой экспрессией MDR. Другой новый нетоксичный препарат, BNP7787, водорастворим, эффективно снижает общую токсичность, нефротоксичность и миелодепрессию, вызываемые препаратами платины, одновременно увеличивая терапевтический эффект цисплатина [16]. Препарат проходит 1 фазу клинических испытаний по схеме: цисплатин 75 мг/м² ± таксол 135 мг/м² ± BNP7787. Incel TM/VX-710 – мощный ингибитор лекарственной резистентности, опосредованной Р-гликопротеином и экспрессией MRP-генов. 34 больных распространенным раком яичников получили более 100 циклов терапии этим препаратом; в высоком проценте достигнуто снижение маркера СА 125. Трициклический изоксазол, аналог природного руфомицина, – селективный модулятор функции MRP-1; он более чем в 1000 раз эффективнее ингибирует MRP-1, по сравнению с Р-гликопротеином. Клиническая перспектива использования препарата бесспорна. Селективная блокада насоса Р-гликопротеина (препарат PSC833) также позволяет снизить дозу препарата с одновременным усилением терапевтического эффекта. В качестве природного фактора преодоления лекарственной устойчивости и повышения противоопухолевого эффекта химиопрепаратов может быть использована all-trans-ретиноевая кислота, одна из форм витамина А. В норме она регулирует рост и дифференциацию клеток эпителия, в опухолях тормозит пролиферацию и индуцирует апоптоз. В комбинации с химиопрепаратами ретиноевая кислота (10 мкМ) усиливает их эффект на линиях раковых клеток [14], резистентных к 5-фторурацилу, адриамицину и цисплатину, существенно увеличивая гибель клеток. Аналогичный эффект

достигается в отношении раков головы и шеи человека, резистентных к лучевой терапии. Комбинация ингибитора Р-гликопротеина PSC833 с антисмысловым Вc1-2 олигодезоксинуклеотидом позволяет преодолеть резистентность к доксорубину.

Таким образом, задача преодоления лекарственной устойчивости опухолей благодаря ингибированию функции мембранных насосов Р-гликопротеина и MRP-белков становится практически и клинически осуществимой.

Литература

1. Тодор І. М. Вплив доксорубіну в ліпосомальній формі на пухлини з фенотипом медикаментозної резистентності / І. М. Тодор, Н. Ю. Лук'янова, Ю. О. Тимовська // Онкологія. Избранные лекции для студентов и врачей. – К.: Здоровье Украины, 2010. – С. 569.
2. Чехун В. Ф. Способ лечения злокачественных опухолей, резистентных к химиотерапии / В. Ф. Чехун., Н. Ю. Лукьянова, В. М. Пивнюк [и др.] // Патент на полезную модель № 47929 от 25. 02. 2010.
3. Чехун В. Ф. Способ преодоления резистентности к лекарственному препарату «Доксорубин» / В. Ф. Чехун, Д. Ю. Лукьянова, Д. В. Демаш. [и др.] // Патент на полезную модель №50922 от 25. 06. 2010.
4. Шалимов С. А. Лечение неоперабельных опухолей органов брюшной полости / С. А. Шалимов, Л. В. Кейсевич, А. А. Литвиненко [и др.]. – Киев : Пресса Украины, 1998. – 252 с.
5. Chehun V. F. The lipid content of cisplatin- and doxorubicin-resistant MCF-7 human breast cancer cells / I. N. Todor, N. Yu. Lukyanova. // *Exp. Oncology*. – 2012. – Vol. 34, № 2. – P. 97-100.
6. Chekhun V. F. The role of expression of the components of proteome in the formation of molecular profile of human ovarian carcinoma A2780 cells sensitive and resistant to cisplatin / V. F. Chekhun, N. Yu. Lukyanova, O. V. Yurchenko [et al.] // *Exp. Oncol.* – 2005. – Vol. 27. – P. 191–195.
7. Chekhun V. F. Role of DNA hypomethylation in the development of the resistance to doxorubicin in human MCF-7 breast adenocarcinoma cells / V. F. Chekhun, G. I. Kulik, O. V. Yurchenko [et al.] // *Cancer Letters*. – 2006. – Vol. 231. – P. 87–93.
8. Cheung N. -K. V. Neuroblastoma: developmental biology, cancer genomics and immunotherapy / N. -K. V. Cheung, M. A. Dyer. // *Nature reviews. Cancer*. – 2013. – Vol. 13. – P. 397–411.
9. Davoli T. The Causes and Consequences of Polyploidy in Normal Development and Cancer / T. Davoli // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2011. – Vol. 27. – P. 585–610.
10. DeBartolo J. Predictive Bcl-2 family binding models rooted in experiment or structure / J. DeBartolo, S. Dutta, L. Reich // *Biol.* – 2012. – Vol. 422(1). – P. 124–144.
11. DeBartolo J. Immunoexpression of cell cycle biomarkers in neuroblastoma samples and its correlation with prognostic factors J. Bras / J. DeBartolo, S. Dutta, L. Reich [et al.] // *Patol. Med. Lab.* – 2013. – Vol. 49(1). – P. 57–63.
12. Goldhirsch A. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer / W. C. Wood, A. S. Coates [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2011. – Vol. 8(22). – P. 1736–1747.
13. Holland A. J. Losing balance: the origin and impact of aneuploidy in cancer / A. J. Holland, D. W. Cleveland // *EMBO*. – 2012. – Vol. 13(6). – P. 501–514.
14. Li Y. Apoptotic Cell Death in Neuroblastoma / Y. Li, A. Nakagawara // *Cells*. – 2013. – Vol. 2. – P. 432–459.
15. Liu H. Basal-HER2 phenotype shows poorer survival than basal-like phenotype in hormone receptor-negative invasive breast cancers / H. Liu, Q. Fan, Z. Zhang [et al.] // *Hum. Pathol.* – 2008. – Vol. 2 (39). – P. 167–174.
16. Lukyanova N. Yu. Molecular profile an cell cycle in MCF-7 cells resistant to cisplatin and doxorubicin / N. Yu. Lukyanova // *Exp. Oncology*. – 2012. – Vol. 34, № 2. – P. 97-100.
17. Shi Y. HDM2 impairs Noxa transcription and affects apoptotic cell death in a p53/p73-dependent manner in neuroblastoma / Y. Shi, H. Takenobu, K. Kurata [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2010. – Vol. 46(12). – P. 2324–2334.
18. Speleman F. Neuroblastoma genetics and phenotype: a tale of heterogeneity / F. Speleman, K. De Preter, J. Vandesompele // *Semin. Cancer Biol.* – 2011. – Vol. 21(4). – P. 238–244.
19. Todor I. N. The lipid content of cisplatin- and doxorubicin-resistant MCF-7 human breast cancer cells / I. N. Todor, N. Yu. Lukyanova // *Exp. Oncology*. – 2012. – Vol. 34, № 2. – P. 97-100.
20. Tikhmyanova N. CAS proteins in normal and pathological cell growth control / N. Tikhmyanova, J. L. Little, E. A. Golemis // *Cell Mol. Life Sci.* – 2010. – Vol. 67. – P. 1025–1048.

УДК 616-006:615. 28

ЛІКАРСЬКА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕНЬ

Яценко Л. Д.

Резюме. В статті представлений огляд сучасних наукових уявлень про природу, механізми та фактори природженої та набутої лікарської резистентності злоякісних новоутворень людини до протипухлинних хіміопрепаратів, перш за все до препаратів платини, та пошукових досліджень, спрямованих на подолання стійкості ракових клітин та підвищення ефективності протипухлинної хіміотерапії.

Ключові слова: множинна лікарська резистентність, гени, Р-гликопротеїн, гени та ензими репарації ДНК, глутатіон, глутатіон-S-трансферази, інгібітори.

УДК 616-006:615. 28

ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Яценко Л. Д.

Резюме. В статье представлен обзор современных научных представлений о природе, механизмах и факторах врожденной и приобретенной лекарственной резистентности злокачественных новообразований человека, к противоопухолевым химиопрепаратам, прежде всего к препаратам платины, и поисковым исследованиям, направленным на уничтожение стойкости раковых клеток и повышение эффективности противоопухолевой химиотерапии.

Ключевые слова: множественная лекарственная резистентность, гены, Р-гликопротеин, гены и ферменты репарации ДНК, глутатион, глутатион-S-трансферазы, ингибиторы.

UDC 616-006:615. 28

Drug Resistance of Malignant Neoplasms

Yatsenko L. D.

Abstract. *The purpose of research* was to review the current scientific concepts of the nature, mechanisms and factors of congenital and acquired drug resistance of malignant neoplasms to anticancer chemo drugs, particularly to platinum preparations, as well as finding the studies aimed at the destruction of cancer cells and increase of effectiveness of anticancer chemotherapy.

The acquired chemo (and radio) resistance, increasing during the specific therapy, from course to course, is due to reactive, inducible increase of function of cell's pre-existent protective systems. The more malignant neoplasm is, the less stable is the genotype of its cells, the more probable, that mutagenic effect of radiation- and chemotherapy will facilitate the selection and consolidation of more resistant genotypes. So, the A2780 line of ovarian carcinoma cells is sensitive to cys-platinum, while the A2780CR isogenic strain, obtaining on the mediums with increasing concentrations of cys-platinum, is more resistant by 20-30 times.

Object and methods of research. In providing of antitumor chemo resistance several independent systems and mechanisms are engaged. In different cells of different tumors relative contribution of these mechanisms varies. The most studied systems of chemo resistance are the membrane P-glycoprotein and group of membrane cassette proteins of multidrug resistance (MRP). Resistance to platinum preparations and other chemotherapeutic agents is also connected with specific cell mechanisms.

Antiapoptotic mechanism also plays a significant role in the mechanism of chemo resistance. Doxorubicine-resistant cells (neuroblasts) produce antiapoptotic factors, reducing the activity of apoptosis' enzymes (caspase-3) and DNA fragmentation. Four suppressive antiapoptotic factors, disturbing proteinase-A-regulatory path, included into mechanism of apoptosis, have been determined.

The significant factor of detoxication and, consequently, increase of cells' resistance to cytostatic agents' effect, is intracellular content of thiolic compounds, first and foremost, GSH and dependent enzymes, as well as metallothioneins.

Results of research and their discussion. Since the drug resistance is the major factor of low effectiveness of cancer chemotherapy, as efforts of scientists have been directing into its overcoming, first of all, elimination of effect of the most studied factors of resistance, i. e., P-glycoprotein and proteins of multidrug resistance. Such inhibitors are of great variety, but the majority of them are toxic and increase antitumor drugs side effects. The search for selective, minimum toxic inhibitors of drug resistance was successful. MS-209 agent is the new quinolinic acid derivative, which directly interacts with proteins of multi resistance in the human stomach cancer cells with high expression of MDR. Another new BNP7787 non-toxic preparation is water soluble and effectively decreases total toxicity, renal toxicity and myelodepression, caused by platinum preparations, simultaneously increasing therapeutic effect of cys-platinum, allowing overcoming resistance to doxorubicine.

Conclusions. Thus, the task of overcoming the neoplasms' drug resistance due to inhibition of functions of membrane pumps of P-glycoprotein and MRP-proteins is practically and clinically feasible.

Key words: resistance, multidrug resistance, genes, P-glycoprotein, DNA preparation – genes and enzymes, reduced glutathione, glutathione S-reductases, inhibitors.

Стаття надійшла 28. 01. 2014 р.