

*И.В. Аникин¹, Н.В. Гончаров², М.Л. Тындык¹, Н.Г. Войтенко², Г.Б. Плисс¹,
М.А. Забежинский¹, И.Г. Попович¹, В.Н. Анисимов¹*

ВЛИЯНИЕ ФТОРАЦЕТАТА НАТРИЯ И МЕТФОРМИНА НА ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИКЛОФОСФАМИДА НА МОДЕЛИ АУТОХТОННОЙ САРКОМЫ МЫШЕЙ

¹ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург,

²ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им.И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

В предыдущих экспериментах было установлено, что фторацетат натрия (ФАН) тормозит рост рака Эрлиха в режиме монотерапии и усиливает противоопухолевый эффект циклофосфамида (ЦФ) в экспериментах с аутохтонными индуцированными бенз(а)пиреном подкожными опухолями. В данном исследовании сравнение противоопухолевой активности ФАН и метформина показало, что оба вещества не оказывают значимого эффекта в режиме монотерапии, однако усиливают действие ЦФ, увеличивая процент опухолей с неизменившимся или уменьшившимся объемом. Кроме того, ФАН, в отличие от метформина, увеличивает среднюю продолжительность эффекта. Полученные данные дают основания для дальнейшего изучения механизма противоопухолевого эффекта ФАН и поиска эффективных сочетаний с известными противоопухолевыми препаратами.

Ключевые слова: фторацетат натрия, метформин, противоопухолевая активность, индуцированные саркомы, мыши

Действие большинства противоопухолевых препаратов направлено на подавление синтеза ДНК, однако энергетика и метаболизм клеток также могут служить мишенями для антинеопластиков. Исследование механизма токсического действия фторацетата — метаболического яда, избирательно ингибирующего аконитазу, тормозящего дыхание и анаболические процессы, — послужило основанием для проведения исследований его противоопухолевой активности. Фторацетат натрия (ФАН) вызывает дисбаланс ионов в клетках, осмотический дисбаланс и дефицит АТФ вследствие блокады митохондриальной аконитазы; накапливающийся цитрат хелатирует кальций, блокирует фосфофруктокиназу и, как следствие, гликолиз [5, 6]. Исследования противоопухолевой активности фторацетата на разных линиях перевиваемых опухолей [7]

показали способность фторацетата при ежедневном внутрибрюшинном введении в дозе 2 мг/кг в течение 17 дней тормозить рост аденокарциномы 755 у мышей С57BL. Другие линии опухолей оказались устойчивы к действию фторацетата. В экспериментах *in vitro* нами было показано влияние ФАН на уровень пиридиновых нуклеотидов в митохондриях, мембранный потенциал и гомеостаз кальция в клетках эндотелия и асцитной карциномы Эрлиха [2, 9]. Затем в экспериментах *in vivo* было установлено, что ФАН тормозит рост солидного рака Эрлиха, а в экспериментах с аутохтонными индуцированными бенз(а)пиреном подкожными опухолями ФАН усиливал противоопухолевый эффект циклофосфамида (ЦФ), статистически значимо повышая количество опухолей с неизменившимся или уменьшившимся объемом и продолжительность этого эффекта [1].

Цель настоящей работы состояла в дальнейшем исследовании действия ФАН и метформина, известного антидиабетического препарата с выраженным антиканцерогенным эффектом [3, 4, 8], а также нестабильным (от стимуляции к торможению новообразований [4]) влиянием на рост канцероген-индуцированных новообразований *in vivo*, путем проведения сравнительного анализа противоопухолевой активности ФАН и метформина, а также их влияния на эффект циклофосфамида.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на 68 мышах-самках SHR возрастом 2–3 месяца, разводка которых поддерживается в ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Животных содержали в стандартных пластмассовых клетках типа Т2 при температуре 21–23°C и световом режиме 12 ч свет — 12 ч темнота (12С:12Т). Мыши получали стандартный гранулированный корм («Лабораторкорм», Москва) и воду без ограничения.

Индукцию сарком у мышей бенз(а)пиреном (Fluka, Швейцария) проводили согласно общепринятой методике введением 2 мг канцерогена в 0,2 мл растительного

Таблица

Влияние циклофосфида, ФАН и метформина на рост индуцированных сарком у мышей.

Группа №	Воздействие	Количество животных	Количество и % опухолей с неизменившимся или уменьшившимся объемом	Средняя продолжительность эффекта, недели
1	Контроль, физраствор 0,2 мл 1 раз	9	0	—
2	Циклофосфамид 200 мг/кг, 1 раз	10	4 (40 %)	1,25 ± 0,50
3	Метформин 120 мг/кг с питьевой водой	10	2 (20 %)	1,0
4	ФАН 2 мг/кг с питьевой водой	8	0	—
5	Циклофосфамид 200 мг/кг, 1 раз + ФАН 2 мг/кг с питьевой водой	11	10 (91 %) **	1,64 ± 0,50
6	Циклофосфамид 200 мг/кг, 1 раз + метформин 120 мг/кг	10	8 (80 %) *	1,22 ± 0,44
7	Циклофосфамид 200 мг/кг, 1 раз + ФАН 2 мг/кг + метформин 120 мг/кг с питьевой водой	10	8 (80 %) *	1,0 ± 0,0

*(**) — отличие от группы ЦФ статистически значимо, $p < 0,05$ ($p < 0,01$)

масла под кожу правого бока. По мере появления опухолей и достижения ими размера около 10 мм в диаметре (в среднем через 2,5 месяца после введения канцерогена) животных распределяли на контрольную и 6 подопытных групп (табл.).

В отличие от предыдущих экспериментов *in vivo* [1], животные с аутохтонными опухолями получали ФАН ежедневно с питьевой водой, аналогичным образом животные получали метформин. Циклофосфамид (Endoxan, Baxter, Германия) вводили внутривенно, фторацетат натрия (Chem Service Inc., США) и метформин (1,1-Dimethylbiguanide hydrochloride, MB Biomedicals, Франция) — с питьевой водой, режим введения указан в таблице.

Реакцию каждой опухоли на препарат оценивали индивидуально по объему опухолей. Измерение объема проводили один раз в неделю. При этом отмечали процент новообразований, объем которых оставался равен исходному или становился меньше. Объем опухоли рассчитывали по формуле: $V = (a \cdot b^2)/2$, где a — больший, b — меньший линейный размер узла. Измерения проводили один раз в неделю. Эффективность терапии оценивали по проценту новообразований, объем которых оставался равен исходному или становился меньше.

При статистическом анализе полученных данных для сравнения объемов опухоли у животных нескольких групп использовали однофакторный дисперсионный анализ, для сравнения числа животных с замедлением роста опухоли — точный критерий Фишера.

Результаты и обсуждение

Результаты тестирования влияния препаратов на рост индуцированных бенз(а)пиреном сарком представлены в таблице.

В группе 2, получавшей только циклофосфамид, в группе 3, получавшей только метформин, и в группе 4, получавшей только ФАН, наличие эффекта (уменьшение или стабилизация объема опухоли) статистически достоверно не отличалось от группы без лечения (контроля). Дальнейший анализ эффективности комбинаций ЦФ с ФАН и метформином проводили, сравнивая их с действием ЦФ. Все 3 варианта терапии показали статистически значимо лучший эффект по сравнению с однократным введением ЦФ,

но наиболее выраженное действие оказывала комбинация ЦФ+ФАН. Этот же вариант терапии показал максимальную продолжительность эффекта. Таким образом, комбинация ЦФ и ФАН более эффективна, чем применение одного ЦФ, что дает основания для проведения дальнейших экспериментов, которые должны быть направлены на поиск оптимальных доз и режима введения компонентов противоопухолевой терапии, выявление критериев интоксикации либо эффективности терапии в рамках фармако(токсико)динамических исследований и доклинических испытаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аникин И.В., Гончаров Н.В., Тындык М.Л. и др. Влияние фторацетата натрия на рост солидного рака Эрлиха и аутохтонных сарком мышей // *Вопр. онкол.* — 2013. — Т. 3. — С. 777–780.
2. Зинченко В.П., Гончаров Н.В., Теплова В.В. и др. Изучение взаимосвязи внутриклеточных сигнальных и метаболических путей при ингибировании митохондриальной аконитазы фторацетатом // *Цитология.* — 2007. — Т. 49. — № 12. — С. 1041–1050.
3. Anisimov V.N. Metformin and rapamycin are master-keys for understanding the relationship between cell senescent, aging and cancer // *Aging (Albany NY).* — 2013. — Vol. 5. — N. 5. — P. 337–338.
4. Anisimov V.N., Bartke A. The key role of growth hormone–insulin–IGF-1 signaling in aging and cancer // *Critical Reviews in Oncology / Hematology.* — 2013. — Vol. 87. — P. 201–203.
5. Goncharov N.V., Jenkins R.O., Radilov A.S. Toxicology of fluoroacetate: a review, with possible directions for therapy research // *J. Appl. Toxicol.* — 2006. — Vol. 26. — N. 2. — P. 148–161;
6. Goncharov N., Glashkina L., Savelieva E. et al. Fluoroacetate // *Handbook of the Toxicology of Chemical Warfare Agents.* Elsevier Inc. — Oxford. — 2009. — P. 177–198.
7. Dietrich L.S., Shapiro D.M. Fluoroacetate and fluorocitrate antagonism of tumor growth; effect of these compounds on citrate metabolism in normal and neoplastic tissue // *Cancer Res.* — 1956. — Vol. 16. — N. 7. — P. 585–588.

8. Kirpichnikov D., McFarlane S.I., Sowers J.R. Metformin: an update // *Ann. Intern. Med.* — 2002. — Vol. 137. — P. 25–33;
9. Zinchenko V.P., Goncharov N.V., Teplova V.V. et al. Polarographic and spectroscopic studies of the effects of fluoroacetate / fluorocitrate on cells and mitochondria // *Spectroscopy Int. J.* — 2007. — Vol. 21. — P. 121–134.

*I.V. Anikin¹, N.V. Goncharov², M.L. Tyndyk¹,
N.G. Voitenko², G.B. Pliss¹, M.A. Zabezhinsky¹,
I.G. Popovich¹, V.N. Anisimov¹*

**THE EFFECT OF SODIUM
FLUOROACETATE AND METFORMIN
ON THE ANTITUMOR ACTIVITY
OF CYCLOPHOSPHAMIDE
ON THE AUTOCHTHONOUS MICE
SARCOMA MODEL**

¹N.N. Petrov Research Institute of Oncology
²I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology
and Biochemistry, St. Petersburg

Previously it was found that sodium fluoroacetate (SF) inhibited the growth of the Ehrlich cancer by means of monotherapy and enhanced the antitumor effect of cyclophosphamide (CP) in experiments with autochthonous subcutaneous tumors induced by benzo (a) pyrene. In this study a comparison of the antitumor activity of SF and metformin showed that both substances did not have significant effect in monotherapy but enhanced the effect of CP, increasing the percentage of tumors with the same or reduced volume. Besides, SF, unlike metformin increased the average duration of effect. The data obtained promoted further study of the mechanism of the antitumor effect of SF and the search effective combination with already known antitumor drugs.

Key words: sodium fluoroacetate, metformin, antitumor activity, induced sarcoma, mice

Поступила в редакцию 22.10.2013 г.