УДК 615.277.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИМЕР-ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ПРОСПИДИН У КРЫС С ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ГЕПАТОМОЙ ЗАЙДЕЛА

Пятаев Н.А.[1], Кладиев А.А.[2], Кокорев А.В.[1], Минаева О.В.[1], Зырняева Н.Н.[1], Столяров Г.С.[1], Фирсов А.А.[1], Саушев И.В.[1], Фирстов С.А.[1], Евсеев Р.М.[1]

[1] ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарёва», Саранск, Россия (430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68), e-mail: dep-general@adm.mrsu.ru
[2] ООО «Биотехнологическая компания ТНК», (119815, г. Москва, ул. Зубовская, 7), e-mail: prospidin@yandex.ru

Исследована противоопухолевая активность двух форм Проспидина (водорастворимой и иммобилизованной на фосфате декстрана) у крыс с трансплантированной гепатомой Зайдела. В качестве маркеров эффективности и токсичности использовались следующие показатели: увеличение продолжительности жизни животных, абсолютная и относительная масса асцитической жидкости, содержание клеток гепатомы в асците, клеточный состав периферической крови и биохимические параметры крови. Установлено, что проспидин оказывает дозозависимый противоопухолевый эффект, причем оптимальной дозой как растворимого проспидина, так и проспидин-гидрогеля является доза в 450 мг/кг. Противоопухолевая активность проспидина, конъюгированного с фосфатом декстрана, превосходит таковую для растворимого препарата в 2-3 раза. Типичными побочными эффектами растворимого проспидина при введении в дозе 1350 мг/кг являются угнетение кроветворения и гепато- и нефропатия, а проспидин-гидрогеля – энтероколит и кишечная непроходимость.

Ключевые слова: проспидин, фосфат декстрана, асцитная гепатома Зайдела, внутриполостная химиотерапия.

STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF POLYMER-CONJUGATED FORM OF ANTICANCER DRUG PROSPIDIN IN RATS WITH TRANSPLANTED SEIDEL'S HEPATOMA

Pyataev N.A.[1], Kladiev A.A.[2], Kokorev A.V.[1], Minaeva O.V.[1], Zyrnyaeva N.N.[1], Stolyarov G.S.[1], Firstov A.A.[1], Saushev I.V.[1], Firstov S.A.[1], Evseev R.M.[1]

[1]Mordovia State University (68 Bolshevistskaya Str., Saransk 430005, Mordovia, Russia), e-mail: dep-general@adm.mrsu.ru
[2]Biotechnological company TNK (7 Zubovskaya Str., Moscow 430005, Russia), e-mail: prospidin@yandex.ru

Antitumor activity of Prospidin in two forms (soluble and conjugated with dextran phosphate) in rats with transplanted Seidel's hepatoma was investigated. The following indicators was used as markers of efficiency and toxicity: increase in lifetime, the absolute and relative weight of ascites, amount of hepatoma cells in ascites, complete blood count and biochemical parameters of blood. Prospidin was found to have dose-dependent antitumor effect. The optimal dose for soluble prospidina and prospidin-hydrogel is 450 mg/kg. Antitumor activity of Prospidin conjugated with dextran phosphate is 2-3 times higher than the same parameter of soluble drug. Side effects of Prospidin were noticeable starting from a dose of 1350 mg/kg. Leukopenia, thrombocytopenia, hepatosis and nephropathy were typical for soluble Prospidin. Enterocolitis or ileus were frequent side effects for Prospidin-hydrogel.

Keywords: prospidin, dextran phosphate, ascitic Seidel's hepatoma.

Введение

Лечение опухолей серозных полостей (как первичных, так и метастатических) является одной из наиболее сложных проблем онкологии. Это связано как с клиническими особенностями данного вида опухолей, так и со спецификой их реакции на химиотерапию. Как правило, опухолевое поражение серозных оболочек вызывает быстрое накопление жидкости в соответствующей полости, которое, несмотря на относительно небольшое число опухолевых клеток, вызывает органную дисфункцию и выраженные белковые потери [6]. Возмож-

ности системной химиотерапии при данном виде патологии существенно ограниченны, поскольку большинство химиопрепаратов при внутривенном введении плохо проникают в выпот [6; 9]. Основным методом лечения остается внутриполостное введение химиопрепаратов – (внутриполостная химиотерапия – ВПХТ). Одной из главных проблем внутриполостной химиотерапии является быстрое всасывание лекарства в системный кровоток. Решением данной проблемы может стать создание препаратов, конъюгированных с макромолекулами, обеспечивающими постепенное замедленное высвобождение действующего вещества. В настоящее время целый ряд подобных препаратов уже проходит клинические испытания (нанодисперсные и конъюгированные с полимерами формы паклитаксела, митомицина, 5-фторурацила и др. [10-12]). Еще большее количество композиций находятся на стадии доклинических исследований. Основной особенностью наноструктурированных препаратов является замедленное высвобождение действующего компонента. Это позволяет, во-первых, значительно увеличить концентрацию и пролонгировать время нахождения препарата в очаге, а во-вторых – избежать резких подъемов плазменной концентрации, которые являются причиной многих побочных эффектов [5]. Одним из перспективных препаратов данного класса, является, на наш взгляд, Проспидин-гидрогель (совместная разработка НИИ Физико-химических проблем БГУ, Минск, и ООО «Биотехнологическая компания ТНК», Москва [1; 8]. Он представляет собой иммобилизованную на фосфате декстрана форму проспидина. Проспидин-гидрогель обладает оптимальным для ВПХТ набором свойств благодаря особенностям образующих компонентов.

Действующее вещество композиции – противоопухолевый препарат проспидин (γ-хлор-β-оксипропил-N, N´´ диспиротрипиперазиния дихлорид). Проспидин относится к алкилирующим соединениям, основной механизм действия которых связан с взаимодействием с молекулой ДНК и/или РНК. Особенностью противоопухолевого действия проспидина является то, что он не вызывает токсической деструкции клеток. Препарат проспидин используется для лечения большого количества опухолей различных локализаций, хотя и демонстрирует разную степень активности. Последнее связано с особенностью фармакокинетики препарата. При парентеральном ведении препарат метаболизируется в печени с образованием неактивных метаболитов. Кроме того, быстрое выведение субстанции проспидина из организма с мочой препятствует достижению его максимального лечебного действия.

В качестве носителя использован фосфат декстрана (ФД) – производное декстрана, в котором путем этерификации часть гидроксильных групп полисахарида замещена фосфорнокислыми группами. ФД содержит функциональные группы ($PO(OH)_2$, $CO(NH)_2)_2$, способные связывать проспидин путем ионных и донорно-акцепторных взаимодействий. Молекулярная масса фосфата декстрана составляет около 60 кД, что обеспечивает длительную

циркуляцию готового лекарственного препарата в кровяном русле и постепенное высвобождение конъюгированной с полимером действующей субстанции. Преимуществами ФД с медицинской точки зрения являются его полная биосовместимость, низкая токсичность и отсутствие антигенных свойств.

Работы, в которых исследована эффективность проспидин-гидрогеля, на сегодняшний день единичны [2; 3], поэтому имеется потребность в более подробном изучении данного препарата (в частности, оценки влияния на различные показатели гомеостаза, механизм развития побочных эффектов и т.д.). Решение этих вопросов и стало основным содержанием настоящей работы.

Цель работы: исследование противоопухолевой активности и системной токсичности проспидина, конъюгированного с фосфатом декстрана, в сравнении с водорастворимой формой препарата.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 140 белых лабораторных крысах массой 190-230 г. Штамм гепатомы перевивали путем внутрибрюшинной инъекции 0,5 мл нативной асцитической жидкости, полученной от животного-опухоленосителя на 5-е сутки после перевивки. В исследовании использованы препараты: Проспидин (ФГУП «Микроген», Россия) и Проспидин-гидрогель (НИИ Физико-химических проблем БГУ, Белоруссия). Препараты вводили внутрибрюшинно через 24 часа после перевивки опухоли. Для каждого из препаратов исследована эффективность трех дозировок: 150, 450 и 1350 мг/кг. Оценка эффективности и безопасности препаратов проводилась в 2-х сериях экспериментов. В серии А животных наблюдали в течение 30 дней либо до момента гибели, в серии В – в течение 5 суток. У животных в серии А оценивали: общую летальность, летальность от прогрессирования опухоли, частоту полного излечения, продолжительность жизни павших животных. У животных в серии В исследовали характеристики асцитической жидкости, а также морфологические и биохимические показатели периферической крови. Для асцитической жидкости определяли: объем, индекс массы асцита (отношение массы асцита к массе тела животного, выраженное в процентах), число клеток гепатомы в единице объема асцита, концентрацию общего белка, количество эритроцитов и лейкоцитов. Анализ периферической крови включал в себя следующие показатели: количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, гемоглобин. Анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе ABX Micros 60 (Horiba ABX Diagnostics Inc, France). Биохимический анализ крови включал определение общего белка, глюкозы, мочевины, креатинина, билирубина, аланиновой и аспарагиновой трансаминаз (АлТ и АсТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ). Биохимические показатели определяли на анализаторе Humalyzer 3000 (Human GmbH, Германия).

Схема рандомизации животных представлена в таблице 1.

Таблица 1.
Принципы рандомизации экспериментальных животных

Серия	Продолжительность наблюдения	Группа	N	Доза препарата
A	30 суток либо до момента летального исхода	Контроль (A)	10	-
B	5 суток	Контроль (B)	10	-
A	30 суток либо до момента летального исхода	1a	10	150
		2a	10	450
		3a	10	1350
B	5 суток	1b	10	150
		2b	10	450
		3b	10	1350
A	30 суток либо до момента летального исхода	4a	10	150
		5a	10	450
		6a	10	1350
B	5 суток	4b	10	150
		5b	10	450
		6b	10	1350

Результаты исследования обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента и критерия Хи-квадрат. Различия сравниваемых показателей считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования противоопухолевой активности проспидина представлены в таблицах 2 и 3. При их анализе установлено, что проспидин оказывал дозозависимый противоопухолевый эффект, причем эффективность «чистой» и наноструктурированной форм препарата существенно различалась.

Таблица 2.
Показатели эффективности химиотерапии (серия A)

Показатель	Значение показателя в группах						
	Контроль	1a	2a	3a	4a	5a	6a
Летальность общая, %	100	100	60 [1]	60 [1]	70	30 [1, 2]	70
Летальность от прогрессирования опу-	100	100	60 [1]	30 [1]	70	30 [1, 2]	0 [1, 2]

холи, %							
Выживаемость, %	0	0	40 [1]	40 [1]	30 [2]	70 [1, 2]	30 [1]
Частота элиминации опухоли, %	0	0	40 [1]	70 [1]	30 [2]	70 [1, 2]	70 [1]
Продолжительность жизни умерших животных, дни	5,6 ± 0,3	7,9 ± 0,6 [1]	14,5 ± 0,9 [1]	7,4 ± 1,1	9,1 ± 0,5 [1]	17,7 ± 0,1 [1]	3,9 ± 0,3 [2]

Примечание: [1] – показатель достоверно отличается от аналогичного в контрольной группе; [2] – достоверное отличие показателя в группе, получавшей проспидин-гидрогель, от такового в группе, получавшей эквивалентную дозу водорастворимого препарата

Таблица 3.
Характеристика асцитической жидкости на фоне различных схем химиотерапии (серия В)

Показатель	Значение показателей в группах						
	Контроль	Проспидин (водный раствор)			Проспидин-гидрогель		
		1b	2b	3b	4b	5b	6b
Доза препарата, мг/кг	-	*150*	*450*	*1350*	*150*	*450*	*1350*
Частота развития опухоли, %	100	100	70	40	70	30	10
Летальность, %	-	-	-	20	-	-	60
Объем асцита, мл	34,7± 4,4	22,8± 3,1 [1]	16,3± 2,2[1]	8,4± 1,0 [1]	17,4± 1,2 [1]	3,2± 0,5 [1, 2]	4,6
Индекс массы асцитической жидкости, %	16,7± 2,1	11,6± 1,2	8,0± 1,1 [1]	4,2± 0,51 [1]	8,4± 0,5 [1, 2]	1,7± 0,2 [1, 2]	2,2
Количество опухолевых клеток, $x10^9$ /л	4,61± 0,84	2,3± 0,16[1]	0,91± 0,12[1]	0,11± 0,03[1]	1,1± 0,2[1,2]	0,042± 0,003[1,2]	0,011
Общее количество клеток в асцитич. жидкости, $x10^{10}$ /л	1,32± 0,22	0,65± 0,04[1]	0,22± 0,01[1]	0,09± 0,01	0,13± 0,02[1,2]	0,05± 0,007[1,2]	0,06
Белок, г/л	7,91± 0,42	4,82± 0,35[1]	2,23± 0,17[1]	1,45± 0,21[1]	1,71± 0,13[1,2]	1,42± 0,06[1,2]	1,5

Примечание: 1 – показатель достоверно отличается от аналогичного в контрольной группе; 2 – достоверное отличие показателя в группе, получавшей проспидин-гидрогель, от такового в группе, получавшей эквивалентную дозу водорастворимого препарата

При введении водного раствора проспидина в дозе 150 мг/кг антибластомная эффективность была относительно низкой. В серии А экспериментов (наблюдение до момента гибели или выздоровления) ни у одного из животных препарат не прерывал развитие гепатомы (летальность в группе составила 100%), но тормозил ее прогрессирование. Продолжительность жизни животных увеличилась в 1,4 раза по сравнению с контролем. Причиной смерти всех животных стало прогрессирование опухоли. В серии В экспериментов (наблюдение в

течение 5 суток) также отмечена 100%-ная приживаемость опухоли. Однако объем асцитической жидкости и количество опухолевых клеток в единице объема асцита были достоверно ниже, чем в контроле (на 34 и 50% соответственно). По другим исследованным показателям асцитическая жидкость в данной группе не отличалась от таковой в контроле.

Доза проспидина в 450 мг/кг по противоопухолевому эффекту значимо превосходила вышеописанную. В серии А выжило 4 из 10 (40%) животных. Продолжительность жизни павших животных была на 84% выше, чем в 1-й опытной, и на 159% выше, чем в контрольной группе. Причиной смерти всех животных, так же как и в 1-й опытной группе, стало прогрессирование гепатомы. В серии В экспериментов опухоль развилась у 7 из 10 животных. У опухоленосителей степень развития гепатомы была достоверно меньшей по сравнению с нелеченными животными и животными, получавшими препарат в дозе 150 мг/кг. Число опухолевых клеток в единице объема асцита составило 20% от такового в контроле и 40% от аналогичного показателя 1-й опытной группы. Регистрировались также достоверно более низкие показатели объема асцитической жидкости и содержания белка в ней.

Введение проспидина в дозе 1350 мг/кг обеспечивало выраженный противоопухолевый эффект, но вместе с тем сопровождалось побочными и токсическими реакциями. У животных I серии летальность, как и при введении препарата в дозе 450 мг/кг, составила 60%, однако опухоль была обнаружена только у 3 из 6 умерших крыс. Причиной смерти 3 животных явилось общетоксическое действие препарата. Продолжительность жизни умерших крыс в данной группе была выше, чем в контрольной, но ниже, чем в 1-й и 2-й опытных группах. Уменьшение продолжительности жизни было связано с ранней гибелью животных, павших от интоксикации (все три крысы погибли на 2-е сутки после введения препарата). При использовании дозы 1350 мг летальные исходы отмечались и в серии В эксперимента. Как и в серии А, у погибших животных не было обнаружено признаков роста гепатомы. Среди выживших опухоль была выявлена у 4 крыс. В описываемой группе степень развития опухоли на момент выведения животных из эксперимента была наименьшей. Число клеток гепатомы в асцитической жидкости почти на порядок ниже, чем в 1-й и 2-й опытной группах, и более чем в 40 раз ниже по сравнению с контролем. Объем асцита составил 22, 37 и 52% по отношению к контрольной, 1-й и 2-й опытным группам соответственно.

Эквивалентные дозы проспидин-гидрогеля оказывали более выраженный противоопухолевый эффект по сравнению с водорастворимым препаратом.

У животных, получавших проспидин-гидрогель в дозе 150 мг/кг, в серии А экспериментов в 30% случаев было зарегистрировано полное излечение. Продолжительность жизни особей с прижившейся опухолью была выше, чем контроле, но лишь ненамного превосходила аналогичный показатель в группе с эквивалентной дозой чистого проспидина (9,1±0,5,

5,6±0,3 и 7,9±0,6 соответственно). По другим показателям существенных различий между 1b и 4b опытными группами зарегистрировано не было.

Доза проспидин-гидрогеля в 450 мг/кг оказалась наиболее эффективной и безопасной. В серии А экспериментов летальность составила 30% (против 60% в группе с аналогичной дозой чистого проспидина). Продолжительность жизни носителей опухоли составила 17,7±0,6 сут., что на 22% выше, чем у животных 2а опытной группы. В серии В эксперимента летальных исходов не отмечалось, опухоль развилась у 4 из 10 крыс. Степень развития гепатомы была значительно меньшей, чем во 2-й опытной группе, и близка к таковой в 3-й контрольной группе (чистый проспидин в дозе 600 мг/кг). Так, количество клеток гепатомы в асцитической жидкости составило 0,042±0,003 х 10^9/л (1% и 5% от значений аналогичного показателя в контроле и в группе, получавшей эквивалентную дозу водного раствора проспидина соответственно).

В 6-й опытной группе (проспидин/гидрогель в дозе 1350 мг/кг) регистрировалась наиболее высокая летальность. В серии А экспериментов погибло 7 из 10 крыс. Все они пали на 2–3 сутки после введения препарата при явлениях энтероколита либо кишечной непроходимости. У животных отмечалась вялость, адинамия, рвота, отказ от воды и пищи. На секции в брюшной полости обнаружены инфицированные остатки коллоида проспидина и гиперемированные раздутые петли кишечника. Признаков роста гепатомы не выявлено. У выживших животных также не обнаружено признаков опухолевого роста. Во серии В пало 6 крыс, причем механизм наступления смерти был аналогичен таковому в серии А. Из 4 животных, доживших до окончания эксперимента, гепатома развилась лишь у одного.

Таким образом, проведенные исследования продемонстрировали, что противоопухолевый эффект проспидина возрастает с увеличением дозы от 150 до 1350 мг/кг. При этом доза 150 мг/кг наименее эффективна с точки зрения подавления развития гепатомы, а доза 1350 мг/кг сопровождается общетоксическими реакциями, которые сами по себе могут служить причиной летальных исходов. Оптимальной по соотношению эффективность/токсичность является доза проспидина 450 мг/кг.

Проспидин-гидрогель, вводимый внутрибрюшинно через 24 часа после перевивки АГЗ, оказывает более выраженный ингибирующий эффект на рост гепатомы по сравнению с «чистым» препаратом. Эквивалентная по эффективности доза наноструктурированной формы препарата приблизительно в 2 раза ниже аналогичной дозы чистого проспидина. Доза препарата, обеспечивающая наиболее высокую опухоль-ингибирующую активность при наименьшем количестве побочных реакций, составляет 450 мг/кг. Увеличение дозы до 1350 мг/кг приводит к развитию специфических осложнений, обусловленных неполной резорбци-

ей коллоида из брюшной полости, – кишечной непроходимости и энтероколита. Эти осложнения развиваются в 60-70% случаев после введения препарата и заканчивается летально.

Результаты исследования влияния различных доз проспидина на клеточный состав и биохимические показатели периферической крови приведены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4.

Морфологические показатели периферической крови животных (серия В)

Показатель	Этап исследования	Значение показателей в группах						
		Контроль	Проспидин (водный раствор)			Проспидин-гидрогель		
			1b	2b	3b	4b	5b	6b
Доза препарата, мг/кг		-	150	450	1350	150	450	1350
Гемоглобин	До перевивки	149±4,3	141±3,0	145±4,0	139±3,0	152±7,0	144±6,0	147±7,0
	5 сут	**121±5,0**	133±5,0	137±5,0	129±5,0	141±6,0	140±6,0	142±4,0
Гематокрит	До перевивки	41,7±2,0	40,7±3,1	42,3±2,2	37,9±4,1	46,2±3,6	41,5±2,8	42,1±3,2
	5 сут	36,1±3,2	38,1±3,2	40,1±2,6	35,8±3,9	40,5±4,2	39,6±3,1	41,7±3,5
Эритроциты	До перевивки	6,1±0,3	5,8±0,4	5,9±0,5	5,4±0,4	6,3±0,7	5,4±0,6	5,6±0,4
	5 сут	5,3±0,3	5,4±0,5	5,7±0,5	5,1±0,3	6,2±0,5	5,2±0,6	5,3±0,5
Лейкоциты	До перевивки	14,5±3,1	16,8±1,3	17,3±2,1	15,2±1,9	16,5±0,9	15,4±1,1	17,1±2,0
	5 сут	20,4±3,3	15,3±0,9	**10,8±0,8**	**4,7±0,7**	15,4±1,4	**11,3±1,2**	**9,4±1,1**
Тромбоциты	До перевивки	334±12	296±10	324±13	319±11	329±14	318±12	323±11
	5 сут	302±11	288±12	**251±11**	**121±14**	309±9	293±13	**207±14**

Примечание: жирным шрифтом выделены показатели, достоверно ($p<0,05$) отличающиеся от аналогичных на исходном этапе (внутри группы).

Таблица 5.

Биохимические показатели периферической крови животных (серия В)

Показатель	Этап исследования	Значение показателей в группах						
		Контроль	Проспидин (водный раствор)			Проспидин-гидрогель		
			1b	2b	3b	4b	5b	6b
Доза препарата, мг/кг		-	150	450	1350	150	450	1350

Общий белок	До лечения	**89±7,1**	81±4,0	82±3,0	90±5,0	84,7±3,9	88,5±4,0	85±5,0
	5 сут	**64±7,3**	73±3,0	76±4,0	84±7,0	79,3±4,0	80,9±7,0	76,5±1,3
Глюкоза	До лечения	4,7±0,35	3,9±0,2	4,2±0,3	4,6±0,4	5,1±0,42	4,3±0,3	4,6±0,4
	5 сут	4,2±0,38	3,9±0,3	4,3±0,4	4,2±0,3	5,0±0,4	5,1±0,3	4,9±0,4
Креатинин	До лечения	0,061± 0,007	0,058± 0,009	0,067± 0,007	**0,074± 0,008**	0,079± 0,007	0,06± 0,007	0,57± 0,008
	5 сут	0,072± 0,009	0,067± 0,001	0,094± 0,007	**0,152± 0,011**	0,087± 0,008	0,076± 0,008	0,07± 0,007
Билирубин	До лечения	11,3±1,1	14,3±1,0	12,8±2,1	13,4±2,2	**8,82±0,9**	9,54±0,7	14,7±1,1
	5 сут	14,6±1,1	12,9±0,9	15,9±2,0	16,7±2,4	**12,3±0,8**	8,96±0,9	15,1±1,3
АлТ	До лечения	64,5±5,2	71,5±4,9	79,3±4,8	**71,5±6,2**	76,8±5,3	80,3±6,2	79,7±6,0
	5 сут	67,0±5,3	68,7±5,1	82,6±4,9	**125±7,1**	80,5±4,8	87,4±7,0	87,3±5,9
АсТ	До лечения	56,3±5,0	50,4±3,3	62,2±5,2	71,5±5,9	68,6±4,2	74,7±3,9	70,1±5,3
	5 сут	58,1±6,2	57,2±4,2	67,8±5,8	88,7±6,2	70,1±4,7	78,2±4,3	73,1±3,8
ЩФ	До лечения	1100± 120	1262± 99	1174± 104	1192± 116	1118± 96	1241± 104	1301± 107
	5 сут	1180± 84	1238± 107	1216± 109	1236± 101	1098± 72	1295± 116	1316± 129

Примечание: жирным шрифтом выделены показатели, достоверно ($p<0,05$) отличающиеся от аналогичных на исходном этапе (внутри группы).

У нелеченных животных развитие АГЗ приводило к анемии и умеренно выраженному лейкоцитозу. Кроме того, отмечалось снижение общего белка сыворотки. Биохимические показатели, характеризующие функциональное состояние почек (мочевина, креатинин) и печени (билирубин, АлТ, АсТ, щелочная фосфатаза), значимо не изменялись.

У животных, получавших чистый проспидин в дозе 150 мг/кг, достоверных изменений исследованных показателей по сравнению с контрольной группой не зарегистрировано.

При введении проспидина в дозе 450 мг/кг выраженность анемии была меньшей, чем в контрольной и 1b опытной группах. Кроме того, отмечалась тенденция к лейко- и тромбо-

цитопении. Уровень общего белка и биохимические показатели крови оставались в рамках референсных значений.

В группе крыс, получавших проспидин в дозе 1350 мг/кг, лейко- и тромбоцитопения были значительно более выраженными, отмечалось увеличение уровня мочевины, креатинина и АЛТ без достоверного роста билирубина и щелочной фосфатазы.

Проспидин в форме гидрогеля оказывал меньшее влияние на показатели гомеостаза, чем его чистая форма. Кроме того, следует отметить, что в связи меньшей степенью прогрессирования гепатомы явления опухолевой интоксикации у животных 4b-6b групп проявлялись не так ярко, как в группах, получавших чистый препарат. Так, у всех крыс этих групп степень снижения гемоглобина и общего белка составила 5-10% (в группах 4a-6a – 15-20%), а биохимические показатели сыворотки практически не изменялись. Лейкопения и тромбоцитопения регистрировались лишь у выживших крыс в 6b группе и были выражены меньше, чем в группе 6a.

Таким образом, наиболее ранними проявлениями общетоксических эффектов проспидина являются гематологические реакции в виде лейко- и тромбоцитопении, причем эти изменения регистрируются при введении чистого проспидина в дозе 450 мг/кг и проспидин-гидрогеля в дозе 1350 мг/кг. Кроме того, чистый проспидин в дозе 1350 мг/кг вызывает явления нефро- и гепатопатии в виде увеличение уровня мочевины, креатинина и аланиновой трансаминазы.

Полученные результаты согласуются с данными других авторов, продемонстрировавших дозозависимый эффект проспидина при перевиваемых опухолях, а также более высокую активность конъюгированной с фосфатом декстрана формы препарата при внутриполостном введении [2; 3]. Наиболее вероятной причиной повышения эффективности препарата является изменение его кинетики: коллоидный фосфат декстрана замедляет всасывание проспидина в системный кровоток и значительно увеличивает его экспозицию в зоне опухолевого поражения [1]. Вместе с тем увеличение объема коллоидного раствора, вводимого в брюшную полость, выше определенного критического значения вызывает явления энтероколита и кишечной непроходимости, что лимитирует максимальную дозу препарата. Полученные результаты могут служить отправной точкой для разработки режимов дозирования проспидин-гидрогеля при полостных опухолях у человека.

Выводы

1. Проспидин оказывает дозозависимый противоопухолевый эффект при внутрибрюшинном введении у крыс с трансплантированной асцитной гепатомой Зайдела.

2. Проспидин, конъюгированный с фосфатом декстрана, превосходит растворимый препарат в 2-3 раза. Оптимальной дозой как растворимого проспидина, так и проспидин-гидрогеля, является доза в 300 мг/кг.

3. Типичными побочными эффектами растворимого проспидина при введении в дозе 1350 мг/кг являются угнетение кроветворения и гепато- и нефропатия, а проспидин-гидрогеля – энтероколит и кишечная непроходимость. Последние, вероятно, обусловлены местным воздействием комплекса проспидин - фосфат декстрана на органы брюшной полости.

Авторы выражают благодарность профессору Иванову В.А. (НИИ цитологии, Санкт-Петербург) за любезно предоставленный штамм опухоли и помощь в выполнении работы.

Список литературы

1. Бычковский П.П. Создание полимер-лекарственной формы проспидина на основе биодеградирующих гидрогелей / П.П. Бычковский, Т.Л. Юркштович, Н.В. Голуб, В.А. Алиновская, Н.И. Костерова, С.А. Беляев, Е.Н. Александрова, Ю.П. Истомин, Д.В. Шибко, А.А. Кладиев // Тез. Докл. XVI Рос. Национального конгресса «Человек и лекарство». - М., 2010. - С. 629.

2. Бычковский П.П. Противоопухолевая активность гелеобразующего препарата проспидина на модели гепатомы Зайдела / П.П. Бычковский, Т.Л. Юркштович, А.А. Кладиев, М.Ю. Ревтович // Цитология. - 2012. - Т. 54, № 3. - С. 230-235.

3. Кладиев А.А. Противоопухолевая активность иммобилизированного проспидина в эксперименте in vivo / А.А. Кладиев, П.М. Бычковский, М.Ю. Ревтович, Ю.П. Истомин, Е.Н. Александрова, А.И. Шмак, Т.Л. Юркштович, Н.В. Голуб, В.А. Алиновская, Р.И. Костерова, С.О. Соломевич // Онкологический журнал. - 2012. - Т. 6, № 4. - С. 24.

4. Пятаев Н.А. Таргетная фармакотерапия в онкологии / Н.А. Пятаев, К.Г. Гуревич, П.И. Скопин, О.В. Минаева // Медицина критических состояний. - 2010. - № 5. - С. 3-14.

5. Пятаев Н.А. Особенности тканевого распределения и противоопухолевой активности доксорубицина при введении в форме конъюгата с ДНК у крыс с трансплантированной карциномой РС-1 / Н.А. Пятаев, С.А. Щукин, Е.Ю. Коровина, Н.Н. Зырняева // Российский биотерапевтический журнал. - 2011. – Т. 10, № 2. - С. 55-61.

6. Сельчук В.Ю. Опухолевые серозиты: плевриты, асциты, перикардиты / В.Ю. Сельчука, М.Б. Бычков, М.В. Киселевский. - М. : Практическая медицина, 2011.

7. Юркштович Т.Л. Фосфаты крахмала и декстрана: получение и возможность использования в медицинских целях / Т.Л. Юркштович, Н.В. Голуб, Н.И. Костерова, В.А. Алиновская // Тез. Докл. XXI Междунар. науч.-техн. конф. «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии "Реактив 2010"». - Минск, 2010. - С. 42.

8. Юркштович Т.Л. Гидрогелевый противоопухолевый препарат : патент RU № 2442586 с приоритетом от 18.08.2010 / Т.Л. Юркштович, А.А. Кладиев, Н.В. Голуб, П.М. Бычковский, В.А. Алиновская, Р.И. Костерова, С.А. Беляев, С.А. Красный, Е.Н. Александрова, Ю.П. Истомин.

9. Hiddinga B.I. Management of malignant pleural mesothelioma: have we made any progress? / B.I. Hiddinga, V.F. Surmont, J.P. Van Meerbeeck // Panminerva Med. - 2013. - Vol. 55, № 2. - P. 157-173.

10. Ohgaki M. Intraperitoneal chemotherapy against peritoneal carcinomatosis of gastric cancer with activated carbon particles adsorbing mitomycin C for four patients / M. Ohgaki, A. Takenaka, A. Shiomi, H. Chou, K. Takashina, S. Kawakami, Y. Fujita, A. Hagiwara, H. Yamagishi // Gan To Kagaku Ryoho. - 2004. - Vol. 31. - P. 1858-1860.

11. Soma D. Intraperitoneal administration of paclitaxel solubilized with poly(2-methacryloxyethyl phosphorylcholine-co n-butyl methacrylate) for peritoneal dissemination of gastric cancer / D. Soma, J. Kitayama, T. Konno, K. Ishihara, J. Yamada, T. Kamei, H. Ishigami, S. Kaisaki, H. Nagawa // Cancer Sci. - 2009. - Vol. 100. - P. 1979-1985.

12. Wang Y. 5-FU-hydrogel inhibits colorectal peritoneal carcinomatosis and tumor growth in mice / Y. Wang, Ch. Gong, L. Yang // [Электронный ресурс]. - BMC Cancer 2010, 10:402. - Режим доступа: http://www.biomedcentral.com/ 1471-2407/10/402 (дата обращения: 16.08.2010).

Рецензенты:

Инчина В.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарёва» Минобрнауки России, г.Саранск.

Котляров А.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней Обнинского ИАТЭ НИЯУ «МИФИ» Минобрнауки России, г.Саранск.