

Ю.А. Потопальська  
С.П. Осинський  
Я.М. Сусак

Інститут молекулярної біології  
і генетики НАН України

Інститут оздоровлення  
і відродження народів України

Інститут експериментальної  
патології, онкології і радіобіології  
ім. Р.Є. Кавецького НАН України

Національний медичний  
університет ім. О.О. Богомольця  
МОЗ України, Київ, Україна

**Ключові слова:** протипухлинна активність, модифікуючі агенти, цисплатин, препарат з алкілованих тіофосфамідом алкалоїдів чистотілу великого, локальна гіпертермія, індукована гіперглікемія, карцинома Герена, саркома-45.

## ВСТУП

На сьогодні у процесі лікування хворих онкологічного профілю разом з хірургічним і променевим методами застосовують хіміотерапію (ХТ) у різних поєднаннях, що при багатьох пухлинах є базисним методом [1–4]. ХТ застосовують з урахуванням як особливостей пухлинного процесу, так і загального стану хворого. Проте використання протипухлинних препаратів супроводжується виникненням ряду ускладнень, ступінь вираженості яких підвищується при застосуванні високодозової ХТ, яка посідає чільне місце при лікуванні хворих на певні злоякісні пухлини. Можливість появи таких ускладнень може зумовити зміну протоколу лікування та перешкоджати досягненню максимального терапевтичного ефекту. Тому ретельна підготовка пацієнта до початку ХТ, коригуюче лікування у процесі її застосування, а також детальний вибір методів і засобів для боротьби з ускладненнями є вкрай важливими компонентами лікування хворих онкологічного профілю [3].

Корекція ускладнень ХТ супроводжується деякими проблемами, які розв'язуються шляхом застосування апробованих засобів і методів з урахуванням індивідуальних особливостей реакцій хворого на ХТ [3, 4]. Незважаючи на існуючі досягнення терапії, мета якої — зменшення побічних ефектів базової протипухлинної терапії, постійна поява нових протипухлинних препаратів вимагає розробки різних підходів для створення ефективних засобів боротьби з ускладненнями ХТ [4].

# ПРОТИПУХЛИННИЙ ТА МОДИФІКУЮЧИЙ ЕФЕКТИ ПРЕПАРАТУ З АЛКІЛОВАНИХ ТІОФОСФАМІДОМ АЛКАЛОЇДІВ ЧИСТОТІЛУ ВЕЛИКОГО (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

**Резюме.** Визначено протипухлинну та модифікуючу активність препарату з алкілованих тіофосфамідом алкалоїдів чистотілу великого (ААл) у дослідженнях з перещепленими пухлинами щурів, зокрема карциномою Герена та саркомою-45. Результати досліджень свідчать про наявність протипухлинної дії ААл, особливо суттєвої по відношенню до сполучнотканинних новоутворень; локальна гіпертермія посилювала протипухлинний ефект ААл. Відзначали значне посилення протипухлинної дії без наявного підсилення побічних ефектів цисплатину у низькій дозі за умов його використання разом з ААл. Відзначено оригінальний біологічний ефект ААл, що проявляється у тривалому співіснуванні деяких пухлин з організмом без явищ інтоксикації та забезпечує значне подовження тривалості життя.

Метою роботи є визначення протипухлинної та модифікуючої активності оригінального рослинного препарату з алкілованих тіофосфамідом алкалоїдів чистотілу великого (ААл) (Амітозину), що належить до групи алкалоїдетиленімінів [5], у дослідженнях з перещепленими пухлинами та використанням протипухлинного препарату цисплатину та відомих модифікаторів, зокрема локальної гіпертермії.

## ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди проводили на щурах розводки віварію ІЕПОР НАН України. В експериментах використано 70 щурів-самиць масою 150–175 г. Досліджували перещеплювані під шкіру карциному Герена та саркому-45. Перещеплення пухлин проводили за загально визначеними методиками. Умови терапевтичних експериментів наведені у табл. 1–4. Досліди проведені з урахуванням правил комітету з етики роботи з лабораторними тваринами.

У дослідах використовували цисплатин («Пліва-Лакхема А.О.», Брно, Чеська Республіка) та ААл (ІМБГ НАНУ та Інститут оздоровлення і відродження народів України, Київ, Україна). ААл характеризується протипухлинним та імунотимостимулюючим ефектами та незначною токсичністю, що вказує на можливість його використання при комбінованому лікуванні [6], випускається у вигляді стабілізованого водного розчину для ін'єкцій у флаконах з концентрацією 25 мг/мл.

Визначали протипухлинну активність цисплатину при його сумісному використанні з ААл, протипухлинну дію ААл, а також його вплив на пухли-

ну при застосуванні локальної гіпертермії та індукованої гіперглікемії.

Дослідили наступні експериментальні групи:

1) шури з карциномою Герена (ААл + цисплатин). ААл вводили внутрішньовенно у дозі 20 мг/кг маси тіла кожен день за 60 хв до введення цисплатину, загальна кількість введень — 10. Цисплатин вводили внутрішньоочеревино тричі в дозі 3 мг/кг маси тіла в групі, яка отримувала лише цисплатин, та 1,5 мг/кг маси тіла разом з ААл. Цисплатин вводили в 1, 4-й і 7-й дні терапії; 2) шури з карциномою Герена (ААл + гіпертермія). ААл вводили внутрішньовенно у дозі 15 мг/кг маси тіла за 30 хв до початку гіпертермії (41 °С під ложею пухлини, тривалість нагріву 60 хв), що проводили в 3, 6-й та 9-й дні терапії, кожного дня, загальна кількість введень — 10. Локальну гіпертермію пухлини досягали за допомогою мікрохвильового апарату «Луч-2» («Медрадіоелектроніка», Україна), що працює на частоті 2450 МГц. Температуру у пухлині вимірювали за допомогою мідь-константанової термопари; 3) шури з карциномою Герена (ААл + індукована гіперглікемія). ААл вводили внутрішньовенно у дозі 50 мг/кг маси тіла на 60-й хвилині інфузії 20% розчину глюкози (80 мг/кг маси тіла за хвилину протягом 60 хв). ААл вводили кожен день протягом 5 днів, два наступних введення були зроблені через день, загальна кількість введень — 7. Інфузії розчину глюкози виконували в 1, 4-й та 7-й дні терапії; 4) шури з саркомою-45 (ААл + гіпертермія). ААл вводили внутрішньовенно у дозі 15 мг/кг маси тіла за 30 хв до початку гіпертермії; вводили кожен день, загальна кількість введень — 8. Гіпертермію (41 °С, 60 хв) проводили в 1, 3-й та 6-й дні терапії. Дані стосовно розмірів пухлин на момент початку дослідження наведені у табл. 1–4.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали методами параметричної та непараметричної статистики.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати експериментів наведені у табл. 1–4. Привертає увагу значне посилення протипухлинної дії цисплатину у низьких дозах при його використанні у комбінації з ААл (табл. 1).

Таблиця 1  
Протипухлинна активність цисплатину та ААл (карцинома Герена)

Досліджувана група (кількість тварин)	Розмір пухлини перед початком дослідження (см <sup>3</sup> )	Гальмування росту пухлини (%)	Вилікувані тварини (%)	Середня тривалість життя (дні)
Контроль (5)	1,0 (0,7–1,2)	0,0	0,0	28 (16–38)
ААл (20 мг/кг) x 10 + цисплатин (1,5 мг/кг) x 3 (8)	1,0 (0,8–1,2)	100,0	10,0	57 (35–120)
цисплатин (3 мг/кг) x 3 (6)	0,9 (0,6–1,2)	90,0	0	35 (22–47)

Примітки: вилікувані тварини – тварини, у яких відзначали повну регресію пухлини та не відзначали рецидив протягом 120 днів спостереження після регресії; середня тривалість життя – термін життя після перещеплення пухлини.

Слід також відзначити протипухлинний ефект ААл, що відзначали при його самостійному вико-

ристанні, особливо у дослідях з саркомою-45, у яких зафіксовано 90% гальмування та затримку росту пухлини до досягнення розміру 25 см<sup>3</sup> у середньому на 82 дні (p < 0,05, див. табл. 2). Відзначали також повну регресію пухлини у 40% тварин, але згодом ріст пухлини відновився. Посилення протипухлинної активності ААл за умов локальної гіпертермії, яка є відомим модифікатором дії ряду протипухлинних хіміотерапевтичних препаратів, особливо алкілюючого типу дії [7, 8], виявили у дослідях з карциномою Герена (див. табл. 3).

Таблиця 2  
Протипухлинна активність ААл за умов локальної гіпертермії (саркома-45)

Досліджувана група (кількість тварин)	Розмір пухлини перед початком дослідження (см <sup>3</sup> )	Гальмування росту пухлини (%)	Час затримки росту пухлини (дні)	Середня тривалість життя (дні)
Контроль (4)	0,6 (0,4–1,0)	0,0	–	30 (28–31)
ААл (15 мг/кг) x 8 (5)	0,7 (0,5–1,1)	90,0	82,5	87 (24–128)
ААл (15 мг/кг) x 8 + гіпертермія (41 °С, 60 хв) x 3 (5)	0,9 (0,6–1,2)	65,0	11,5	63 (24–128)

Таблиця 3  
Протипухлинна активність ААл та локальної гіпертермії (карцинома Герена)

Досліджувана група (кількість тварин)	Розмір пухлини перед початком дослідження (см <sup>3</sup> )	Гальмування росту пухлини (%)	Час затримки росту пухлини (дні)	Середня тривалість життя (дні)
Контроль (5)	0,9 (0,7–1,1)	0,0	–	29 (19–37)
ААл (15 мг/кг) x 10 (8)	0,7 (0,5–1,0)	20,0	3	25 (14–38)
ААл (15 мг/кг) x 10 + гіпертермія (41 °С, 60 хв) x 3 (10)	0,7 (0,6–1,1)	90,0	6	35 (20–46)

Примітка. Час затримки росту пухлини – різниця у часі досягнення пухлинною розміру 25 см<sup>3</sup> у дослідній та контрольній групах.

Слід зазначити, що використаний режим гіпертермії є помірним і не викликає прямої цитотоксичної дії, покращуючи в той же час оксигенацію пухлинної тканини [9]. У 35% тварин з карциномою Герена за умов комбінованого використання ААл та локальної гіпертермії відзначали повну регресію пухлини, але через три тижні – рецидив.

Оскільки ААл відноситься до групи препаратів алкілюючого типу дії, які підсилюють свій ефект при низьких значеннях рН (цит. за [7]), проводили дослідження з визначення можливості посилення протипухлинної дії ААл за умов індукованої гіперглікемії, що знижує рН пухлини та підвищує протипухлинну дію алкілюючих агентів [7, 10]. Перевірка цього припущення не виявила значного ефекту зниження рН на дію ААл: після повної регресії пухлин у 20% випадків внаслідок введення ААл та розчину глюкози, через 2–3 тиж відзначали рецидив пухлинного росту (табл. 4).

Звертає на себе увагу виразне збільшення тривалості життя тварин з саркомою-45, що є сполучнотканинною пухлиною, за умов введення ААл. Подібний ефект ААл відзначали і у дослідях з карциномою Герена, що є епітеліальним новоутворенням, але за умов підвищення дози ААл більш як у 3 рази.

Таблиця 4

Протипухлинна активність ААл за умов індукованої гіперглікемії (карцинома Герена)

Досліджувана група (кількість тварин)	Розмір пухлини перед початком дослідження (см <sup>3</sup> )	Гальмування росту пухлини (%)	Час затримки росту пухлини (дні)	Середня тривалість життя (дні)
Контроль (4)	0,8 (0,6–1,1)	0,0	–	29 (19–37)
ААл (50 мг/кг) x 7 (5)	0,5 (0,4–0,8)	40,0	8	87 (24–128)
ААл (50 мг/кг) x 7 + індукована гіперглікемія x 3 (5)	0,7 (0,6–0,9)	35,0	6	48 (20–126)

Слід зазначити, що у тварин, тривалість життя яких підвищилася порівняно з контролем, пухлини повністю не регресували, але протягом певного часу не збільшувались у розмірі. Цей факт своєрідної «консервації» пухлин, які зменшились після лікування і тривалий час не змінювали свій розмір, заслуговує певної уваги. Важливо також, що у цих тварин відсутні наявні ознаки інтоксикації, що характерні для організму з пухлиною. На підставі цього спостереження можна зробити припущення стосовно здатності ААл виявляти оригінальний біологічний ефект як на пухлину, так і на організм-носію пухлини, що приводить до своєрідного співіснування пухлини і організму. На можливість отримання такого феномену і його терапевтичне значення вказував у свій час M. von Ardenne [11], акцентуючи увагу на васкуляризації пухлини. Деякі механізми реалізації ідеї інгібіції росту та життєдіяльності пухлини та співіснування її з організмом, які базуються на модуляції ангиогенезу пухлинної тканини, наведені у недавній публікації J. Folkman і R. Kalluri [12]. Автори висловлюють думку щодо перспективності ідентифікації нових нетоксичних препаратів, які будуть здатні перетворювати злорякісну пухлину на хронічну контрольовану хворобу.

## ВИСНОВКИ

1. Встановлено значне посилення дії цисплатину при його поєднанні з ААл на фоні відсутності наявних токсичних проявів у щурів з карциною Герена. Доза цисплатину за умов введення з ААл вдвічі менша, ніж при окремому застосуванні, фактор змін дози становив 2.0.

2. Помірна протипухлинна дія ААл більш виражена при сполучнотканинних пухлинах (саркома-45), ніж при епітеліальних (карцинома Герена).

3. Відзначали суттєве посилення дії ААл при його поєднанні з локальною мікрохвильовою гіпертермією у дослідженні з саркомою-45.

5. Отримані результати вказують на здатність ААл створювати в організмі умови для своєрідного співіснування пухлини і організму, яке може мати терапевтичне значення, особливо при лікуванні хворих з неоперабельними пухлинами.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Поддубная ИВ. Лекарственная терапия больных со злокачественными опухолями (современное состояние и перспективы). Онкология 1999; 1: 214–9.
2. ESMO minimum clinical recommendations. Ann Oncol 2005; 16 (Suppl 1).
3. Переводчикова НИ. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М: Практ медицина, 2005: 336–58.
4. Избранные лекции и доклады IV съезда онкологов и радиологов СНГ. Баку, 28.09.–01.10.2006.
5. Потопальский АИ. Препараты чистотела в биологии и медицине. К: Наукова думка, 1992, 85 с.
6. Потопальский АИ, Петличная ЛИ, Ивасивка СВ. Барбарис и его препараты в биологии и медицине. К: Наукова думка, 1989: 152–60.
7. Жаврид ЭА, Осинский СП, Фрадкин СЗ. Гипертермия и гипергликемия в онкологии. К: Наукова думка, 1987. 256 с.
8. Falk MH, Issels RD. Hyperthermia in oncology. Int J Hyperthermia 2001; 17: 1–18.
9. Song CW, Park HJ, Lee CK, Griffin R. Implications of increased tumor blood flow and oxygenation caused by mild temperature hyperthermia in tumor treatment. Int J Hyperthermia 2005; 21: 761–7.
10. Tannock IF, Rotin D. Acid pH in tumors and its potential for therapeutic exploitation. Cancer Res 1989; 49: 4373–84.
11. Арденне М von, Reitnauer PG. Selective occlusion of cancer tissue capillaries as central mechanism of the cancer multistep therapy. Jpn J Clin Oncol 1980; 10: 31–48.
12. Folkman J, Kalluri R. Cancer without disease. Nature 2004; 427: 787.

## ANTITUMOR AND MODIFYING EFFECTS OF DRUG FROM THE GROUP OF ALKALOIDS ALKILATED BY THIOPHOSPHAMIDE FROM CELANDINE (EXPERIMENTAL STUDY)

Yu.A. Potopalska, S.P. Osinsky, Ya.M. Susak

**Summary.** The antitumor and modifying activities of alkylated alkaloids from celandine (AAl) have been studied in the experiments with rat transplanted tumors, in particular Guerin carcinoma and sarcoma-45. The obtained results have displayed the presence of antitumor activity of AAl, especially against the soft-tissue tumors. Local hyperthermia has enhanced the antitumor effect of AAl. It was observed the significant enhancement of antitumor action of platidium used at a small dose by its application in combination with AAl without obvious increase of cysplatinium side effects. The original biological effect of AAl was observed in our study. It was displayed in a «conservation» of growth of some tumors after the inhibition of their growth due to AAl application. Moreover, long-term coexistence of tumor and organism without features of intoxication has been observed. This phenomenon was accompanied with the significant increase of life span of tumor-bearing animals.

**Key Words:** antitumor activity, modifying agents, cysplatinium, drug from the group of alkylated alkaloids from celandine, local hyperthermia, induced hyperglycaemia, Guerin carcinoma, sarcoma-45.