

УДК 616-006-085-092.9

*А.А. Михановский, О.В. Слободянюк*

*ГУ «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева НАМНУ», г. Харьков*

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ СВЕРХМАЛЫХ ДОЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ**

Проведен анализ литературы по применению лекарственных препаратов в сверхмалых дозах. Изучены перспективы внедрения в практику результатов этих исследований в ближайшем будущем.

**Ключевые слова:** *сверхмалые дозы, биологически активные вещества.*

В последние годы активно формируется новое научное направление, связанное с изучением влияния сверхмалых доз (СМД) биологически активных веществ на протекание процессов в биологических объектах на молекулярном, субклеточном, клеточном уровнях и на уровне целостного организма [1].

Целью обзора литературы было изучение перспективы внедрения СМД лекарственных средств в онкологии.

Изучение эффектов сверхмалых концентраций биологически активных веществ, как эндогенных, так и экзогенных, проводится уже более двух десятилетий. Выполнено большое число разнообразных экспериментов, доказавших реальное существование этого феномена. Теоретические, экспериментальные и клинические исследования в этой области не только имеют важное, во многом принципиальное научное значение, но и создают основу для большого числа практических приложений в медицине, в первую очередь, при разработке новых подходов к лекарственной терапии. Очевидно, немаловажное значение это направление имеет и для противоопухолевой химиотерапии, так как может способствовать решению ряда проблем, в частности, снижению токсичности лечения, преодолению резистентности, созданию предпосылок для новых схем комбинированной химиотерапии и т. д. [2, 3].

Следует отметить, что пока нет единого, всеми принятого определения «сверхмалая

доза». Предлагается, например, считать СМД биологически активных веществ такие, эффективность которых не может быть объяснена с позиций обычных представлений о механизмах действия этих соединений, с позиций современных положений биохимии, молекулярной биологии и физикохимии этих веществ и требует разработки новых механизмов.

На проведенном в декабре 2000 года в Российской академии наук первом симпозиуме «Перспективы использования сверхмалых доз лекарственных препаратов в онкологии» было отмечено, что воздействие сверхмалых концентраций веществ на опухолевые клетки не вызывает сомнений и метод можно внедрять в практику лечения онкологических больных [4].

Выбор онкологической тематики был обусловлен тем, что нанотехнологии могут иметь особенно важное значение для противоопухолевой химиотерапии, поскольку современные методики применения противоопухолевых препаратов в максимально переносимых дозах (вплоть до сверхвысоких доз), как правило, сопровождаются развитием серьезных побочных явлений, существенно ухудшающих качество жизни больных и значительно удорожающих лечение [3, 5]. Эта особенность современной противоопухолевой химиотерапии, наряду с её недостаточной во многих случаях эффективностью, а также высокая цена препаратов свидетельствуют

© А.А. Михановский, О.В. Слободянюк, 2012

о целесообразности разработки новых подходов к лекарственному лечению онкологических больных. Одним из таких подходов может быть использование лекарственных препаратов в СМД, что при сохранении эффективности способно привести к уменьшению токсических явлений и существенному экономическому эффекту [5].

Проблема изучения СМД противоопухолевых препаратов заслуживает особого внимания как с точки зрения исследования фундаментальных механизмов их действия, так и для разработки научно обоснованных подходов к оптимизации режимов их применения. К настоящему времени накоплен обширный экспериментальный материал, свидетельствующий о биологических эффектах лекарственных препаратов в СМД. Исследования эффектов и механизмов действия СМД, в том числе применительно к проблемам онкологии, ведутся в ряде институтов и клиник России. В литературе периодически появляются публикации по проблемам СМД, однако пока эти исследования носят разрозненный характер, мало связаны между собой, весьма различаются по подходам, методологии и т. п. [6, 7].

Важным вопросом является количественная характеристика величины дозы, которую можно рассматривать как СМД. Суммируя предложения разных исследователей и учитывая, что в большинстве случаев обычные действующие концентрации биологически активных веществ, в частности, терапевтические дозы лекарственных препаратов, не бывают ниже  $10^{-4}$ – $10^{-6}$  М, за СМД можно принять дозы  $10^{-12}$ – $10^{-13}$  М и ниже, т. е. дозы, на несколько порядков (в миллионы раз) меньшие обычных «терапевтических» доз [8].

Ряд ученых считают, что граница определяется числом молекул биологически активного вещества на клетку. При введении вещества в организм в дозах  $10^{-12}$ – $10^{-13}$  М в клетке будет содержаться хотя бы 1–10 молекул этого вещества. Так, некоторые авторы на основании данных о количестве клеточных рецепторов и сродства лигандов к ним принимают за абсолютную границу концентрацию  $10^{-11}$  М.

При всех имеющихся количественных различиях в существующих определениях границы, отделяющей СМД от обычно применяе-

мых, общая точка зрения состоит в том, что СМД биологически активных веществ следует считать такие, эффективность которых не может быть объяснена с точки зрения общепринятых в настоящее время позиций и требует разработки новых концепций [4, 8].

Согласно новым представлениям лекарственные и биологически активные вещества, применяемые в малых дозах, повторяют свойственное им действие в дозах больших. Для снижения дозировок и сроков применения лекарственных веществ необходимо переосмысливание механизмов их действия на организм человека. Унифицированных научно аргументированных теорий о механизмах действия сверхмалых концентраций биологически активных и лекарственных веществ не существует. В связи с этим представляют несомненный интерес данные последнего десятилетия, полученные с использованием новейшей техники и современных разработок. Исследователи полагают, что именно эксперименты с применением ультранизких концентраций веществ позволят сделать достоверные выводы об их свойствах на молекулярном и генетическом уровнях [6].

В настоящее время уже не вызывает сомнений реальное существование этого феномена, т. е. способности веществ различной природы, примененных в дозах  $<10^{-11}$  М оказывать эффект на различные биообъекты на разных уровнях биологической организации – молекулярном, клеточном, органном, организменном, популяционном. Выявлены некоторые общие характерные закономерности низкоинтенсивных воздействий как химических, так и физических факторов – нелинейная, немонотонная, полимодальная зависимость эффекта от дозы, зависимость эффекта от начальных характеристик биообъекта, изменение чувствительности биообъектов к последующим (после СМД) воздействиям. Эти зависимости установлены для адаптогенов, радиопротекторов, противоопухолевых препаратов, иммуномодуляторов, гормонов, пептидов, пестицидов и др. [1].

В настоящее время пока нет единого понимания механизмов действия СМД. Предложено несколько моделей, с помощью которых пытаются объяснить эти эффекты – параметрический резонанс, структурные перестройки мембран, рецепторные взаимодей-

ствия, структурные изменения воды, действие активных форм кислорода и пр. Одной из важных особенностей действия СМД является изменение чувствительности биологического объекта после действия СМД к последующему воздействию, имеющему как ту же, так и иную природу, что и использованная СМД [7].

По мнению известного российского биофизика Л.А. Блюменфельда, механизм действия СМД на клеточном и субклеточном уровнях представляет собой параметрический резонанс, т. е. совпадение временных параметров запускаемых действующим веществом внутриклеточных процессов и характерного времени взаимодействия этого вещества с клеткой-мишенью. Путем диффузии сравниваются характерные времена подхода к поверхности клеточной мембраны, время протекания реакции на поверхности и в объеме мембраны и время возникновения клеточной реакции. При высоких концентрациях биологически активных веществ (БАВ), когда время мало, а сами взаимодействия происходят часто, клеточный фермент (рецептор) находится в состоянии, характеризующем малой активностью. При очень малых концентрациях, когда время взаимодействия весьма велико, почти весь фермент (рецептор) остается в исходном равновесном состоянии, в котором его активность также оказывается невысокой. И только для доз, при которых время взаимодействия БАВ со своей мишенью и временные параметры запускаемых им внутриклеточных процессов совпадают, можно ожидать повышения активности. Расчеты показывают, что ее пик приходится на дозы от  $10^{-11}$  до  $10^{-15}$  М [6–8].

К числу характерных для эффектов СМД свойств следует отнести:

- немонотонную, полимодальную зависимость «доза–эффект». В большинстве случаев максимумы активности наблюдаются в определенных интервалах доз, разделенных между собой так называемой «мертвой зоной»;

- изменение чувствительности (как правило, увеличение) биологического объекта к действию разнообразных агентов как эндогенных, так и экзогенных (последние могут быть как той же, что в случае воздействия СМД, так и иной природы);

- проявление кинетических парадоксов, а именно: возможность уловить эффект СМД биологически активных веществ, когда в клетке или в организме имеется то же вещество в дозах на несколько порядков выше, а также влияние на рецептор вещества в дозах на порядки более низких, чем константы диссоциации комплекса лиганд–рецептор;

- зависимость «знака» эффекта от начальных характеристик объекта;

- «расслоение» свойств биологически активного вещества по мере уменьшения его концентраций, при котором еще сохраняется активность, но исчезают побочные эффекты;

- для физических факторов усиление эффекта с понижением их интенсивности в определенных интервалах мощности и доз [6, 8].

Общие закономерности влияния СМД препаратов наиболее ярко проявляются при изучении дозовых зависимостей. В некоторых случаях эта зависимость бимодальная: эффект возрастает при СМД препаратов, затем по мере увеличения дозы уменьшается, сменяется «мертвой зоной» и вновь усиливается. Иногда в дозовой зависимости обнаруживается стадия «перемены знака» эффекта. Например, если в области сверхнизких доз отмечалась ингибирующая активность, то по мере роста концентрации она сменялась на стимулирующую, а затем вновь проявлялся ингибирующий эффект. Сложные дозовые зависимости с наличием «мертвых зон», видимо, явились причиной того, что активность СМД препаратов не была открыта ранее, поскольку результаты, получаемые в пределах доз до начала «мертвой зоны», не побуждали исследователей уменьшать дозу еще далее, и не давали повода ожидать появления эффектов СМД. В связи с отсутствием до настоящего времени теоретической базы, объясняющей возникновение «полимодальных» дозовых зависимостей, их построение осуществляется экспериментальным путем на основании анализа по сравнению с контролем экспериментальных кинетических кривых изменения размеров опухоли после введения препарата. Многолетними исследованиями Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля показано, что СМД биологически активных веществ не уступают по эффективности действия обычным дозам этих же веществ, а в ряде случаев и превос-

ходят их. Это выдающееся открытие поддержано авторитетом такого крупного ученого, как В.И. Гольдманский [2, 4, 9].

В специальной литературе уже появляются сообщения о лекарственных веществах в СМД, которые разрешены для медицинского применения (адгелон) или переданы на утверждение в Фармакологический комитет (феназепам в СМД). Большое внимание к созданию лекарственных препаратов в СМД проявляют онкологи. Известно, что основным тормозом в химиотерапии злокачественных новообразований является токсичность противоопухолевых соединений. Поэтому практическая направленность исследований ориентирована на разработку методов применения противоопухолевых препаратов, обеспечивающих их «избирательное» повреждающее действие на опухоль при отсутствии токсической реакции со стороны нормальных тканей организма. Экспериментальной предпосылкой для проведения такого рода исследований служило обнаруженное явление индукции хромосомных aberrаций в злокачественных клетках СМД противоопухолевого препарата нитрозометилмочевина. Однократное введение нитрозометилмочевина в дозе  $10^{-17}$  М приводит к увеличению средней продолжительности жизни (на 40 %) животных с лейкозом L-1210 [10–12].

К этим работам примыкают исследования антиметастатического действия ряда лекарственных препаратов (лонидамин, эфазол), которые проявляют свою активность в дозах  $10^{-17}$ – $10^{-19}$  М. Результатом действия является как уменьшение числа метастазов, так и увеличение среднего времени жизни животных с опухолями. Наиболее перспек-

тивны работы по комбинированному действию двух или более препаратов, один из которых берется в СМД. Близкие результаты были получены и при лечении животных-опухоленосителей комбинацией адрибластина с фактором некроза опухоли. Сверхмалые дозы токсина рицина ( $10^{-15}$ – $10^{-18}$  М) увеличивают синтез лимфоидными клетками цитокинов, что является в свою очередь причиной гибели опухолевых клеток [13, 14].

В последующих исследованиях в этом направлении была проведена оценка биологических эффектов противоопухолевых препаратов различного действия – указанной уже нитрозометилмочевина, циклофосфана и адриамицина – в области сверхмалых концентраций, отличающихся на десять и более порядков от общепринятых терапевтических доз. Впервые было установлено, что цитостатики, в частности адриамицин, обладают способностью оказывать в СМД ( $10^{-10}$ – $10^{-20}$  М) противоопухолевый эффект, сопоставимый активностью препаратов в терапевтических дозах ( $10^2$ – $10^{-3}$  М). Результаты экспериментальных исследований явились основанием для разработки протокола пилотных клинических испытаний адриамицина в СМД при лечении онкологических больных. Следует также отметить, что в настоящее время получены патенты на применение лекарственных препаратов в СМД не только в России, но и в других странах, в частности в США [14–16].

Таким образом, уже на сегодняшней стадии изучения эффектов СМД биологически активных веществ можно говорить о перспективности внедрения в практику в ближайшем будущем результатов этих исследований.

### Список литературы

1. Гуревич К. Г. Закономерности и возможные механизмы действия сверхмалых доз биологически активных веществ / К. Г. Гуревич // Вестн. Моск. ун-та. — Сер. 2. Химия. — 2001. — Т. 42, № 2. — С. 131–134.
2. Эпштейн О. И. Сверхмалые дозы (история одного исследования) / О. И. Эпштейн. — М. : Изд-во РАМН, 2008. — 336 с.
3. Подколзин А. А. Действие биологически активных веществ в малых дозах / А. А. Подколзин, К. Г. Гуревич. — Изд-во КМК. — 2002. — 170 с.
4. Булакова Е. Б. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов / Е. Б. Булакова, А. А. Кондратов, Е. Л. Мальцева // Хим. физика. — 2003. — Т. 22, № 2. — С. 4–15.
5. The similia principle / [P. Bellavite, S. Lussignolli, M. L. Semizzi et al.] // British Homoeopathic J. — 1997. — Vol. 86. — P. 73–85.

6. Burlakova E. B. Some specific aspect of ultra low dose effect of chemical compounds and physical agents / E. B. Burlakova // Abstr. of the Second Intern. Congress on Ultra Low Doses. France, Bordeaux. — 1993. — P. 16.

7. Блюменфельд Л. А. Понятие конструкции в биологической физике. К вопросу о механизме действия сверхмалых доз / Л. А. Блюменфельд // Рос. хим. журн. — 1999. — Т. 43. — № 5. — С. 15–20.

8. Бурлакова Е. Б. Особенность действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности / Е. Б. Бурлакова // Рос. хим. журн. — 1999. — Т. 43, № 5. — С. 3–11.

9. Бурлакова Е. Б. Биоантиоксиданты / Е. Б. Бурлакова // Рос. хим. журн. — 2007. — Т. LI, № 1. — С. 3–12.

10. Сверхмалые дозы доксорубина: ингибирование опухолевого роста в эксперименте / [Л. А. Островская, Н. В. Блюхтерова, М. М. Фомина и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2002. — № 4. — С. 52–54.

11. Возможности использования сверхмалых доз цитостатиков в химиотерапии опухолей / [Л. А. Островская, Н. В. Блюхтерова, М. М. Фомина и др.] // Наука – производству. — 2002. — № 3. — С. 59–60.

12. Bonavida B. Citotoxicite antitumoral a tres faible dose / B. Bonavida // Abstr. of the Second Intern. Congr. on Ultra Low Doses. France, Bordeaux. — 1993. — P. 12.

13. Чувствительность экспериментальных опухолевых моделей к сверхмалым дозам доксорубина / [Л. А. Островская, Н. В. Блюхтерова, М. М. Фомина и др.] // Радиационная биология. Радиология. — 2003. — Т. 43, № 3. — С. 273–281.

14. Моделирование эффективности действия противоопухолевых препаратов в сверхмалых дозах для оптимизации режимов их введения / [Н. А. Бабушкина, Л. А. Островская, В. А. Рыкова и др.] // Проблемы управления. — 2005. — № 4. — С. 47–54.

15. Бабушкина Н. А. Использование математического моделирования для оптимизации режимов химиотерапии на экспериментальных опухолях / Н. А. Бабушкина // IV Междунар. конф. «Идентификация систем и задачи управления» SICPRO'05, Москва, 25–28 января 2005 г. — М. : Ин-т проблем управления им. В. А. Трапезникова РАН, 2005. — С. 382–390.

16. Effect of ethylnitrosourea on the stationary cell population / [T. V. Krutova, S. B. Chernikova, A. A. Konradov et al.] // Abstracts. of the Second Intern. Congress on Ultra Low Doses. France, Bordeaux. — 1993. — P. 22.

**О.А. Міхановський, О.В. Слободянюк**

#### РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ВПЛИВУ НАДМАЛИХ ДОЗ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

Проведено аналіз літератури по застосуванню лікарських препаратів у надмалих дозах. Вивчено перспективи впровадження в практику у найближчому майбутньому результатів цих досліджень.

**Ключові слова:** надмалі дози, біологічно активні речовини.

**A.A. Mihanovskiy, O.V. Slobodyanuk**

#### RESULTS OF EXPERIMENTAL RESEARCH OF ULTRA-LOW DOSES OF DRUGS IMPACT ON BIOLOGICAL OBJECTS

The analysis of the literature about the use of medication in ultra-low doses has given. Prospects of practice implementation next years of results of these studies are explored.

**Key words:** ultra-low doses, biologically active substances.

Поступила 19.03.12