

© Хавич О.О.

УДК: 615.2+661.12+616.006

Хавич О.О.

ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України", відділ онкофармакології (вул. Е. Потьє, 14, м. Київ, 03680, Україна)

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ПРОТИПУХЛИННОЇ ДІЇ КОМБІНАЦІЙ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА ОСНОВІ ФЛУДИНАТУ

Резюме. Пошук препаратів групи антиметаболітів піримідинового ряду, а саме фторпіримідинів, здатних розширити арсенал хіміотерапії та підвищити ефективність лікування раку молочної залози, залишається актуальним. Наші дослідження були присвячені порівняльному вивченню протипухлинної активності комбінації, до складу якої входить 5-фторурацил та комбінації з заміною 5-фторурацилу на флудинат (адукт 5-фторурацилу та натрієвої солі дифенілфосфорної кислоти). Дослідження гальмування росту пухлин за масою, показало, що комбінація, до складу якої входить флудинат (комбінація 2), гальмувала розвиток пухлин на 95,98%, комбінація 1 (містить 5-ФУ) призводила до гальмування росту аденокарциноми молочної залози на 91,64% в порівнянні з контрольною групою тварин. Зменшення концентрації 5-ФУ (в комбінації 2) в 3 рази у порівнянні з комбінацією 1 (враховуючі молярні співвідношення) зберігає протипухлинну дію комбінації 2 і становить більше 72% у порівнянні з контролем.

Ключові слова: флудинат, 5-ФУ, комбінації, протипухлинна дія, аденокарцинома молочної залози Ca755.

Вступ

На сьогоднішній день для лікування раку молочної залози зареєстровано та застосовується більше двох десятків класичних цитостатиків, що об'єднані в групи на основі їх хімічної будови та різного механізму дії. Нажаль, досягнути значного збільшення долі виживаних хворих з ранніми стадіями або збільшити виживання хворих з дисемінованим процесом - не вдається навіть при спробах збільшити дози хіміопрепаратів, використовувати інгібітори відомих механізмів резистентності до цитостатиків, або, навпаки, "протекторів нормальних тканин". Застосування у клінічній практиці для лікування раку комбінацій, на основі антиметаболітів піримідинового ряду, дало змогу збільшити медіану загальної виживаності при дисемінованому раку молочної залози більше 7 місяців. Тому пошук препаратів цієї групи, а саме фторпіримідинів, здатних розширити арсенал хіміотерапії та підвищити ефективність лікування раку молочної залози, залишається актуальним [Амосова, 2003].

Метою наших досліджень було вивчення протипухлинної активності комбінації, до складу якої входить 5-фторурацил (референтна комбінація) та комбінації з заміною 5-фторурацилу на флудинат (адукт 5-фторурацилу та натрієвої солі дифенілфосфорної кислоти).

Матеріали та методи

В якості референтної комбінації протипухлинних засобів була вибрана комбінація FАС, до складу якої входили доксорубіцин, 50,0 мг/м² + циклофосфамід, 500,0 мг/м² + 5-фторурацил, 500, 0 мг/м² (наказ МОЗ України № 247 від 29.04.11 "Стандарти лікування онкологічних хворих") з подальшою можливістю заміни одного з інгредієнтів, а саме 5-фторурацилу (5-ФУ) на новий засіб флудинат, створений в ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України". Обидва препарати належать до групи антиметаболітів піримідинового ряду з близькими параметрами гострої токсичності та протипухлинної дії. Нами були проведені доклінічні дослідження флудина-

ту щодо його токсичності, протипухлинної дії у порівнянні з 5-ФУ, впливу на стан та функціонування систем організму тварин [Шарикіна, 2010].

Експериментальні дослідження були проведені на моделі аденокарциноми молочної залози Са 755. Штам карциноми отриманий з банку штамів ДУ "Інститут фармакології і токсикології НАМН України". У дослідженні були використані статевозрілі самиці мишей лінії С₅₇Bl/6, які були отримані з ПП "Біомодельсервіс". В кімнаті для утримання тварин підтримувались наступні умови: температура - (20-24)°С, вологість - (30-70)%, цикл освітлення - 12 год світло/12 год темрява. Всім мишам згодовувався ad libitum стандартний раціон кормів для лабораторних тварин, що постачаються фірмою "Phoenix" ("Фенікс"), Україна. За 24 год до трансплантації пухлин миші були зважені і розподілені по групах. Маса експериментальних тварин складала (21,0 ± 2,0)г. Тварини знаходились на звичайному харчовому раціоні. Метод евтаназії - передозований ефірний наркоз [Западнюк, 1983].

Пухлина перевивалася підшкірно пухлинною суспензією мишам С₅₇Bl/6; лікування починалось через 24 годин після трансплантації, препарати вводили внутрішньочеревно. Дози препаратів були перераховані з урахуванням коефіцієнту екстраполяції. Параметром прояву протипухлинної активності слугував відсоток гальмування росту пухлини (як за об'ємом, так і за масою пухлин). Мінімальний критерій активності - відсоток гальмування росту пухлини більше 50% [Софьина, 1979; Стефанов, 2001; Шумейко, 2009].

Протипухлинну активність в динаміці оцінювали за відсотком гальмування росту пухлин за об'ємом: $T_{\%} = (o_k - o_d) / o_k \times 100\%$ ($T_{\%}$ - відсоток гальмування росту пухлин за об'ємом; o_k - середній об'єм пухлин у контрольній групі (мм³); o_d - середній об'єм пухлин у дослідній групі (мм³). Об'єм пухлин визначався за формулою: $V = \pi/6 \times f(a \times b)^{3/2}$ (V - об'єм пухлин; f - коефіцієнт перерахунку (для самиць він становить 1,58±0,01); a - довжина пух-

лини; b - ширина пухлини). Протипухлинну активність оцінювали також, і за відсотком зміни маси пухлин в дослідній та контрольній групі тварин: $T_{\%} = (m_k - m_d) / m_k \times 100\%$ ($T_{\%}$ - відсоток гальмування росту пухлини за масою; m_k - середня маса пухлин в контролі (г); m_d - середня маса пухлини в досліді (г). Одержані результати обробляли з використанням t-критерію достовірності Стьюдента [Софьина, 1979; Стефанов, 2001; Трухачева, 2012; Feldman, 2009].

Результати. Обговорення

Трансплантацію аденокарциноми молочної залози (Ca755) проводили у відповідності до вимог методичних рекомендацій [Софьина, 1979; Стефанов, 2001]. Введення комбінацій починали через 24 год після трансплантації пухлин. Дослідних тварин розділяли на три групи: 1 група - тварини з Ca755, яким вводили внутрішньочеревно комбінацію циклофосфамід, 37,53 мг/кг + доксорубіцин, 3,75 мг/кг + 5-ФУ, 37,53 мг/кг, препарати вводили в один день з годинною перервою; 2 група - тварини, яким вводили внутрішньочеревно комбінацію циклофосфамід, 37,53 мг/кг + доксорубіцин, 3,75 мг/кг + флудинат, 114,84 мг/кг (доза флудинату наведена з урахуванням молярних співвідношень), препарати вводили в один день з годинною перервою; 3 група - контрольна (тварини з аденокарциномою молочної залози, яким введення досліджуваних препаратів не проводили, вводили 0,9% розчин натрію хлориду у відповідних дозах). Препарати 5-ФУ та флудинат вводили ще і на 8 день після трансплантації аденокарциноми молочної залози (відповідно до протоколу). В дослідних групах кількість тварин становила n=7, в контрольній групі n=14. Протипухлинну активність визначали в динаміці за відсотком гальмування росту пухлин за об'ємом (об'єм пухлин вимірювали на 7 та 14 добу після трансплантації пухлин) та за відсотком гальмування росту пухлин за масою (критерій значущості для даного штаму пухлин становить більше 50,0%). У дослідженні були використані миші лінії C₅₇Bl/6. Результати дослідження надані в таблиці 1.

Проведене порівняльне дослідження протипухлинної активності комбінацій показало, що введення флудинату в комбінацію 2 призводило до підвищення протипухлинної активності на всіх строках дослідження. На 7 добу дослідження протипухлинна активність комбінації 2 становила 86,84% в порівнянні з контролем. Така тенденція спостерігалася і на 14 добу після трансплантації, гальмування росту пухлин за об'ємом у групі тварин, яким вводили комбінацію 1 становило 90,62%, а в групі тварин, яким вводили комбінацію, що містила флудинат (2 група тварин) - гальмування росту пухлин за об'ємом становило 94,82% у порівнянні з контрольною групою тварин.

Дослідження гальмування росту пухлин за масою, показало, що комбінація, до складу якої входить флудинат, гальмувала розвиток пухлин на 95,98%, введен-

Таблиця 1. Динаміка протипухлинної дії досліджуваних комбінацій на аденокарциномі молочної залози Ca755.

Досліджувані групи	Строки після трансплантації	
	7 день	14 день
	Об'єм пухлин, мм ³ , гальмування росту пухлин, %	
Комбінація 1: доксорубіцин, 3,75 мг/кг + циклофосфамід, 37,53 мг/кг + 5-ФУ, 37,53 мг/кг	144,3±13,8** 82,70	441,6±62,1** 90,62
Комбінація 2: доксорубіцин, 3,75 мг/кг + циклофосфамід, 37,53 мг/кг + флудинат, 114,84 мг/кг,	109,7±7,3** 86,84	176,0±12,5** 96,26
Контрольна група	833,9±99,4	4708,4±470,2

Примітка: ** - p<0,001 у порівнянні з контрольною групою тварин.

Таблиця 2. Протипухлинна дія досліджуваних комбінацій на аденокарциномі молочної залози Ca755 (за масою пухлин).

Досліджувані групи	Маса пухлин, г, гальмування росту пухлин, %
Комбінація 1: доксорубіцин, 3,75 мг/кг + циклофосфамід, 37,53 мг/кг + 5-ФУ, 37,53 мг/кг	0,25±0,04** 91,64
Комбінація 2: доксорубіцин, 3,75 мг/кг + циклофосфамід, 37,53 мг/кг + флудинат, 114,84 мг/кг,	0,12±0,01** 95,98
Контрольна група	2,94±0,18

Примітка: ** - p<0,001 в порівнянні з контрольною групою тварин.

на 5-ФУ в комбінацію 1 призводило до гальмування росту аденокарциноми молочної залози на 91,64% в порівнянні з контрольною групою тварин (тварини-носії аденокарциноми молочної залози, яким введення досліджуваних комбінацій не проводили) (табл. 2).

Ще одним етапом нашого дослідження було порівняльне вивчення протипухлинної дії комбінації, до складу якої входить флудинат (доза при цьому була зменшена в 3 рази з урахуванням молярних співвідношень) (табл. 3, 4). Референтна комбінація - доксорубіцин - 3,0 мг/кг; циклофосфамід - 30,0 мг/кг; 5-ФУ - 37,0 мг/кг та флудинат - 37,0 мг/кг. Експериментальні тварини були розподілені на 6 дослідних груп (в кожній групі n=7 тварин) та контрольну групу - n=32 тварини. Досліджувані препарати вводились через 48 годин після трансплантації аденокарцинома молочної залози Ca755, внутрішньочеревно, з урахуванням 1-годинної перерви між введеннями.

Протягом всього дослідження ми визначали відсоток гальмування росту пухлин за об'ємом. Вимірювання проводили в день введення препаратів (2 день після трансплантації аденокарциноми молочної залози Ca755), а також на 7 та 14 день після трансплантації пухлини. Визначали також відсоток гальмування росту пухлин за масою пухлин на 14 день після трансплантації.

Таблиця 3. Динаміка протипухлинної дії досліджуваних комбінацій на аденокарциномі молочної залози Ca755 (зменшення дози флуороурацилу в 3 рази в комбінації 2, враховуючи молярні співвідношення).

Досліджувані групи	Строки після трансплантації	
	7 день	14 день
	Об'єм пухлин, мм ³ , гальмування росту пухлин, %	
Комбінація 1: доксорубіцин - 3,0 мг/кг + циклофосфамід - 30,0 мг/кг + 5-ФУ - 37,0 мг/кг	82,14±9,51*	962,50±92,71*
	82,12	77,30
Комбінація 2: доксорубіцин - 3,0 мг/кг + циклофосфамід - 30,0 мг/кг + флудинат - 37,0 мг/кг	118,86±10,84*	1141,29±109,21*
	74,12	73,08
Контроль	459,30±41,12	4240,16±417,10

Примітка: * - $p < 0,05$ в порівнянні з контрольною групою тварин.

Таблиця 4. Протипухлинна дія досліджуваних комбінацій на аденокарциномі молочної залози Ca755 (за масою пухлин) (зменшення дози флуороурацилу в 3 рази в комбінації 2, враховуючи молярні співвідношення).

Досліджувані групи	Маса пухлин, г, гальмування росту пухлин, %
Комбінація 1: доксорубіцин - 3,0 мг/кг + циклофосфамід - 30,0 мг/кг + 5-ФУ - 37,0 мг/кг	0,93±0,07*
	74,51
Комбінація 2: доксорубіцин - 3,0 мг/кг + циклофосфамід - 30,0 мг/кг + флудинат - 37,0 мг/кг	0,99±0,09*
	72,91
Контроль	3,64±0,34

Примітка: * - $p < 0,05$ в порівнянні з контрольною групою тварин.

В наших експериментальних дослідженнях ми отримали дані, які показують, що при застосуванні комбінації доксорубіцин, 3,0 мг/кг + циклофосфамід, 30,0 мг/кг + 5-ФУ, 37,0 мг/кг на 7 день після трансплантації Ca755 відсоток гальмування росту пухлин за об'ємом становив 82,12% в порівнянні з контрольною групою тварин (тварини-носії Ca755, яким введення досліджуваних хімотерапевтичних засобів не проводили). На 14 добу - відсоток гальмування росту пухлин за об'ємом становив 77,30%, а за масою пухлин - 74,51%, що знач-

но перевищує прийнятий критерій значущості для даного штаму експериментальних пухлин (більше 50,0% гальмування росту пухлин).

Введення флудинату до базової комбінації замість 5-ФУ на 7 добу після трансплантації Ca755 призводить до гальмування росту пухлин до 74,12%, на 14 день після трансплантації аденокарциноми молочної залози Ca755 показники 1 та 2 груп вирівнюються і становлять більше 72,0% в порівнянні з контролем.

Таким чином, при зменшенні концентрації 5-ФУ в комбінації 2 в 3 рази у порівнянні з комбінацією 1 (враховуючи молярні співвідношення) зберігається протипухлинна дія комбінації 2 і становить більше 72% у порівнянні з контрольною групою тварин. Введення флудинату в комбінації може дозволити застосування флуороурацилу у хворих з підвищеною чутливістю (враховуючи генетичний поліморфізм), зі збереженням протипухлинної дії без токсичних проявів на шлунково-кишковий тракт та показники периферійної крові [Проценко, 2007].

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Проведені експериментальні дослідження протипухлинної дії комбінацій, що вивчалися, показали, що заміна 5-ФУ на розроблений в ДУ "ІФТ НАМН України" новий флуороурацил флудинат призводить до підвищення протипухлинної дії комбінації 2 до 96% в порівнянні з контролем.

2. При зменшенні дози 5-ФУ у комбінації 2 у порівнянні з комбінацією 1 (враховуючи молярні співвідношення) протипухлинна дія комбінації 2 становить більше 72% гальмування росту пухлин за масою у порівнянні з контролем.

3. Отримані дані свідчать про здатність флудинату проявляти високу протипухлинну дію при зменшенні дози, це і в подальшому може бути враховано при призначенні флуороурацилу хворим з підвищеною чутливістю до даних препаратів.

У подальшому будуть проведені дослідження щодо введення флудинату в комбінації протипухлинних засобів для лікування злоякісних новоутворень різної локалізації.

Список літератури

- Адукт 5-фторурацилу та натрієвої солі дифенілфосфорної кислоти (флудинат) - новий представник фторпіримідинів (доклінічні дослідження) /Н.І.Шарикіна, О.О.Хавич, І.Г.Кудрявцева [та ін.] //Фарм. та лік. токс.- 2010. - №5. - С.61-68.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. реком. /За ред. О.В. Стефанова. - Київ. - 2001. - 527 с.
- Западнюк І.П. Лабораторные животные. Использование в эксперименте /И.П.Западнюк, В.И.Западнюк, Е.А.Захария. - К.: Вища школа, 1983. - С.267-268.
- Застосування методів швидкої екстраполяції у фармакологічних дослідженнях /В.М.Шумейко, Н.І.Шарикіна, О.О.Хавич [та ін.] //Фарм. та лік. токс.- 2009. - №4. - С.39-41.
- Потенцированный циклофосфан: экспериментальное исследование действия на развитие опухолевого процесса и эффективность цитостатической терапии /Е.Н.Амосова, Е.П.Зуева, Т.Г.Разина [и др.] //Бюл. эксп. биол. и мед.- 2003. - №1. - С.16-19.
- Проценко С.А. Поиски путей индивидуализации противоопухолевой терапии /С.А.Проценко //Практич. онкология. - 2007. - Т.8, №4. - С.173-181.
- Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica /Трухачева Н.В.- М.:ГЭОЕФР.- Медиа, 2012. - 384с.
- Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США /Под ред. З.П.Софьиной, А.Б.Сыркина (СССР), А.Голдина, А.Кляйна

(США).- М.: Медицина, 1979.- 296с.
A mathematical model for tumor volume

evaluation using two-dimensions /
J.Feldman, R.Goldwasser, S.Mark [et

al.] //JAQM.- 2009.- Vol.4, №4.-
P.455-462.

Хавич О.А.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ФЛУДИНАТА

Резюме. Поиск препаратов группы антиметаболитов пиримидинового ряда, а именно фторпиримидинов, способных расширить арсенал химиотерапии и повысить эффективность лечения рака молочной железы, остается актуальным. Наши исследования посвящены сравнительному изучению противоопухолевой активности комбинации, в состав которой входит 5-ФУ и комбинации с заменой 5-ФУ на флудинат (аддукт 5-фторурацила и натриевой соли дифенилфосфорной кислоты). Исследование торможения роста опухолей по массе, показало, что комбинация, в состав которой входит флудинат (комбинация 2), тормозила рост опухолей на 95,98%, комбинация 1 (в состав которой входит 5-ФУ) тормозила рост аденокарциномы молочной железы на 91,64% в сравнении с контрольной группой животных. Уменьшение концентрации 5-ФУ в комбинации 2 в 3 раза в сравнении с комбинацией 1 (учитывая молярные соотношения) сохраняет противоопухолевое действие комбинации 2 и составляет более 72,0% в сравнении с контролем.

Ключевые слова: флудинат, 5-ФУ, комбинации, противоопухолевое действие, аденокарцинома молочной железы Ca755.

Khavych O.A.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE FLUDINAT-BASED DRUGS COMPOUNDS' ANTITUMOR ACTION

Summary. Search for products of some pyrimidine antimetabolites like fluor-pyrimidine, able to expand the arsenal of chemotherapy and improve treatment of breast cancer, is still important. The aim of our study was to research the antitumor activity of the 5-fluorouracil (5-FU) compound and the one where the 5-FU was replaced to fludinat (5-FU and biphenyl phosphoric acid sodium adduct). The tumor growth by weight research demonstrated that the compound 1 resulted breast adenocarcinoma growth inhibition on 91,64%. The combination 2 decelerated the development of tumors on 95,98% compare to the animals control group. The 3-times reduction of 5-FU concentration in compound 2 compare to the compound 1 (considering molar ratio) preserves antitumor activity of the compound 2 in more than 72% compare to control. The compounds of drugs with 5-FU replacement to fludinat leads to Ca755 growth inhibition up to 96% compare to control. Reduction the 5-FU concentration in fludinat-contains compound leads to inhibition of tumor growth over 72%.

Key words: fludinat, 5-FU, compound, antitumor activity, breast adenocarcinoma Ca755.

Стаття надійшла до редакції 24.04.2013 р.

Хавич Ольга Олександрівна - к. мед. н., провідний науковий співробітник ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України", відділ онкофармакології; khavych@ukr.net.

© Захаренко В.В.

УДК: 616-006.001.6: 615.217.22 + 615.217.043

Захаренко В.В.

Государственное учреждение "Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины", отдел онкофармакологии (ул. Эжена Потье, 14, г. Киев, 03680, Украина)

ВЛИЯНИЕ ПРОПЕСА НА ПРОЦЕССЫ ВОСПАЛЕНИЯ

Резюме. Проведено изучение влияния на процессы воспаления противоопухолевого препарата Пропес, представляющего собой экстракт из эмбриональных тканей крупного рогатого скота. Показано, что, помимо выраженного противоопухолевого и противометастазного действия, препарату присуща способность влиять на процессы воспаления: уменьшать развитие декстранового отека, температурную реакцию на фоне введения пирогена. Важной особенностью Пропеса является его выраженное анальгетическое действие (термическое, механическое раздражения). Полученные данные предполагают наличие отмеченных свойств на фоне развития опухолей, приводящих к болевым реакциям, перифокальному отеку, лихорадке.

Ключевые слова: Пропес, анальгезирующее, противоотечное, жаропонижающее действие.

Введение

Пропес - противоопухолевый препарат из эмбриональной печени крупного рогатого скота, разрешен для медицинского применения в Украине. Как известно, Пропес и другие противоопухолевые препараты могут применяться не только при опухолевой болезни, но и при ряде патологических состояний, связанных с процессами воспаления. Наличие их влияния на отеки, боль, лихорадку добавляет положительных свойств и при опухолевой болезни, нередко сопровождающей-

ся перифокальным отеком, болью, повышением температуры.

Целью данной работы являются исследования Пропеса на нормальных животных.

Материалы и методы

Анальгезирующее действие Пропеса изучали при действии аллогенов различной природы - термическом раздражении [ГОСТ 12.1.007-76, 1990] и механи-