

УДК 639:576.535

С. В. СУРЕНСКИЙ, аспирант

Т. И. ТЕРПИНСКАЯ

Институт физиологии НАН Беларуси

КОТРИМАКСОЗОЛ ИНГИБИРУЕТ РОСТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ

В процессах метаболизма фолиевой кислоты в пролиферирующих клетка препарат котримаксазол способен проявлять себя как конкурентный ингибитор фолата и, таким образом, подавлять пролиферацию. Мы использовали котримаксазол для подавления роста перевиваемой опухоли (карциномы Эрлиха) у мышей. Эксперименты показали, что инъекции препарата замедляли рост опухоли у опытных животных в сравнении с контролем и увеличивали продолжительность жизни мышей.

Ключевые слова: экспериментальные опухоли, котримаксазол, мыши, карцинома Эрлиха

Постмитотическое метилирование CpG последовательностей в промоторах групп ключевых генов ДНК или импринтинг, а так же модифицирование гистонов являются ключевыми процессами в пролиферирующих клетках [1, 2]. Основным донором метильных групп при метилтрансферазных реакциях в клетках животных является S-Adenosylmethionine (SAM) [3], метильные группы для которого обеспечиваются производными фолиевой кислоты.[4].

Химические соединения, составной частью которых является пара-амино-бензойная кислота (рисунок 1 а), способны проявлять себя как конкурентные ингибиторы внутриклеточного метаболизма фолиевой кислоты (рисунок 1 б), так же включающей в себя пара-амино-бензойную кислоту. Одним из таких соединений, обладающих широким спектром противоопухолевой активности является метотрексат (рисунок 1 в), широко используемый с 50-х годов XX века. Однако, принимая во внимание множество побочных эффектов, наблюдаемых при приеме этого химиопрепарата [5 – 7], требуют поиска альтернативных средств лечения опухолей.

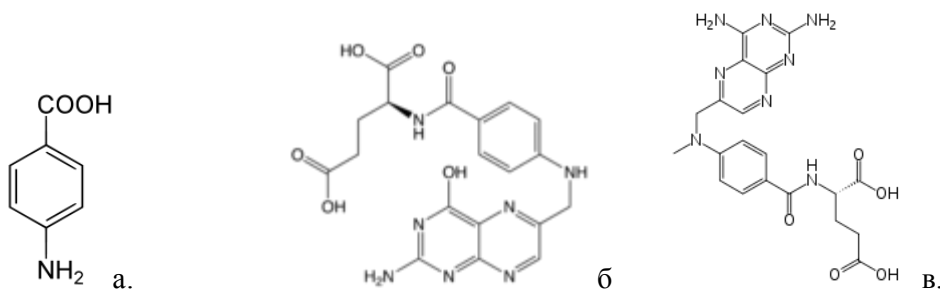


Рисунок 1. а. 4-аминобензойная кислота (пара-амино-бензойная кислота); б. Фолиевая кислота; в. Метотрексат

Конкурентная вовлеченность в процессы, происходящие в пролиферирующих клетках и в первую очередь импринтинга и метилирования гистонов определила спектр поиска химических соединений для подавления опухолевого роста. Соединения сульфоматаксазол и триметоприм, входящие в лекарственный препарат котримаксазол (рисунок 2) в соотношении 5:1 были выбраны из сообщений их потенциальной способности проявлять себя как конкуренты фолиевой кислоты во внутриклеточных процессах. Котримаксазол – средство, которое производится промышленным способом, имеет установленную химическую формулу с хорошо изученными терапевтическими и побочными свойствами [8].

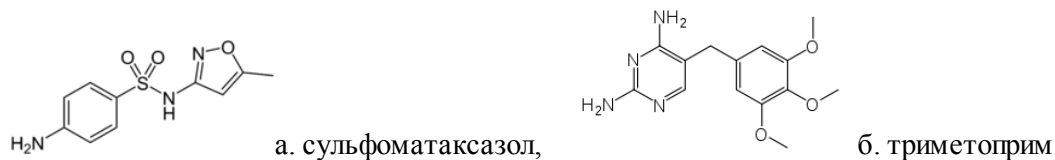


Рисунок 2. а. Сульфоматаксазол, (3-(пара-аминобензолсульфамидо)-5-метилизоксазола); б. Триметоприм, (2,4-диамино-5-(3,4,5-3-метоксибензил)-пиримидина)

Целью работы было тестирование лекарственного препарата котримаксазола на способность ингибировать рост перевиваемой опухоли при оказании минимального побочного воздействия на организм опухоленосителя.

Материалы и методы.

В опытах использовали экспериментальную мышиную опухоль асцитную карциному Эрлиха (АКЭ) и самок мышей линии Af весом $23,5 \pm 0,2$ г (возраста 60-75 дней). Количество мышей в серии $n = 10$ или 9. В сериях опытов использовался котримаксазол производства Polfa, республика Польша.

Первая серия опытов. Подготовленные по стандартной методике опухолевые клетки АКЭ, предназначенные для инокуляции в организм животного смешивали со 100 мкл котримаксазола (8 мг сульфоматаксазола и 1,6 мг триметоприма) на 6 млн опухолевых клеток (порог прививаемости: 50-100 тыс. опухолевых клеток на мышь), доведенных изотоническим раствором до общего объема 200-400 мкл в расчете на 1 мышь, затем после 10 – 12-минутной инкубации вводили мышам внутривентрально. В контрольной серии мышам вводили асцитную карциному Эрлиха в дозе 6 млн клеток в аналогичном объеме изотонического раствора на мышь. Наблюдали за прививаемостью опухоли и скоростью опухолевого роста. Жизнеспособность клеток АКЭ проверялась через 50 – 60 минут после начала инкубации по окрашиванию трипановым синим.

Вторая серия опытов. Мышам вводили по 6 млн клеток АКЭ под кожу спины слева. Через 2, 4, 7, 10, 14, 18, 25 суток после прививки опухоли животным под кожу спины справа вводили котримаксазол в дозе 100 мкл препарата, разведенного вдвое изотоническим раствором хлорида натрия. В контрольной группе животные получали подкожно инъекции 200 мкл изотонического раствора хлорида натрия. Контролировали прививаемость опухоли, изменения объема подкожного опухолевого узла и продолжительность жизни опухоленосителей. Объем солидной опухоли определяли по формуле: $V = (a \times b \times c) \times \pi / 6$, где V - объем

опухоли в см³; a, b, c – три взаимно перпендикулярные размера опухоли; $\pi/6 = 0,52$ – постоянная величина. Измерения объема опухолевого узла проводили до дня гибели первой из мышей. Результаты каждой серии измерений усредняли как для контрольной, так и для опытной групп.

Результаты и обсуждения.

Первая серия опытов. Жизнеспособность клеток АКЭ, определяемая по трипановому синему, после 50 -60-минутной инкубации с котримаксазолом не отличалась от жизнеспособности клеток, подготовленных по стандартной методике. В контрольной серии (n = 9) прививаемость опухоли составила 100 %, средняя продолжительность жизни опухоленосителей - $26,6 \pm 1,0$ суток, животные погибали с 22 по 31 сутки после прививки опухоли.

В опытной серии (n = 10) прививаемость опухоли составила 40 %, средняя продолжительность жизни животных с привившейся опухолью (4 мыши) - $53,3 \pm 2,8$ суток, животные погибали с 47 по 57 сутки после прививки опухоли. У остальных животных не наблюдалось развития опухоли в течение более чем 60 суток со дня прививки.

Вторая серия опытов. Опухоль развилась у 100 % животных опытной (n = 10) и контрольной (n = 9) серий.

Различие роста объема опухолевого узла у мышей опытной и контрольной серий заметно проявилась с шестой инъекции препарата (рисунок 3). К 25-му дню эксперимента средний объем опухоли у мышей опытной серии был более чем на треть меньше, чем в контрольной.

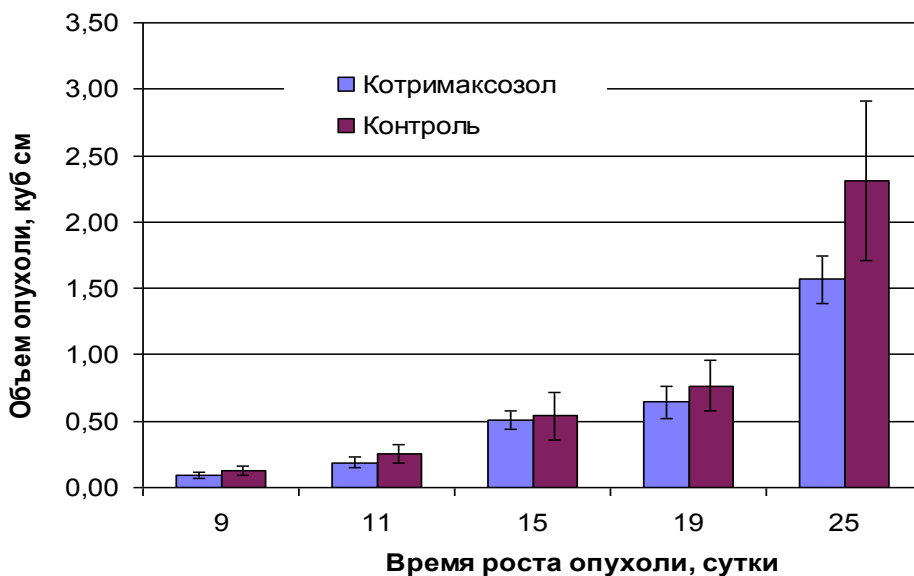
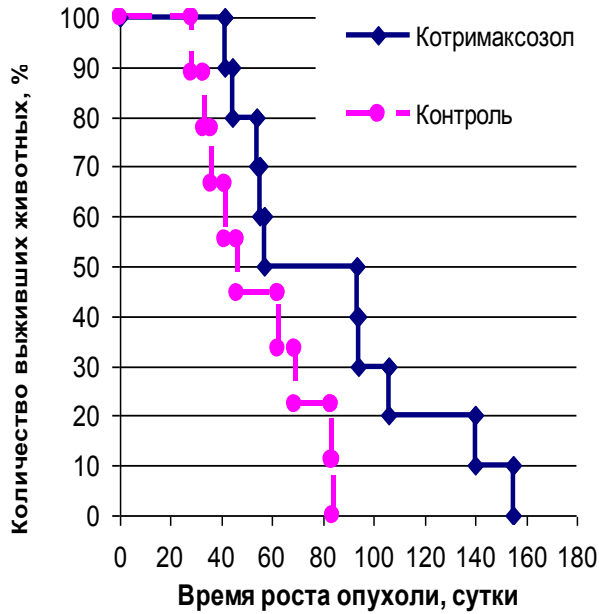
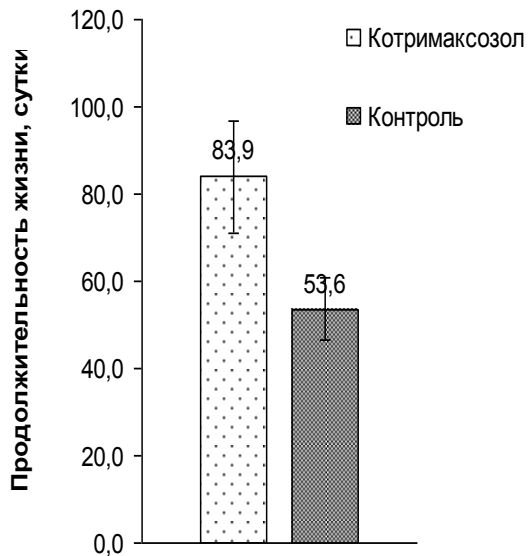


Рисунок 3. Диаграмма изменения средних значений объема подкожной опухоли

Продолжительность жизни опухоленосителей в контроле составила в среднем $53,6 \pm 7,2$ суток, в опытной группе $83,9 \pm 12,8$ суток (на 57% больше). Диаграмма динамики гибели животных и средняя продолжительность жизни представлены на рисунке 4.



а.



б

Рисунок 4. а. Динамика гибели животных.
б. Средняя продолжительность жизни.

Исследований показали:

1. По результатам первого эксперимента можно видеть, что даже кратковременная инкубация клеток АКЭ в растворе котримаксазола приводит к заметному долговременному снижению их пролиферативной активности. Средняя продолжительность жизни мышей, привитых клетками опухоли проинкубированными в котримаксазоле, оказалась вдвое выше, чем у контрольных животных.

2. Второй эксперимент продемонстрировал наличие терапевтической противоопухолевой активности котримаксазола. Ограниченное количество инъекций котримаксазола мышам, с привитой подкожно опухолью АКЭ, снижало активность роста опухоли в организме этих животных, увеличивая их среднюю продолжительность жизни более чем в полтора раза.

Проведенные исследования показали, что котримаксазол способен подавлять рост клеток перевиваемых опухолей у животных и может быть использован как средство ингибирования и контроля роста экспериментальных опухолей. Полученные результаты могут являться отправной точкой в поиске новых противоопухолевых средств в экспериментальной онкологии.

1. F. Y. Ideraabdullah, S.Vigneau, and M. S. Bartolomei. Genomic Imprinting Mechanisms in Mammals. *Mutat Res.* (2008), V. 647, № 1-2, 77–85

2. P. Cheung and P. Lau. Epigenetic Regulation by Histone Methylation and Histone Variants. *Mol Endocrinol.*, 2005, V. 19, № 3, 563-573

3. S.C. Lu, S-Adenosylmethionine. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (2000), V. 32, № 4, 391–395

4. J. D. Finkelstein. Pathways and Regulation of Homocysteine Metabolism in Mammals *Semin. Thromb. Hemostasis* (2000), V.26, № 3, 219–225

6. Patient information on methotrexate. *Arthritis Australia.* Australian Rheumatology Association. February 2008. 1-4

7. A. Menter, A. Gottlieb, S.R. Feldman, A.S. Van Voorhees, C.L. Leonardi, K.B. Gordon, M. Lebwohl, J.Y.M. Koo, C.A. Elmetts, N.J. Korman, K.R. Beutner, R. Bhushan, Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis. *J. Am. Acad. Dermatology.* (2008), V. 58, № 5, 826-850

8. K. W. Jones, S.R. Patel. A Family Physician's Guide to Monitoring Methotrexate. *AmFamPhysician.* (2000), V. 62, № 7, 1607-1612.

9. Машковский М. Д. Лекарственные средства.– М.: Новая волна, 2005.- С. 832-833.

KOTRIMAKSAZOL INHIBIT GROWTH OF EXPERIMENTAL TUMORS/

S. V. Surensky, T.I. Terpinskaya

Kotrimaksazol is able to behave as folic acid intracellular metabolism competitive inhibitor, and therefore can suppress the cell proliferation. Here we report the kotrimaksazol impact on growth of mice transplantable tumor (Ehrlich carcinoma). In our experiments the kotrimaksazol injection led to retardation of tumor growth in size compared with the control and increase of experimental animal lifespan also.

Keywords: experimental tumors, котримаксазол, mice, Ehrlich's carcinoma

Рецензент – кандидат ветеринарных наук **В. В. Уховський.**