

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДИКАРБАМИНА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС

Аннотация. Изучена противоопухолевая и антиметастатическая эффективность дикарбамина и циклофосфана на сингенной опухолевой системе – карциноме легкого Льюис (LLC). Дикарбамин в условиях данной модели с хирургическим удалением первичного опухолевого узла в адьювантном режиме при сочетанном применении с циклофосфаном увеличивал антиметастатический эффект цитостатика.

Ключевые слова: дикарбамин, циклофосфан, карцинома легкого Льюис (LLC).

Abstract. The antitumor and antimetastatic efficacy of dicarbamin and cyclophosphamide on syngeneic tumor system – Lewis lung carcinoma (LLC) are studied. The Dicarbamine in the conditions of given system with surgical excision of primary tumoral knot in an adjuvant regimen at combined application by Cyclophosphanum enlarged antimetastatic effect of cytostatics.

Keywords: dicarbamin, cyclophosphamide, Lewis lung carcinoma (LLC).

Введение

Злокачественные заболевания согласно мировой статистике занимают второе место среди причин смерти [1, 2]. В трудоспособном возрасте (30–64 года) от онкологических заболеваний умирает до 30% всех заболевших [3]. На сегодня в схемах лекарственного лечения злокачественных новообразований наиболее часто применяются противоопухолевые препараты цитостатического или цитотоксического типа действия [2, 4–6]. Используемые схемы современной интенсивной химиотерапии опухолей требуют системы обеспечения их переносимости, т.е. применения препаратов сопровождения. Перспективным в этом плане является дикарбамин (ОАО «Валентафарм, Россия»), применяемый в клинической практике в качестве препарата сопровождения химиотерапии для уменьшения ее миелосупрессивных эффектов [1, 2, 4–9]. Дикарбамин обладает свойствами гематопротектора, действие которого заключается в уменьшении степени нейтро- и лейкопении и сокращении сроков восстановления кроветворения при химиотерапии [4]. Дикарбамин является относительно безопасным лекарственным средством, не проявляет каких-либо побочных эффектов, что является несомненным преимуществом при выборе препарата сопровождения [5, 7, 9].

Весьма важным аспектом в онкофармакологии является не только оценка у препаратов сопровождения способности снижать и (или) защищать организм от нежелательных побочных эффектов противоопухолевых средств, но и изучение их влияния на противоопухолевую эффективность цитостатической терапии и процесс метастазирования, что и стало целью данного исследования [10].

1. Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 120 мышах-самках линии C57B1/6. Животных содержали на стандартном пищевом рационе вивария со свободным

доступом к воде. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (ETS N 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.). Противоопухолевую и антиметастатическую эффективность дикарбамина и циклофосфана изучали на сингенной опухолевой системе из банка опухолевых штаммов РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН – карциноме легкого Льюис (LLC). Опухолевую ткань LLC трансплантировали мышам-самкам линии C57B1/6 внутримышечно в бедро задней лапки слева в количестве 1×10^6 клеток в растворе Хенкса (ООО «Биолот», Россия). С учетом цели исследования было проведено три серии экспериментов. В первой серии контрольная группа с LLC ($n = 10$) получала в течение 10 дней перорально по 0,1 мл физиологического раствора. Животные опытной группы 1 ($n = 10$) получали препарат дикарбамин внутрь в дозе 0,5 мг/кг ежедневно в течение 10 суток после перевивки опухоли LLC. Животные опытной группы 2 ($n = 10$) получали циклофосфан в дозе 20 мг/кг внутривентрально 5-кратно через день. Первое введение циклофосфана и дикарбамина проводили через 24 ч после имплантации опухолевого материала. Животным группы 3 проводили комбинированную терапию дикарбамином и циклофосфаном по указанным схемам.

Животным второй и третьей серий проводилось хирургическое удаление первичной опухоли LLC под нембутал-эфирным наркозом на 13-е сутки после перевивки опухоли. Как во второй, так и в третьей серии животные контрольной группы с LLC ($n = 10$) получали физиологический раствор перорально по 0,1 мл, опытной группы 1 ($n = 10$) – дикарбамин, опытной группы 2 ($n = 10$) – циклофосфан, опытной группы 3 ($n = 10$) – циклофосфан и дикарбамин. Препараты вводили животным второй серии по неoadъювантной схеме, третьей серии – по адъювантной схеме:

- неoadъювантная схема – дикарбамин с 1-х по 13-е сутки эксперимента в дозе 500 мкг/кг; циклофосфан внутривентрально 2-кратно до операции с интервалом 96 ч в дозе 100 мг/кг;

- адъювантная схема – дикарбамин с 14-х суток эксперимента (начало введения через 24 ч после операции) по 27-е сутки. Циклофосфан вводили 2-кратно после операции с интервалом 96 ч в дозе 100 мкг/кг.

Оценку эффективности терапевтических воздействий лекарственных препаратов проводили в соответствии с Методическими рекомендациями по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей [11]. Противоопухолевый эффект оценивали по показателю индекса торможения роста массы первичной опухоли (ИТРО), который в динамике рассчитывали по объему первичного опухолевого узла и в конце эксперимента – по его массе. Антиметастатический эффект оценивали по следующим показателям: процент животных с метастазами, среднее число поверхностных метастазов на одно животное, степень метастатического поражения легких в зависимости от количества и размера метастазов; вычисляли индекс ингибирования процесса метастазирования (ИИМ).

Статистическую обработку результатов экспериментального исследования проводили с помощью пакета статистических программ: русифицированная версия программы Statistica 6.0 (StatSoft – Russia, 1999), BIOSTAT

(S. A. Glantz, McGraw Hill, перевод на русский язык, 1998). Проверка нормальности распределения проводилась по критерию Шапиро-Уилка, полученное значение p оказалось больше критического (0,05), что позволило не отклонять нулевую гипотезу и распределение признака приближенно считать нормальным. Оценка равенства дисперсий производилась с помощью критерия Левена. Определялись основные статистические характеристики: среднее, стандартное квадратическое отклонение. Достоверность различий рассчитана с помощью t -критерия Стьюдента в случае равенства дисперсий, его модификации (t -критерий с раздельными оценками дисперсий) в случае неравенства дисперсий и с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Критическая величина уровня значимости принята равной 0,05.

2. Результаты исследования

Циклофосфан в монорежиме статистически значимо снижал как массу опухоли LLC, так и количество метастазов у животных (табл. 1). Так, масса опухоли в контрольной группе животных составляла $13,3 \pm 0,4$ г, после применения циклофосфана этот показатель снижался до $9,7 \pm 0,3$ г. Среднее количество метастатических колоний в контрольной группе было $15,5 \pm 4,0$, в группе же с использованием цитостатика этот показатель равнялся $3,9 \pm 1,8$. При использовании дикарбамина масса опухоли и среднее число метастазов были статистически значимо меньше контрольных цифр и составили соответственно $11,7 \pm 0,5$ и $9,2 \pm 3,4$ г. При сочетанном применении циклофосфана и дикарбамина наблюдалась тенденция к уменьшению массы опухоли и среднего числа метастазов относительно значения показателя на фоне монотерапии циклофосфаном. ИИМ при совместном применении препаратов составлял 82,0 %, в то время как при раздельной терапии дикарбамином и циклофосфаном ИИМ равнялся 40,0 и 74,8 % соответственно.

Таблица 1

Показатели противоопухолевой и антиметастатической эффективности дикарбамина и циклофосфана при раздельном и сочетанном применении ($M \pm m$)

Показатель	Экспериментальные группы			
	Контроль	Дикарбамин	Циклофосфан	Дик. + Цикл.
Масса тела, г	$35,0 \pm 0,4$	$34,0 \pm 0,5$	$29,5 \pm 0,7$	$28,3 \pm 0,6$
Масса опухоли, г	$13,3 \pm 0,4$	$11,7 \pm 0,5^*$	$9,7 \pm 0,3^{***}$	$9,0 \pm 0,2^{***}$
Среднее число метастазов на одно животное	$15,5 \pm 4,0$	$9,2 \pm 3,4^*$	$3,9 \pm 1,8^{**}$	$2,8 \pm 1,2^{**}$
ИИМ, %		40,0	74,8	82,0

Примечание. Достоверность отличий по отношению к контролю: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$.

Дикарбамин на модели с хирургическим удалением первичного опухолевого узла LLC при сочетанном применении с циклофосфаном в адьювантном режиме увеличивал антиметастатическую эффективность цитостатика (табл. 2).

Таблица 2

Показатели антиметастатической эффективности дикарбамина и циклофосфана в условиях хирургического удаления первичного опухолевого узла при раздельном и сочетанном применении ($M \pm m$)

Опытные группы	Препараты	Частота метастазирования, %	Среднее число метастазов на одно животное	ИИМ, %
Первая схема введения препаратов				
Контроль	физ. раствор	100	$34,8 \pm 4,9$	
Группа 1	дикарбамин	100	$32,0 \pm 11,8$	8,0
Группа 2	циклофосфан	100	$19,5 \pm 5,1^*$	43,9
Группа 3	дикарбамин + циклофосфан	100	$16,4 \pm 2,4^{***}$	52,8
Вторая схема введения препаратов				
Контроль	физ. раствор	100	$37,1 \pm 8,2$	
Группа 1	дикарбамин	100	$28,6 \pm 8,5$	22,9
Группа 2	циклофосфан	100	$18,0 \pm 4,3^*$	51,5
Группа 3	дикарбамин + циклофосфан	100	$6,7 \pm 0,9^{***\#}$	81,9

Примечание. *,*** – $p \leq 0,05$; 0,001 – достоверность отличий по отношению к контролю; # – $p \leq 0,05$ – достоверность отличий по отношению к группе с циклофосфаном.

Выводы

1. Дикарбамин в условиях данного эксперимента в монорежиме умеренно тормозил рост первичного узла модельной опухолевой системы LLC и уменьшал метастазирование.

2. Дикарбамин в данных экспериментальных условиях в комбинации с циклофосфаном не влиял на противоопухолевую и антиметастатическую эффективность цитостатика.

3. Дикарбамин в условиях модели с хирургическим удалением первичного опухолевого узла в адъювантном режиме при сочетанном применении с циклофосфаном увеличивал антиметастатический эффект цитостатика.

Список литературы

1. Гершанович, М. Л. Эффективность дикарбамина в качестве протектора миелодепрессии у больных лимфомой Ходжкина при комбинированной химиотерапии / М. Л. Гершанович, Л.В. Филатова // Вопросы онкологии. – 2007. – Т. 53. – №5. – С. 589–595.
2. Махнова, Е. В. Дикарбамин как протектор лейкопоза и гранулоцитопоза при комбинированной химиотерапии гемзаром и препаратами платины у больных с рецидивами рака яичников / Е. В. Махнова, М. Л. Гершанович // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – №1. – С. 57.
3. Рукавицин, О. А. Гематология / О. А. Рукавицин, А. Д. Павлов, Е. Ф. Морщакова [и др.]. – СПб. : ООО «Д.П.», 2007. – 912 с.
4. Бычков, М. Б. Окончательные результаты кооперированных исследований препарата Дикарбамин в качестве гематопротектора при комбинированной хи-

- миотерапии у онкологических больных / М. Б. Бычков, Н. С. Бесова, С. В. Лимаева [и др.] // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55. – № 5. – С. 627–635.
5. **Трещалин, И. Д.** Модификация миелосупрессивного действия противоопухолевых цитостатиков с помощью перорального гематокорректора дикарбамина (экспериментальное исследование) / И. Д. Трещалин, Д. А. Бодягин, Э. Р. Переверзева [и др.] // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55. – № 6. – С. 769–744.
 6. **Bychkov, M. B.** Results of cooperated trials of dicarbamin as a new protector of hematological toxicity in patients with advanced ovarian cancer receiving myelosuppressive chemotherapy (CT) / M. B. Bychkov, V. A. Gorbunova, V. I. Borisov [et al.] // 20th Int. Congress of Anti-Cancer Treatment. – Paris, France, 2009. – P. 314.
 7. **Ведерникова, Н. В.** Влияние дикарбамина и глутоксима на гематологическую токсичность противоопухолевой химиотерапии : автореф. дис. ... канд. наук / Ведерникова Н. В. – М., 2009. – 20 с.
 8. **Райхлин, Н. Т.** Дифференцировка клеток меланомы человека под действием препарата дикарбамин / Н. Т. Райхлин, В. Е. Небольсин, Д. А. Бодягин [и др.] // Вопросы онкологии. – 2003. – Т. 49. – № 3. – С. 351–358.
 9. **Трещалин, И. Д.** Токсикомодифицирующие свойства дикарбамина в отношении препаратов платиновой группы в комбинации с циклофосфамидом / И. Д. Трещалин, Э. Р. Переверзева, Д. А. Бодягин // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – № 2. – С. 21.
 10. **Седакова, Л. А.** Динамика роста перевиваемых опухолей мышей при проведении химиотерапии под защитой дикарбамина / Л. А. Седакова, Е. М. Трещалина, С. М. Ситдикова, В. Е. Небольсин // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56. – № 5. – С. 591–596.
 11. **Гольдберг, Е. Д.** Методические рекомендации по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей / под ред. Е. Д. Гольдберга, А. Б. Сыркина. – М., 1992. – 16 с.

Кинзирский Александр Сергеевич
главный научный сотрудник,
Институт физиологически активных
веществ РАН (г. Москва)

E-mail: akinz@inbox.ru

Kinzirsky Alexander Sergeevich
Chief researcher, Institute physiologically
active substances of the Russian Academy
of Sciences (Moscow)

Кинзирская Юлия Сергеевна
кандидат медицинских наук, медицинский
советник компании «Сервье» (г. Москва)

E-mail: akinz@inbox.ru

Kinzirskaya Yuliya Sergeevna
Candidate of medical sciences, medical
adviser for “Servie” company (Moscow)

Зиновьев Александр Иванович
врач радиологического отделения
областного онкологического диспансера
(г. Пенза)

E-mail: alivzi@yandex.ru

Zinovyev Alexander Ivanovich
Doctor at the radiological unit
of the Regional oncology dispensary
(Penza)

УДК 615.277.3

Кинзирский, А. С.

Изучение влияния дикарбамина на эффективность цитостатической терапии у мышей с карциномой легких Льюис / А. С. Кинзирский, Ю. А. Кинзирская, А. И. Зиновьев // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2010. – № 4 (16). – С. 44–49.