

ВИВЧЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ І МОДИФІКУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ АМІТОЗИНУ ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЗАСТОСУВАННІ

Сусак Я.М., Дронов О.І., Осінський С.П., Потопальська Ю.А.,
Потопальський А.І.

*Кафедра загальної хірургії Київського медичного університету ім. Академіка О.О.
Богомольця, Київ, Україна,
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.
Р.Є.Кавецького НАН України, Київ, Україна
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, Україна*

З метою поглибленого вивчення амітозину нами проведені експерименти з класичними експериментальними пухлинами на щурах розводки виварію ІЕПОР НАН України. Всього в досліджах було використано 118 щурів. Досліджені такі підшкірно перевиті пухлини: карцинома Герена, саркома 45. Перещплення пухлин і лікування були проведені за загальновизнаними методиками.

Для вивчення механізму дії препарату були проведені дослідження по визначенню концентрації в пухлинній і нормальній тканині малонового діальдегіду (кінцевого продукту перекисного окислення ліпідів як маркерів виникнення вільних радикальних частинок), концентрації відновленого глутатіону, який характеризує як здатність тканин реагувати на шкідливі для організму дії (наприклад вільні радикальні частинки) і нейтралізувати їх, так і може бути визначником реакції пухлини на протипухлинний вплив; активність глутатіон-S-трансферази, яка приймає участь в нейтралізації шкідливих для організму речовин і продуктів метаболізму. Визначалась також реакція пухлини на препарат шляхом визначення рівня біоенергетики тканини за допомогою ^{31}P ЯМР спектроскопії. Вказані вище біохімічні показники тканинного метаболізму є досить показові при визначенні активності тих чи інших протипухлинних агентів як в експерименті, так і в клініці. Досить переконливо показано, що протипухлинні препарати чи речовини, які вивчаються як перспективні протипухлинні агенти, призводять до зменшення концентрації в пухлині відновленого глутатіону і зниженню активності глутатіон-S-трансферази, а також до різкого зменшення рівня

біоенергетичного потенціалу пухлини. Вказані показники зараз використовуються в клініці для визначення характерних ознак позитивної відповіді пухлини на хіміо- і радіотерапію, ефективності лікування і його прогнозу. Концентрацію малонового діальдегіду, відновленого глутатіону, активність глутатіон-S-трансферази визначали загально визнаними біохімічними методами. Сигнали ^{31}P реєстрували на ЯМР спектрометрі 300 (Varian Mercury 300, USA). Отримані результати обробляли статистично.

Вивчений вплив самого препарату, а також його комбінованого застосування разом з гіперглікемією, локальною і загальною гіпертермією і комплексом з хіміотерапевтичним препаратом платидіамом. Найбільш перспективними виявилися досліді з комбінованим застосуванням амітозину і платидіаму (табл. 1).

Таблиця 1.

Результати лікування щурів з карциномою Герена за допомогою амітозину (20 мг/кг в/в) і платидіаму

Форма досліді	Попередній розмір пухлини (см ³)	Гальмування росту пухлини, (%)	ВТ (%)	СТЖ (дні)
Контроль (3)	1.0	--	--	28 (16-38)
Амітозин + Платидіам (8)	1.0	100 повна регресія пухлини – 75%	***	***
Платидіам (6)	0.7	90 повна регресія пухлини – 0	0	21 (16-44)

Примітки:

*** - наведені середні значення, в дужках наведено відхилення результатів; ЧРП – час росту пухлини (час при якому пухлина досягає 25 см³); ЧЗРП – час затримки росту пухлини (різниця в часі, при якому пухлина досягає 25 см³ в контролі і досліді); ВТ – вилікувані тварини; СТЖ – середня тривалість життя щурів від дня перещеплення пухлини.

Амітозин вводили в/в в дозі 20 мг/кг маси за 60 хв до введення платидіаму кожен день, загальна кількість введень – 10; платидіам вводили в/о три рази в обох групах; платидіам разом з амітозином вводили на 1-й, 4-й і 7-й дні терапії; в дужках вказана загальна кількість тварин.

Нами встановлено, що концентрація малонового діальдегіду (МДА) в саркомі 45 не збільшилась після введення амітозину. Це вказує на відсутність активації перекисного окислення ліпідів, що може свідчити про відсутність створення вільних радикалів в тканині пухлини при введенні в організм-пухлиноносій амітозину. Ці висновки стосуються і до нормальних тканин.

Вміст в пухлині відновленого глутатіону був дещо збільшеним. Це вказує на участь системи глутатіону в нейтралізації якихось метаболітів, але не продуктів вільнорадикального окислення. Необхідно звернути увагу на збільшення вмісту відновленого глутатіону в нирках після введення амітозину. Це може вказувати на якусь токсичну дію на нирки.

В цілому отримані дані дозволяють зробити висновок про те, що препарат не активує окислення ліпідів, не є індуктором виникнення вільних радикалів, в той же час може викликати певну токсичну дію на нирки. Згідно даним вмісту в пухлині МДА і відновленого глутатіону не можна робити висновок про прямий цитостатичний ефект амітозину у вказаних дозах.

Виявилось, що введення амітозину приводило до збільшення концентрації МДА в пухлині Герена, що вказує на активацію перекисного окислення ліпідів. Цікаво, що і в нирках спостерігали подібний ефект амітозину.

Виявилось, що вміст відновленого глутатіону знижується в пухлині і в печінці (останнє особливо важливе для пояснення). Це може вказувати на активацію системи глутатіону, яка є захисною системою клітини від різних шкідливих для неї метаболітів, в тому числі і продуктів перекисного окислення ліпідів. Відсутність змін вмісту відновленого глутатіону в нирках на фоні збільшення в них концентрації МДА свідчить про правильність нашого припущення. В цілому ці результати вказують на пряму дію амітозину на карциному Герена, яке проявляється в певному цитостатичному ефекті, про який можна судити на основі змін вмісту МДА і відновленого глутатіону. Підтвердження цьому необхідно шукати в прямих експериментах по визначенню цитостатичної дії амітозину на клітини пухлини. Необхідно також відмітити, що карцинома Герена – епітеліальна пухлина, на відмінність

від саркоми 45, що може вказувати на наявність різних механізмів дії амітозину на ракові новоутворення і саркоми.

Встановлена також відсутність інгібуючої дії амітозину на біоенергетику м'язової тканини. В той же час в пухлині після введення амітозину проходять певні зміни рівня біоенергетики. В цілому їх можна характеризувати як помірне зниження рівня біоенергетики, яке в той же час не може однозначно пояснюватись як прояв пригнічуючого ефекту амітозину на енергетичне забезпечення життєдіяльності пухлинної тканини при введенні амітозину у вказаних дозах і за вказаними схемами.

Висновки:

1. Амітозин проявляє певну протипухлинну дію при досить тривалому введенні. За кількісними показниками цей ефект можна вважати помірним, хоч відмічені випадки повної регресії пухлини. Дуже важливо, що цей ефект більш виражений на сполучнотканинних пухлинах.

2. Штучна гіперглікемія не нівелює протипухлинний ефект амітозину, в той же час не можна стверджувати про стабільне посилення ефекту препарату при введенні в поєднанні з штучною гіперглікемією, хоч відмічалися випадки значного посилення дії амітозину на епітеліальних пухлинах.

3. Відмічено суттєве посилення дії амітозину при його поєднанні з локальною мікрохвильовою гіпертермією при лікуванні щурів з саркомою 45.

4. Встановлено значне посилення дії платидіаму при його поєднанні з амітозином на фоні практичної відсутності токсичних проявів дії платидіаму у щурів з епітеліальною пухлиною. Фактор змін дози склав при цьому 2.0.

5. Вважаємо потрібно застосовувати в експерименті з тваринами амітозин в дозі 20.0 мг/кг маси, введення внутрішньовенне кожен день або через день.

6. Отримані результати дозволяють зробити припущення, що протипухлинний ефект амітозину базується в першу чергу на імуномодуючих ефектах, які можуть виявитися не класичними. Можно також зробити припущення, що амітозин впливає на життєвоважливі для

пухлини системи, пригнічуючи їх функціонування, що призводить до значного зменшення життєдіяльності пухлини, гальмуючи її ріст і нівелюючи токсичний вплив пухлини на організм. На основі експериментів, в яких пухлини після початку лікування тварин амітозином гальмували свій ріст, але не зникали повністю, тоді як загальний стан був досить задовільний, і вони жили набагато довше контрольних, можна припустити, що амітозин проявляє своєрідний біологічний ефект як на пухлину, так і на організм-носії пухлини, що призводить до своєрідного тривалого співіснування пухлини і організму, таким чином до життя організму з пухлиною. Про можливість отримання такого феномену і його терапевтичне значення вказував в свій час М. Фон Ардене (1980). Механізми розвитку такого стану не зрозумілі, але його терапевтична цінність може мати суттєве значення при лікуванні амітозином хворих з поширеним пухлинним процесом і метастазами.

Література

1. Потопальский А.И. Некоторые данные о лечении злокачественных опухолей в эксперименте // В кн.: XXXI конференція наукового студентського товариства Станіславського медінституту, Станіслав. 1961. С. 36-37
2. "Барбарис и его препараты в биологии и медицине" А.И.Потопальский, Л.И.Петличная, С.В.Ивасивка. Киев, "Наукова думка", 1989, -287с.
3. Потопальский А.И. Препараты чистотела в биологии и медицине - Киев, "Наукова думка", -1992. -200 с.
4. Потопальский А.И. Результаты экспериментального изучения нового противоопухолевого препарата «амитозин»: Дис. ... канд. Мед. Наук. – Ивано-Франковск, 1965. -247 с. –Машинопись.
5. Потопальский А.И. Амитозин – перспективный для диагностики, лечения и профилактики новообразований препарат широкого спектра действия // III съезд онкологов стран СНГ, Минск, 26 мая 2004. –С.415
6. Потопальський А.І. Амітозин – ефективний вітчизняний протипухлинний препарат з імуномодулюючою і протівірусною активністю) // Тези доп. І-ої Всеукраїнської науково-практичної конференції "Вітчизняні протипухлинні препарати: аналіз сьогодення та погляд в майбутнє", Київ, 14-15 жовтня 2004 р., –С.13-14.
7. Деклараційний патент на винахід 51566 / Сусак Я.М., Осинський С.П., Потопальський А.І., Потопальська Ю.А. Спосіб лікування раку підшлункової залози –15.11.2002 Бюл. № 11
8. В.М. Ковальчук, Р.К. Тащів, А.І. Потопальський Застосування оригінального протипухлинного препарату з групи алкілованих тіофосфамідом алкалоїдів чистотілу великого в лікуванні хворих зі злякисними пухлинами голови та шиї // Онкологія, 2001. -Т3. -№2-3. –С. 166-168.