

УДК 616.24-006.6-033.2:616-036.87:615.277.3

Л.А. Лацерус¹, Н.М. Пинигина¹, А.М. Козлов², А.Ю. Барышников²**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА АБИСИЛИН®
НА ПРОЦЕСС ИСКУССТВЕННОГО РЕЦИДИВИРОВАНИЯ
И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС МЫШЕЙ**¹ООО «Инитиум-Фарм», Москва²РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва**Контактная информация**

Лацерус Людмила Анатольевна, кандидат медицинских наук, генеральный директор ООО «Инитиум-Фарм»

адрес: 142000, Московская область, г. Домодедово, Каширское ш., д. 7, тел.: +7(499)-722-2357

e-mail: initium-pharm@yandex.ru

Статья поступила: 24.11.2009, принята к печати 25.03.2010.

Резюме

Проведено экспериментальное изучение влияния препарата Абисилин®, содержащего в своем составе природный комплекс терпеноидов хвойных деревьев, на развитие процесса искусственного рецидивирования и метастазирования LLC. Показано, что препарат Абисилин® обладает способностью ингибировать процесс искусственного рецидивирования LLC и подавлять метастазирование рецидивных опухолей на 25–46 %. Наилучший эффект достигался при пероральном и местном применении препарата в течение 7–10 дней в дозе 100–120 мг/кг. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о перспективной возможности использования препарата Абисилин® как агента, способного повысить эффективность хирургического лечения злокачественных новообразований.

Ключевые слова: Абисилин®, перевиваемые опухоли, антирецидивная и антиметастатическая активность.L.A. Latseruz¹, N.M. Pinigina¹, A.M. Kozlov², A.Yu. Baryshnikov²**THE INFLUENCE OF ABISILIN®
ON ARTIFICIAL RECURRENCE
AND METASTASIS FORMATION IN MICE WITH LLC**¹Initium-Pharm, LTD, Moscow²N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow**Abstract**

In this study we have studied the effect of Abisilin® on the metastasis formation and artificial recurrence. We observed that Abisilin® inhibited the artificial recurrence and reduce the number of metastasis for about 25–46 %. Here we show that the local treatment with Abisilin® at the dose 100-120 mg/kg of body weight for 7-10 days or per os administration was more effective. Based on the data obtained, we conclude that Abisilin® could be used as an agent to increase the efficacy of surgical treatment of malignant tumors.

Key words: Abisilin®, transplanted tumor, anti-metastatic and anti-recurrent activity.**Введение**

Лекарственный пероральный препарат Абисилин® содержит в своем составе природный комплекс терпеноидов, полученный из хвойных деревьев семейства *Pinaceae* [6]. Субстанция препарата (Абисил – пихты сибирской терпены) и его лекарственная форма для местного и наружного применения, включенные в Государственный реестр лекарственных средств, проявляют антимикробные, противовоспалительные, ранозаживляющие, иммуномодулирующие и другие фармакологически значимые эффекты [1; 5]. При использовании лекарственной формы Абисила для местного и наружного применения в лечении гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей и кожи было установлено, что это средство обладает многонаправленным действием, обеспечивающим снижение болевых ощущений, предотвращение бактериального загрязнения, ускоренное завершение стадии воспаления и стимуляцию процессов регенерации тканей [4].

Применение Абисила при разных путях введения может оказывать эффективное действие в профилактике и лечении гнойно-септических осложнений, которые наиболее часто возникают у он-

кологических больных со сниженными компенсаторными возможностями различных органов и систем. В связи с этим представляется целесообразным изучить его влияние на развитие опухолевого процесса при моделировании на животных.

Цель настоящего исследования – экспериментальное изучение влияния перорального терпеноидсодержащего препарата Абисилин® на процесс искусственного рецидивирования и метастазирования LLC мышей.

Материалы и методы

В экспериментах использовали мышей линии C₅₇BL₆ и гибридов первого поколения BDF₁ с массой тела 20–25 г с подкожно трансплантированной LLC. Мышей получали из отдела лабораторных животных РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН и содержали на обычном рационе питания.

Все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с международными правилами работы с животными.

Препарат Абисилин® применяли перорально (*per os*) и в некоторых опытах местно в виде масляного раствора в диапазоне доз от 60 до 400 мг/кг.

Таблица 1

Влияние Абисилина® на сроки появления искусственных рецидивов LLC у мышей BDF₁

N	Воздействие	Частота рецидивирования									
		Сутки опыта									
1	Масло 0,1 мл/мышь	7	10	12	14	17	21	26	30		
2	Абисилин® 400 мг/кг	5/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6		
3	Абисилин® 100 мг/кг	5/7	5/7	5/7	5/7	6/6*	6/6	6/6	6/6		
	Абисилин® и масло вводили <i>per os</i> всего 10 дней на 3–7 сутки и затем на 10–14 сутки; *1 мышь пала раньше контрольной	3/7	3/7	3/7	3/7	3/7	3/7	3/7	3/7		

Таблица 2

Влияние Абисилина® на рост искусственных рецидивов LLC у мышей BDF₁

N	Воздействие	Торможение роста опухоли, %									
		Сутки опыта									
1	Масло* 0,1 мл/мышь	7	10	12	14	17	21	26	30		
2	Абисилин® 400 мг/кг	36,0±64,7	104,0±117,8	394,8±367,2	677,3±495,2	1532,7±934,6	3207,7±1949,7	7337,7±3453,0	9455,0±3871,8		
3	Абисилин® 100 мг/кг	86	31	47	2	+21	+3	3	15		
	Абисилин® и масло вводили <i>per os</i> всего 10 дней на 3–7 сутки и затем на 10–14 сутки *в данной группе указан средний объем опухоли в мм ³	64	51	44	42	14	4	5	9		

Таблица 3

Влияние Абисилина® на продолжительность жизни животных при искусственном рецидивировании LLC у мышей BDF₁

N	Воздействие	п мышей, павших раньше контроля	п мышей без рецидивов более 90 суток	СПЖ, дни	УПЖ, %	Рецидив		Частота метастазирования
						Ср. масса, г	ТРО, %	
1	Масло 0,1 мл/мышь	–	0/6	42,6±3,5	–	8,9	–	6/6 1+; 2+++; 3+++
2	Абисилин® 100 мг/кг	0/7	3/7	61,0±19,1	43*	5,7	36	4/4 1+++; 3+++
3	Абисилин® 400 мг/кг	1/7	0/7	35,9±8,7	16	5,8	35	6/6 2+++; 4+++
	Абисилин® и масло вводили <i>per os</i> всего 10 дней на 3–7 сутки и затем на 10–14 сутки *- у 3/7 мышей рецидивы не возникли в течение 90 суток после трансплантации опухолевых клеток.							

Таблица 4

Влияние перорального и местного применения Абисилина® на рост искусственных рецидивов LLC у мышей BDF₁

N	Воздействие	Торможение роста рецидивной опухоли, %									
		Сутки опыта									
1	Контроль*	10	13	16	18	22	25				
2	Операция + масло на шов 0,3 мл/мышь	8,1	181,3	847,0	1297,0	2704,0	4996,7				
3	Операция + Абисилин® 100 мг/кг <i>per os</i>	+39	+64	+52	+76	+75	+56				
4	Операция + Абисилин® 100 мг/кг (на шов 0,3 мл/мышь)	78	67	47	23	10	8				
5	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 100 мг/кг + на шов 0,3 мл/мышь *в данной группе указан средний объем опухоли в мм ³	+95	+55	+54	+37	+60	+95				
		34	62	48	7	+5	34				

Таблица 5

Влияние перорального и местного применения Абисилина® на метастазирование искусственных рецидивов LLC у мышей BDF₁

N	Воздействие	Забой животных на 42 сутки				Частота метастазирования
		Опухоль		Легкие		
		м _{ср} , г	ТРО, %	м _{ср} , мг	ТРМ, %	
1	Контроль	6,5±1,8	-	312,1±27,1	-	8/8[1+;6++; 1+++]
2	Операция + масло на шов 0,3 мл/мышь	10,8±1,9	8	251,1±28,7	10	6/7[1-;1(++); 5+++]
3	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 100 мг/кг	6,0±2,3	+8	271,3±38,1	13	9/9[3+;6++; 1+++]
4	Операция + Абисилин® 100 мг/кг 0,3 мл на шов	8,3±1,9	+27	225,4±11,4	28	7/8[1-; 1+; 4(++); 2+++]
5	Операция + Абисилин® 100 мг/кг <i>per os</i> + 100 мг/кг × 0,3 мл на шов	8,0±1,8	+23	235,2±19,9	25	10/10[1±;3+; 1+(+++); 5+++]

Таблица 6

Влияние Абисилина® на динамику появления искусственных рецидивов LLC у мышей C57BL/6

N	Воздействие	Сутки после прививки	
		6	10
1	Операция + масло <i>per os</i> 0,1 мл/мышь	2/7 (29%)	7/7 (100%)
2	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 60 мг/кг	2/7 (29%)	6/7 (86%)
3	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 120 мг/кг	1/7 (14%)	4/7 (57%)
4	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 360 мг/кг	4/7 (57%)	7/7 (100%)
5	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 360 мг/кг + наружно 0,3 мл/мышь	4/7 (57%)	7/7 (100%)

Таблица 7

Влияние Абисилина® на рост искусственных рецидивов LLC у мышей C57BL/6

N	Воздействие	Торможение роста опухоли, %			
		Сутки опыта			
		10	13	18	21
1	Операция + масло <i>per os</i> * 0,1 мл/мышь	158,0	964,6	2466,3	4260,0
2	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 360 мг/кг	15	+19	+42	+5
3	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 120 мг/кг	67	39	38	10
4	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 60 мг/кг	40	38	28	15
5	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 360 мг/кг + наружно 0,3 мл/мышь	+39	+34	+1	15

*в данной группе указаны объемы p-ра препарата, мм³

Таблица 8

Влияние Абисилина® на рост и метастазирование искусственных рецидивов LLC у мышей C57BL/6

N	Воздействие	Забой животных на 33 сутки				Частота метастазирования	
		Пали ранее	Рецидив		Легкие		
			м _{ср} , г	ТРО, %	м _{ср} , мг		ТРМ, %
1	Операция + масло <i>per os</i> 0,1 мл/мышь	1/7	5,7±2,0	-	449,7±146,1	-	7/7 1+; 5++; 1+++
2	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 60 мг/кг	0/7	4,8±2,3	25	438,9±228,2	2	7/7 4+; 1+; 2+++
3	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 120 мг/кг	0/7	5,1±1,2	20	241,0±36,0	46	7/7 5+; 2+++
4	Операция + Абисилин® <i>per os</i> 360 мг/кг + наружно 0,3 мл/мышь	1/7	4,5±2,8	30	406,0±41,0	10	7/7 1+; 3+; 3+++

В качестве растворителя использовали подсолнечное масло. Изучение влияния препарата Абисилин® на частоту и сроки появления экспериментальной опухоли и динамику последующего развития проводили после имплантации 1×10^5 клеток LLC в 0,1 мл культуральной среды под хирургический шов, наложенный на предварительно произведенный разрез кожного покрова мыши [3].

После этого из общего числа животных формировали контрольную и терапевтические группы. В контрольной группе и в группе особей, получавших лечение, было от 7 до 10 животных. Оценку противоопухолевой, антирецидивной и антиметастатической активности препарата Абисилин® проводили в соответствии с методическими рекомендациями, изложенными в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [2; 3]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что применение Абисилина® перорально в дозах 400 и 100 мг/кг в течение 10 дней (пятидневный курс, затем двухдневный перерыв и еще один пятидневный курс) оказывало выраженное влияние на частоту и сроки появления искусственных рецидивов LLC после трансплантации под шов опухолевых клеток (табл. 1). При этом антирецидивный эффект терапии был выражен в значительно большей степени в случае использования препарата в дозе 100 мг/кг.

Так, в группе животных, получавших Абисилин® в дозе 400 мг/кг, у 2 из 7 рецидивы появились только спустя 14 дней после трансплантации под хирургический шов опухолевых клеток, в то время как в группе животных, получавших Абисилин® в дозе 100 мг/кг, к 12 суткам опыта рецидивы появились у 3 из 7 животных, а у оставшейся части искусственные рецидивы не были обнаружены в течение 90 дней наблюдения. Изучение динамики развития рецидивных опухолей на фоне проведенного лечения препаратом Абисилин® показало наличие ингибирующего влияния терапии в случае индукции искусственных рецидивов трансплантацией под шов 1×10^5 опухолевых клеток, которое продолжалось в течение 10–12 дней после начала эксперимента (табл. 2).

Применение Абисилина® в разовой дозе 100 мг/кг в течение 10 дней увеличивало среднюю продолжительность жизни животных после индукции искусственных рецидивов после трансплантации 1×10^5 опухолевых клеток на 43 % по сравнению с контролем (табл. 3). Контрольные животные прожили в среднем $42,6 \pm 3,5$ дня; животные, леченные Абисилином® в дозе 100 мг/кг – $61,0 \pm 19,1$ день. Применение препарата по той же схеме в дозе 400 мг/кг было менее эффективно. Для усиления антирецидивного эффекта в ряде экспериментов Абисилин® применяли перорально и местно, нанося его на шов, под который трансплантировали опухолевые клетки.

Для перорального применения использовали дозу 100 мг/кг, местно применяли препарат в той же дозе, разведенной в 0,3 мл подсолнечного масла. Перорально и местно препарат Абисилин® применяли с 1-го по 9-й дни после индукции искусственных рецидивов. Полученные результаты представлены в табл. 4 и 5.

Как видно из данных, представленных в табл. 4, пероральное применение Абисилина® умеренно ингибировало развитие рецидивов, в то время как ежедневное в течение 9 последующих дней нанесение масляного раствора Абисилина® на хирургический шов, наложенный на разрез кожного покрова, под который имплантировано 1×10^5 опухолевых клеток, также, как и в случае применения только растительного масла, значительно стимулировало развитие искусственных рецидивов. На фоне одновременного перорального и местного применения препарата отмечен небольшой ингибирующий эффект, однако выраженный в меньшей степени, чем в случае только его перорального применения. В табл. 5 представлены данные, полученные при вскрытии животных на 42-й день после индукции искусственных рецидивов, характеризующие влияние проведенной терапии на процесс метастазирования рецидивных опухолей.

Представленные данные свидетельствуют о способности Абисилина® при местном применении стимулировать развитие рецидивных опухолей на 27 %. Однако на этом фоне стимуляция метастазирования не выявлена. Более того, в группах животных, получавших Абисилин® местно, отмечено ингибирование процесса метастазирования рецидивных опухолей на 28 %, а в группе животных, получавших Абисилин® местно и перорально, – на 25 %. В серии экспериментов, выполненных с целью воспроизведения представленных выше данных, препарат Абисилин® вводили животным в течение 10 последующих дней, начиная сразу после индукции искусственных рецидивов. При этом были использованы 3 возрастающие дозы препарата: 60; 120 и 360 мг/кг. Животные одной группы получали одновременно большую дозу Абисилина® перорально и местно ежедневно в течение 10 дней в зону хирургического шва (табл. 6), пероральное применение Абисилина® ингибировало динамику появления искусственных рецидивов LLC.

Так, у в контрольной группе на 6-е сутки рецидивы появились у 2/7 животных (29 %), а на 10-е – у всех 7/7 (100 %). В то же время в группе животных, получавших Абисилин® в дозе 120 мг/кг на 6-е сутки, рецидивы были выявлены у 1/7 мышей, а на 10-е сутки – у 4/7 (соответственно в 14 и 57 % случаев). Более того, даже на 13-е сутки рецидивы были выявлены только у 5/7 (71%) случаев. Применение Абисилина® в меньшей и большей дозах было менее эффективно. Дополнительное местное применение препарата не повышало антирецидивного эффекта терапии. Проведенное лечение Абисилином® в дозе 120 мг/кг не только ингибировало динамику появления искусственных рецидивов, но и тормозило темпы роста развившихся рецидивных опухолей (табл. 7).

На 10–18-е сутки средний объем рецидивных опухолей мышей, получавших Абисилин® в дозе 120 мг/кг, был на 38–67 % меньше по сравнению с таковыми контрольных животных. Дополнительное местное применение Абисилина® не улучшало результаты лечения. Применение Абисилина® в дозе 120 мг/кг перорально в течение 10 последующих дней снижало интенсивность метастазирования рецидивных опухолей на 46 % (табл. 8). Средняя масса легких, пораженных метастазами, у животных, получавших Абисилин® в дозе 120 мг/кг, была равна $241,0 \pm 36,0$ мг по сравнению с $449,7 \pm 146,1$ мг у таковых контрольной группы. Таким образом, полученные в эксперименте результаты, свидетельствуют о том, что препарат Абисилин® обладает способностью умеренно ингибировать процесс рецидивирования и метастазирования опухолей.

Выводы

1. В экспериментах установлено, что препарат Абисилин® обладает способностью ингибировать частоту искусственного рецидивирования LLC и снижает темпы роста развившихся рецидивных опухолей (ТРО=38–67 %).
2. Выявлено ингибирование процесса метастазирования рецидивных опухолей карциномы легкого Льюис при пероральном и местном применении препарата Абисилин® (ТРМ=25–46 %).

Литература

1. Государственный реестр лекарственных средств. – М., 2004. – Т. 1. – С. 93.
2. Зуева Е.П., Козлов А.М., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии опухолей. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Хабриева Р.У. – М.: Медицина, 2005. – С. 674–82.
3. Козлов А.М., Перетолчина Н.М., Киселев С.М. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению средств, способных ингибировать рецидивирование злокачественных опухолей. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Хабриева Р.У. – М.: Медицина, 2005. – С. 669–74.
4. Лацерус Л.А., Носков А.П., Пинигина Н.М. Биологическая активность и клиническая эффективность нового фитопрепарата «Абисил-1» // Современные проблемы педиатрии и детской хирургии: Материалы Сибирско-Американской научно-практической конференции. 7-8 октября 1998 г. – Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1998. – С. 233–8.
5. Пинигина Н.М., Лацерус Л.А., Брайн Э.В. и др. Средство «Абисил-1», обладающее противовоспалительной, антибактериальной и ранозаживляющей активностью. Патент РФ №2054945 от 27.02.1996. РСТ/RU2008/000147. Pub.No.: WO/2009/113902, 17.09.2009. Pinigina N.M., Latserus L.A., Baryshnikov F.U. et al. Antitumoral terpenoid pharmaceutical composition "Abisilin" exhibiting angiogenesis-inhibiting action.

Издание 2-е, переработанное и дополненное

ЭНЦИКЛОПЕДИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ОНКОЛОГИИ



**Готовится к печати
Издательская группа РОНЦ**