

21. *Castellino F. J., Fish W. W., Mann K. G.* Structural studies on bovine lactoferrin // JBC. 1970. Vol. 245 (1). P. 4269–4275.
22. *Sentchouk V. V., Grintsevich E. E.* Oxidation of benzidine and its derivatives by thyroid peroxidase // Biochemistry. Moscow, 2004. Vol. 69 (2). P. 251–259.
23. *Карасева Е. И., Гапоник П. Н., Метелица Д. И.* Влияние тетразола и его аминокпроизводных на кинетику пероксидазного окисления хромогенных субстратов // Биоорганическая химия. 2004. № 3. С. 316–323.
24. *Uguz M. T., Ozdemir H.* Purification of bovine milk lactoperoxidase and investigation of antibacterial properties at different thiocyanate mediated // Appl. Biochem. Microbiol. 2004. Vol. 41 (4). P. 397–401.
25. Interactions of melatonin and serotonin with lactoperoxidase enzyme / M. Sisecioglu [et al.] // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2010. Vol. 25, № 6. P. 779–783.
26. *Morell D. B.* Derivatives and kinetics of lactoperoxidase // Biochem. J. 1954. Vol. 56 (4). P. 683–690.
27. Антиоксидантная активность гваякола и его замещенных производных / М. В. Потапович [и др.] // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. 2012. № 3. С. 62–69.

Поступила в редакцию 16.12.2014.

Игорь Викторович Семак – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биохимии биологического факультета БГУ.

Екатерина Юрьевна Кохановская – аспирант кафедры биохимии биологического факультета БГУ. Научный руководитель – И. В. Семак.

УДК 591.2-006.6:615.28.001.6(476)

*М. Ю. РЕВТОВИЧ, П. М. БЫЧКОВСКИЙ, О. В. КРАСЬКО, Ю. П. ИСТОМИН,
Е. Н. АЛЕКСАНДРОВА, А. И. ШМАК, Т. Л. ЮРКШТОВИЧ, Ф. Н. КАПУЦКИЙ, Н. В. ГОЛУБ,
В. А. АЛИНОВСКАЯ, Р. И. КОСТЕРОВА, С. О. СОЛОМЕВИЧ, Ю. И. РОГОВ*

ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ ПОЛИМЕР-ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМОЙ ПРОСПИДИНА АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМЫ ЗАЙДЕЛА

На модели трансплантированной асцитной гепатомы Зайдела оценена противоопухолевая активность гидрогеля фосфата декстрана, гидрогелевой и инъекционной форм проспицина. Препарат проспицина в инъекционной форме и в виде гидрогелей (в дозах 250, 500, 750, 1000 мг/кг), а также гидрогель фосфата декстрана (в дозах 500 и 1000 мг/кг) вводили крысам однократно внутривентриально (в объеме 1 или 2 мл на каждые 100 г веса животного). Исследования показали, что все лекарственные формы вызывают торможение прироста массы тела крыс с асцитной гепатомой Зайдела, а также достоверно повышают их среднюю продолжительность жизни. Отмечено статистически значимое увеличение кумулятивной выживаемости при применении полимер-иммобилизованной формы проспицина как при сравнении с контролем – [logrank: chi2 on 4 df = 60,5; $p = 0,000\ 001$], так и при сравнении с водными растворами проспицина 250 мг/кг – [logrank: chi2 on 1 df = 5,1; $p = 0,024$]. При сравнении гидрогелевой и инъекционной форм проспицина в дозах 500 и 750 мг/кг отмечена лишь тенденция к увеличению показателей кумулятивной выживаемости – [logrank: chi2 on 1 df = 3,4; $p = 0,067\ 1$] и [logrank: chi2 on 1 df = 3,1; $p = 0,080\ 2$] соответственно.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о возможности интраперитонеального применения гидрогелей проспицина при лечении и профилактике диссеминированных поражений брюшины и являются основанием для проведения аналогичных исследований в клинике.

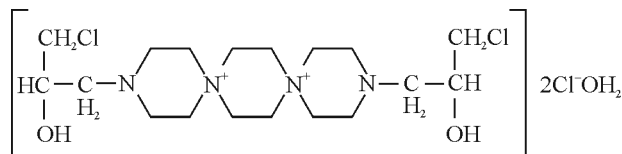
Ключевые слова: противоопухолевая активность; проспицин; фосфат декстрана; пролонгированная форма.

Antineoplastic effect of hydrogel dextran phosphate, hydrogel prospidin and prospidin in an injectable preparation has been assessed using Seidel ascites hepatoma as a model. Injectable and hydrogel prospidin in doses from 250, 500, 750 to 1000 mg/kg and hydrogel phosphate dextran in doses of 500 and 1000 mg/kg were administered to rats intraperitoneally in a single dose in a volume of 1 or 2 ml per each 100 g of animal body weight. The study has shown that irrespective of their form all of the drugs applied display an inhibiting effect on the body mass growth of rats with Seidel ascites hepatoma and significantly increase their life expectancy. There was a statistically significant increase in the cumulative survival rate when using polymer-immobilized prospidin as compared with control – [logrank: chi2 on 4 df = 60,5; $p = 0,000\ 001$], and by comparison with aqueous prospidin solution 250 mg/kg – [logrank: chi2 on 1 df = 5,1; $p = 0,024$]. When comparing the hydrogel and aqueous prospidin solution in doses of 500 and 750 mg/kg, marked only a tendency to increase the performance of the cumulative survival – [logrank: chi2 on 1 df = 3,4; $p = 0,067\ 1$] and [logrank: chi2 on 1 df = 3,1; $p = 0,080\ 2$], respectively. The experimental data indicate the possibility of intraperitoneal application of hydrogels prospidin in the treatment and prevention of disseminated peritoneal lesions and are the basis for similar studies in the clinic.

Key words: antitumor activity; prospidin; dextran phosphate; prolonged form.

Диссеминация опухоли по брюшной полости рассматривается сегодня как распространенный, прогностически неблагоприятный опухолевый процесс. Лечение данной категории пациентов – сложная и до конца не решенная задача современной онкологии, что обусловлено ограниченными возможностями современных методов лечения в части воздействия на диссеминаты из-за плохой васкуляризации последних и слабого проникновения химиотерапевтических лекарственных средств через гемато-перитонеальный барьер. Применяемая в настоящее время интраперитонеальная химиотерапия характеризуется недостаточной эффективностью, поскольку не позволяет обеспечить пролонгацию противоопухолевой активности используемых с этой целью химиопрепаратов.

Для усовершенствования интраперитонеальной химиотерапии в учреждении БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем» создана полимер-иммобилизованная форма противоопухолевого лекарственного средства проспидин [дихлорид N,N³-ди(γ-хлор-β-оксипропил)-N¹, N²-диспиротрипиперазиния]:



Проспидин (Пр) характеризуется хорошей переносимостью, большим диапазоном доз, при которых проявляется терапевтическое действие препарата без побочных явлений. Преимущества использования Пр, по сравнению с другими противоопухолевыми лекарственными средствами, заключаются в наличии противоопухолевого действия при местном применении и относительно низких параметрах токсичности. Однако биологическая доступность терапии с использованием Пр ограничена быстрым периодом полувыведения, что препятствует достижению максимального лечебного действия [1]. В связи с этим повышение эффективности терапии Пр возможно в результате применения его пролонгированных форм, получаемых путем иммобилизации Пр на нетоксичных биodeградируемых полимерах. В качестве полимера-носителя использован фосфат декстрана, синтезированный по методу [2].

Цель настоящей работы – изучить возможность применения макромолекулярной терапевтической системы «фосфат декстрана – проспидин» для лечения экспериментального канцероматоза на модели интраперитонеально перевитой асцитной гепатомы Зайдела.

Материалы и методы исследования

Изучение специфической активности препаратов проведено на 110 белых беспородных крысах с перевитой внутрибрюшинно гепатомой Зайдела (Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург). Для эксперимента крысам массой тела 184 ± 7 г вводили внутрибрюшинно по 0,5 мл асцитной жидкости, полученной на 5-е сут после трансплантации. Через 24 ч после перевивки опухоли крысам вводили однократно внутрибрюшинно препараты в виде 10 % водных растворов проспидина, гелей фосфата декстрана (ФД) и полимер-иммобилизованной формы проспидина (массовое соотношение «фосфат декстрана – проспидин» составляет 1 : 1), регулируя дозу препарата вводимым объемом.

Образцы полимер-иммобилизованной формы Пр синтезировались в результате набухания ФД в водном растворе цитостатика при массовом соотношении ФД : Пр = 1 : 1 [2] с последующим лиофильным высушиванием и стерилизацией радиационным методом (доза – 1,5 МРад). Критериями оценки противоопухолевого эффекта являлись: динамика изменения массы тела крыс (ежедневное взвешивание), средняя продолжительность жизни (СПЖ), число излеченных животных. Мерой оценки излеченности считали количество животных, переживших трехкратный срок СПЖ в группе контроля. Схема эксперимента и дозы препаратов представлены в табл. 1.

Таблица 1

Схема эксперимента и вводимые дозы препаратов

№ группы	Доза препарата, мг/кг	Объем вводимого препарата, мл/100 г
1	Контроль	–
2	ФД 1000	1,0
3	ФД 500	0,5
4	Пр 1000	1,0
5	Пр 750	0,75
6	Пр 500	0,5
7	Пр 250	0,25
8	ФД 250 + Пр 250	0,25
9	ФД 500 + Пр 500	0,5
10	ФД 750 + Пр 750	0,75
11	ФД 1000 + Пр 1000	1,0

Исследования проводились в соответствии с техническим кодексом «Надлежащая лабораторная практика» (от 28 марта 2008 г. № 56) и международными этическими и научными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных (Хельсинская декларация Всемирной медицинской ассоциации, 2000).

Для анализа воздействия исследуемых препаратов на динамику прироста массы тела животных в группах сравнения в 1–4-е сут наблюдения использовался дисперсионный анализ ANOVA (от англ. ANalysis Of VAriance – анализ результатов экспериментальных исследований). Учитывая значительную разницу исходных масс тела крыс между различными группами животных, для объективного суждения о динамике массы тела в начальный период наблюдения вычисляли процент прироста массы тела крыс по отношению к первым суткам наблюдения. Для оценки выживаемости применялся подход Каплана – Мейера, значимость различий оценивалась с использованием логрангового критерия.

Оценку совместного влияния водного раствора проспидина, его гидрогелевой формы и фосфата декстрана на выживаемость выполняли путем регрессионного анализа, в котором использовалась непараметрическая модель пропорциональных рисков Кокса [3] с робастными оценками стандартной ошибки. Для оценки значимости влияния фактора риска на выживаемость применялся критерий Вальда (Wald test). При использовании регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса параметр считался значимо влияющим на исход (параметр значимо отличался от нуля), если $p_{\text{Вальда}} < 0,05$. При тестировании значимости влияния факторов риска на выживаемость лабораторных животных дополнительно определялось пороговое значение: $p = 0,1$. Если вероятность нулевой гипотезы о равенстве параметра нулю находилась в пределах 0,05–0,10, считалось, что тенденция влияния фактора на риск наступления неблагоприятного исхода имела место [3]. На основе коэффициентов регрессии определялось снижение относительного риска. Для этого рассчитывались обратные экспоненцированные значения коэффициентов регрессии. Доверительные интервалы снижения относительного риска устанавливались на основе соответствующих доверительных интервалов коэффициентов регрессии аналогичным образом.

Анализ данных выполняли с использованием статистического пакета RV 3.1.1 (GPL-лицензия) [4].

Результаты исследований и их обсуждение

Тенденции в различной противоопухолевой активности водных растворов Пр различной концентрации и гидрогелевых форм Пр были отмечены уже с первых суток проведения эксперимента и проявились различной динамикой процента прироста массы тела экспериментальных животных в течение первых 4 сут наблюдения (табл. 2).

Таблица 2

Средний процент прироста массы крыс с перевитой гепатомой Зайдела при использовании исследуемых препаратов

№ группы	Доза препарата, мг/кг	Средний процент прироста	Ошибка среднего	95 % ДИ
1	Контроль	8,1	1,57	4,5 ÷ 11,6
2	ФД 1000	-11,8	1,73	-15,7 ÷ -7,9
3	ФД 500	-7,1	2,61	-13,0 ÷ -1,2
4	Пр 1000	-2,4	2,74	-8,6 ÷ 3,8
5	Пр 750	-9,5	0,48	-10,6 ÷ -8,4
6	Пр 500	0,9	2,64	-5,0 ÷ 6,9
7	Пр 250	-1,1	1,21	-3,9 ÷ 1,6
8	ФД – Пр 250	0,2	1,45	-3,1 ÷ 3,5
9	ФД – Пр 500	0,7	4,92	-10,5 ÷ 11,8
10	ФД – Пр 750	-8,7	0,96	-10,9 ÷ -6,6
11	ФД – Пр 1000	-5,9	3,74	-14,4 ÷ 2,5

Отмечено, что использование как водных растворов Пр, так и гидрогелевых форм Пр приводило к статистически значимым различиям в приросте массы тела в сравнении с 1-ми сут наблюдения, а именно: для групп с использованием растворов Пр (группы 4–7) $p = 0,001$ 6; для групп с использованием гидрогелей Пр (группы 8–11) $p = 0,000$ 01. Интраперитонеальное применение ФД (группы 2, 3) не сопровождалось статистически значимым изменением массы тела животных (ANOVA). В то же время

динамика прироста массы тела в рассматриваемый период имела различия, зависевшие не только от формы лекарственного средства, вводимого интраперитонеально (водный раствор или гидрогель), но и от использованной дозы Пр в составе раствора или гидрогеля.

Положительный прирост массы тела имел место в контрольной группе, что было проявлением прогрессирующего роста гепатомы Зайдела. Во всех остальных группах, включая группы с использованием ФД 500 и 1000 мг/кг, прирост отсутствовал или был отрицательным, что свидетельствовало о наличии противоопухолевого действия. Процент прироста массы тела был тем меньше, чем большая доза Пр (в растворе или гидрогеле) и ФД (как при самостоятельном его применении, так и в составе гидрогеля) была использована.

Последующая динамика массы тела крыс в сроки от 4 сут наблюдения и далее была продолжением тенденций, описанных нами выше для первых 4 сут наблюдения. Так, в группе контроля имело место увеличение объема асцитической жидкости и, как результат, статистически значимый прирост массы тела с 236 ± 19 г (на 1-е сут наблюдения) до 372 ± 7 г к 15-м сут ($p = 0,003$). Интраперитонеальное введение ФД не предотвращало накопления асцитической жидкости, что сопровождалось увеличением массы тела крыс со 181 ± 6 г до 270 ± 12 г к 22-м сут наблюдения ($p = 0,000$) при использовании ФД 1000 мг/кг и со 199 ± 8 г до 300 ± 40 г к 17-м сут наблюдения при использовании ФД 500 мг/кг ($p = 0,001$). В дальнейшем масса тела крыс в группе 2 (ФД – 1000 мг/кг) снижалась таким образом, что к 26-м сут наблюдения оказалась сопоставимой с массой тела в начале эксперимента – на 1-е сут наблюдения. Описанная динамика массы тела крыс может свидетельствовать о наличии у ФД самостоятельной противоопухолевой активности в отношении перевитой внутрибрюшинно гепатомы Зайдела, при этом наибольший эффект выражен при использовании ФД в дозе 1000 мг/кг. Подтверждением нашего предположения является дозозависимое увеличение СПЖ павших животных с $11,3 \pm 1,57$ сут (500 мг/кг) до $18,11 \pm 2,81$ сут (1000 мг/кг) – $p = 0,003$ (табл. 3).

Таблица 3

Число излеченных животных с перевитой гепатомой Зайдела и СПЖ павших животных

№ группы	Доза препарата, мг/кг	Число крыс в группе	Число погибших животных	СПЖ, сут	Число излеченных животных
1	Контроль	10	10	$12,43 \pm 1,18$	0/10
2	ФД 1000	10	9	$18,11 \pm 2,81$	1/10
3	ФД 500	10	10	$11,30 \pm 1,57$	0/10
4	Пр 1000	10	4	$17,25 \pm 3,45$	6/10
5	Пр 750	10	6	$16,67 \pm 1,89$	4/10
6	Пр 500	10	3	$13,33 \pm 3,84$	7/10
7	Пр 250	10	7	$17,0 \pm 3,70$	3/10
8	ФД – Пр 250	10	2	– ***	8/10
9	ФД – Пр 500	10	0	–	10/10**
10	ФД – Пр 750	10	3	$29,67 \pm 3,48^*$	7/10
11	ФД – Пр 1000	10	4	$20,50 \pm 5,04^*$	6/10

* Достоверные различия с контролем ($p < 0,05$). ** Животные были выведены из эксперимента на 50-е сут, так как отсутствовали признаки опухолевого процесса и их состояние было расценено как излечение. *** СПЖ невозможно оценить из-за небольшого количества павших животных.

Кумулятивная выживаемость при использовании ФД 1000 мг/кг также достоверно превысила таковую в контроле (рис. 1) – [logrank: χ^2 on 2 df = 6,4; $p = 0,039$ 8], в то время как при применении ФД 500 мг/кг была сопоставима с контрольной группой.

Риск гибели животного от прогрессирования опухолевого процесса при использовании ФД 1000 мг/кг был достоверно ниже при сравнении с контрольной группой – снижение относительного риска (ОР) 2,70 (95 %, ДИ (доверительный интервал) – $1,27 \div 5,78$) ($p = 0,010$), в то же время эффект от использования ФД 500 мг/кг был сопоставим с группой контроля – снижение ОР 0,85 (95 %, ДИ – $0,35 \div 2,06$) ($p = 0,725$) (табл. 4).

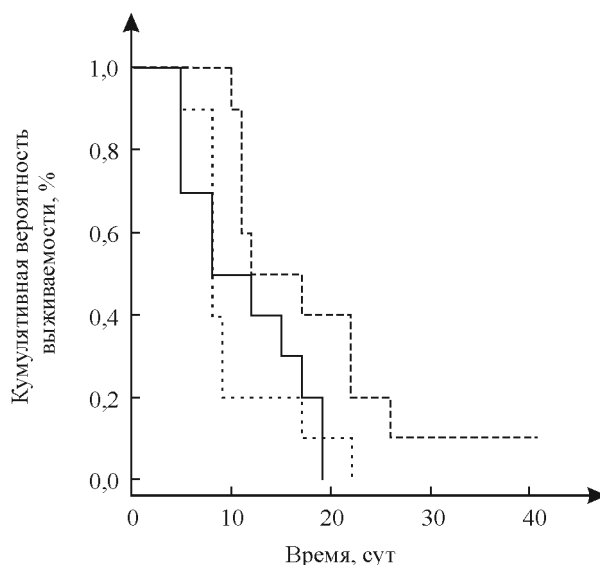


Рис. 1. Кумулятивная выживаемость белых беспородных крыс при интраперитонеальном применении ФД: — контроль; --- ФД 1000 мг/кг; -·-·- ФД 500 мг/кг

Таблица 4

Относительный риск наступления летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса у крыс с асцитной гепатомой Зайдела при различных вариантах терапии в сравнении с контролем

Исследуемый препарат, мг/кг	Коэффициент регрессии β	Стандартная ошибка	Снижение относительного риска (ДИ)	P
ФД 1000	-0,995	0,387	2,70 (1,27 ÷ 5,78)	0,010
ФД 500	0,159	0,459	0,85 (0,35 ÷ 2,06)	0,725
Пр 1000	-2,308	0,590	10,05 (3,16 ÷ 31,96)	<0,001
Пр 750	-1,695	0,501	5,45 (2,04 ÷ 14,55)	<0,001
Пр 500	-2,616	0,721	13,68 (3,33 ÷ 56,13)	<0,001
Пр 250	-1,470	0,488	4,35 (1,67 ÷ 11,33)	0,003
ФД – Пр 250	-3,192	0,739	24,35 (5,72 ÷ 103,7)	<0,001
ФД – Пр 500	-20,25	0,425	>1000 (>1000 ÷ >1000)	<0,001
ФД – Пр 750	-2,833	0,545	17,0 (5,84 ÷ 49,5)	<0,001
ФД – Пр 1000	-2,422	0,539	11,27 (3,92 ÷ 32,42)	<0,001

Именно дозозависимая природа описанных выше явлений заставляет исключить случайный характер приведенных нами динамики массы тела, ее прироста, а также влияния различных доз ФД на кумулятивную выживаемость и позволяет предположить наличие самостоятельной противоопухолевой активности ФД в отношении асцитной гепатомы Зайдела. Вероятным объяснением наличия такой активности у полимера-носителя может быть способность ФД подавлять адгезивную и имплантационную возможности опухолевых клеток. Известно, что склонность опухолевых клеток к инвазии определяется их возможностью мигрировать, адгезироваться к поверхности брюшины и подвергаться деструкции экстрацеллюлярный матрикс [5]. Есть предположение, что предотвратить развитие диссеминированного поражения брюшины можно, подавляя адгезивную способность опухолевых клеток. Согласно литературным данным способность некоторых препаратов подавлять указанные выше свойства опухолевых клеток является одним из путей влияния на перитонеальный канцероматоз [6–8]. Идея подавления имплантационной способности опухолевых клеток для профилактики и лечения перитонеального канцероматоза не нова. В работе [6] отмечено подавление роста экспериментальной опухоли у мышей после интраперитонеального введения сульфата декстрана, а также увеличение СПЖ экспериментальных животных после интраперитонеальной инокуляции клеток меланомы и сульфата декстрана. Кроме декстранов эффектом подавления адгезивной способности опухолевых клеток обладают фосфолипиды за счет образования слоя на поверхности брюшины, препятствующего адгезии опухолевых клеток [7, 8].

В частности, в эксперименте был продемонстрирован эффект снижения степени распространенности перитонеальной диссеминации после интраперитонеального введения фосфолипидов (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, нейтральные липиды, сфингомиелин) [7–9]. Примечательно, что эффект был достигнут без использования химиопрепаратов, т. е. в условиях сниженного риска развития токсических явлений. В обычной клинической практике маловероятно, что можно рассчитывать на эффективное лечение канцероматоза при изолированном использовании полимеров-носителей, подобных упомянутым выше. Однако возможность суммации противоопухолевого действия химиотерапевтических лекарственных средств, вводимых внутривентриально, и полимеров-носителей (например, декстранов) позволяет при использовании более низких доз химиотерапевтических лекарственных средств в составе полимер-иммобилизованных химиопрепаратов рассчитывать на получение противоопухолевого эффекта, эквивалентного использованию более высоких доз водных растворов. В этом случае риск развития системных токсических явлений будет снижен.

При оценке динамики массы тела крыс, как критерия проведенного лечения, с 4-х сут наблюдения и далее наиболее выраженный противоопухолевый эффект, проявившийся торможением роста асцитной гепатомы Зайдела и, как результат, отсутствием достоверного увеличения массы тела в динамике наблюдения, был отмечен в случае использования гидрогелевых форм Пр в дозах 250–1000 мг/кг и водных растворов Пр в дозах 750 и 1000 мг/кг. Применение водных растворов Пр с концентрацией последнего 250 и 500 мг/кг оказалось неэффективным, поскольку не предотвращало увеличения массы тела в динамике наблюдения, которое составило: для Пр 250 мг/кг – со 145 ± 7 до 203 ± 18 г ($p = 0,004$), для Пр 500 мг/кг – со 181 ± 4 до 203 ± 7 г ($p = 0,010$).

Сравнение СПЖ павших животных в группах с применением гидрогелевой формы Пр и водных растворов Пр с СПЖ в контроле свидетельствует о преимуществе использования полимер-иммобилизованной формы препарата. Из табл. 3 видно, что при применении ФД – Пр в дозах 750 и 1000 мг/кг СПЖ достоверно выше, чем в контроле, а при введении ФД – Пр 500 мг/кг павших животных не было вообще. При использовании ФД – Пр 250 мг/кг СПЖ не оценивалась, поскольку пало только 2 животных. В отношении водных растворов Пр можно говорить лишь о тенденции к увеличению СПЖ среди павших животных.

При оценке кумулятивной выживаемости методом Каплана – Мейера статистически значимые различия, по сравнению с контролем, были отмечены как для водных растворов Пр – [logrank: χ^2 on 4 df = 21,8; $p = 0,000 216$] (рис. 2), так и для гидрогелевых форм Пр – [logrank: χ^2 on 4 df = 60,5; $p = 0,000 001$] (рис. 3).

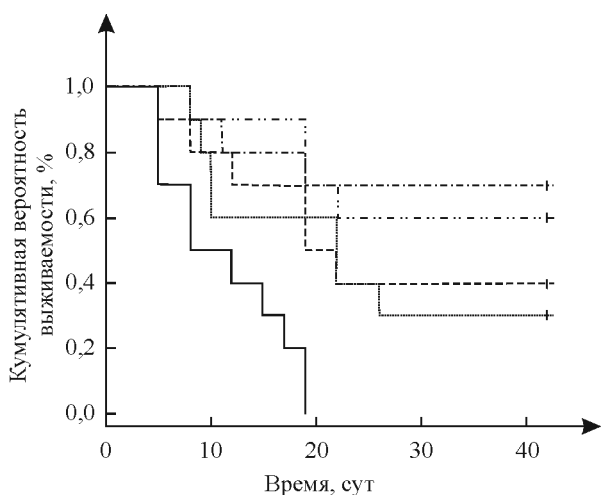


Рис. 2. Кумулятивная выживаемость белых беспородных крыс при интраперитонеальном применении водных растворов Пр: --- 250 мг/кг; 500 мг/кг; - · - · - 750 мг/кг; - - - - 1000 мг/кг; — контроль

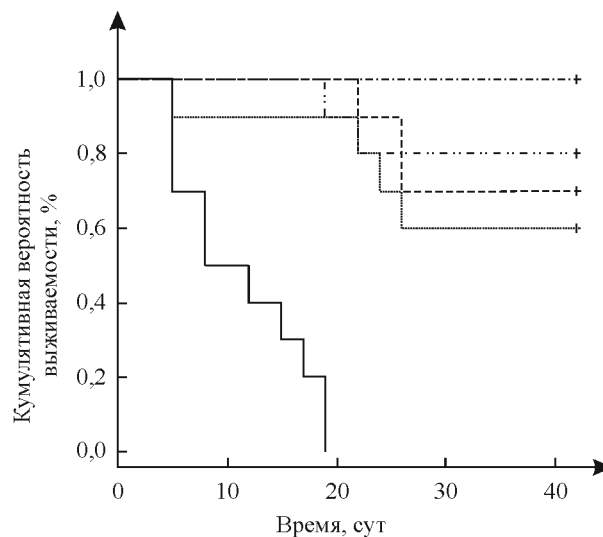


Рис. 3. Кумулятивная выживаемость белых беспородных крыс при интраперитонеальном применении гидрогелей Пр: --- 250 + ФД 250 мг/кг; 500 + ФД 500 мг/кг; - · - · - 750 + ФД 750 мг/кг; - - - - 1000 + ФД 1000 мг/кг; — контроль

Аналогично кумулятивной выживаемости статистически значимое снижение ОР наступления летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса отмечено в сравнении с контролем как при использовании водных растворов Пр, так и его гидрогелевых форм (см. табл. 4).

При оценке снижения ОР наступления летального исхода в группах, в которых использовались гидрогели Пр в сравнении с группами, где применялись водные растворы, отмечено статистически значимое снижение ОР при использовании ФД – Пр 250 мг/кг и ФД – Пр 500 мг/кг и тенденция к снижению ОР при использовании ФД – Пр 750 мг/кг в сравнении с водным раствором Пр в той же дозе (табл. 5). Статистически значимого снижения ОР гибели от прогрессирования опухолевого процесса при использовании Пр 1000 мг/кг в форме гидрогеля в сравнении с водным раствором не отмечено.

Таблица 5

Относительный риск наступления летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса у крыс с асцитной гепатомой Зайдела при терапии гидрогелем Пр в различных дозах в сравнении с водными растворами Пр

Исследуемый препарат, мг/кг	Коэффициент регрессии β	Стандартная ошибка	Снижение относительного риска (ДИ)	<i>p</i>
ФД – Пр 250	-1,722	0,804	5,60 (1,16 ÷ 27,06)	0,032
ФД – Пр 500	-17,64	0,707	>1000 (>1000 ÷ >1000)	<0,001
ФД – Пр 750	-1,138	0,663	3,12 (0,85 ÷ 11,44)	0,086
ФД – Пр 1000	-0,114	0,703	1,12 (0,28 ÷ 4,44)	0,871

Сравнительный анализ кумулятивной выживаемости в группах, пролеченных с использованием водных растворов Пр и эквивалентных по дозе цитостатика гидрогелевых форм Пр, также позволил выявить определенные преимущества использования, проявившиеся как достоверным увеличением выживаемости при сравнении ФД – Пр 250 мг/кг и Пр 250 мг/кг – [logrank: chi2 on 1 df = 5,1; *p* = 0,024], так и тенденцией к увеличению выживаемости при сравнении ФД – Пр 500 мг/кг с Пр 500 мг/кг – [logrank: chi2 on 1 df = 3,4; *p* = 0,067 1] и ФД – Пр 750 мг/кг с Пр 750 мг/кг – [logrank: chi2 on 1 df = 3,1; *p* = 0,080 2]. Различий в кумулятивной выживаемости при использовании ФД – Пр 1000 мг/кг и Пр 1000 мг/кг нами отмечено не было – [logrank: chi2 on 1 df = 0; *p* = 0,865], так же как и снижения ОР наступления летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса. Возможно, это связано с токсическим действием Пр в указанных выше дозах. Показатель излеченности в этих двух группах оказался идентичным – 60 %, а СПЖ павших животных также статистически не отличалась – $17,25 \pm 3,45$ сут (Пр – 1000 мг/кг) и $20,5 \pm 5,04$ сут (ФД – Пр – 1000 мг/кг).

Анализ показателей, использованных нами в качестве критериев эффективности проведенного лечения гепатомы Зайдела, свидетельствует о преимуществах использования гидрогелевых форм Пр (за исключением упомянутой выше дозы Пр 1000 мг/кг), которые заключаются в более высоких показателях кумулятивной выживаемости, а также СПЖ среди павших животных. Немаловажно, что данный эффект достигается более низкими дозами Пр в комбинации с ФД, что объясняется пролонгированным характером противоопухолевой активности данных лекарственных форм. Уменьшение дозы химиопрепарата, не влияя на эффективность лечения в целом, может позволить избежать токсических побочных эффектов интраперитонеальной химиотерапии и удешевить стоимость лечения.

Полученные экспериментальные данные о положительном влиянии гидрогелевой формы Пр на течение интраперитонеально перевитой гепатомы Зайдела свидетельствуют о возможности использования данного лекарственного средства при лечении диссеминированных поражений брюшины и для профилактики перитонеальной диссеминации у радикально оперированных пациентов.

Известно, что в настоящее время арсенал дополнительных противоопухолевых воздействий при диссеминированном поражении брюшины весьма ограничен, а применяемая в таких ситуациях системная химиотерапия малоэффективна из-за плохого проникновения химиотерапевтических лекарственных средств через гематоперитонеальный барьер и недостаточной васкуляризации диссеминатов. В связи с этим использование интраперитонеальной химиотерапии для профилактики и лечения перитонеальной диссеминации представляется наиболее целесообразным. По мнению некоторых исследователей, важной составляющей эффективного использования интраперитонеальной химиотерапии является пролонгированный характер противоопухолевой активности химиопрепаратов, вводимых в брюшную полость [5, 6, 10]. Одно из перспективных направлений, предложенных для этой цели, – создание комбинированных препаратов на основе биodeградируемых гелей [4, 10]. К таким полимерам-носителям относится гидрогель фосфата декстрана, получаемый этерификацией декстрана ортофосфорной кислотой. Применительно к интраперитонеальной химиотерапии использование данного гидрогеля в качестве полимера-носителя представляется оптимальным: он является биосовместимым полимером,

относится к классу малотоксичных веществ, не обладает антигенной активностью; содержит функциональные группы $\text{PO}(\text{OH})_2$, CONH_2 , способные связывать проспидин путем ионных и донорно-акцепторных взаимодействий. Молекулярная масса фосфата декстрана составляет около 60 тыс. Да, что препятствует его проникновению через гематоперитонеальный барьер в системный кровоток [2].

Таким образом, на основании используемых критериев оценки противоопухолевой эффективности водных растворов Пр и гидрогелевых форм Пр на животных с перевитой интраперитонеально гепатомой Зайдела установлено, что иммобилизованная форма Пр с массовым соотношением «ФД – цитостатик», равным 1 : 1, обеспечивает повышение эффекта противоопухолевой активности по сравнению с водным раствором Пр. Об этом свидетельствуют рост числа излечиваемых животных, достоверное увеличение кумулятивной выживаемости и снижение риска летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса. Последнее говорит о выраженном ингибирующем действии иммобилизованной формы Пр на течение опухолевого процесса, подтверждением чему являются данные об отсутствии нарастания массы тела экспериментальных животных в динамике наблюдения.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о возможности интраперитонеального применения гидрогелей проспирина при лечении и профилактике диссеминированных поражений брюшины и являются основанием для проведения аналогичных исследований в клинике.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Фармакокинетика проспирина у крыс / В. А. Чернов [и др.] // Фармакокинетика и метаболизм лекарственных препаратов : сб. науч. тр. Всесоюз. науч.-исслед. химико-фармацевтического ин-та. М., 1978. Вып. 7. С. 23–46.
2. Фосфаты крахмала и декстрана: получение и возможность использования в медицинских целях / Т. Л. Юркштович [и др.] // Тез. докл. XXIII Междунар. науч.-техн. конф. «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии» (Минск, 27–29 окт. 2010 г.). Минск, 2010. С. 42.
3. Therneau T., Grambsch P. Modeling Survival Data: Extending the Cox Model. New York, 2000.
4. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing [Electronic resource]. 2014. URL: <http://www.R-project.org/> (date of access: 01.11.2014).
5. Intraperitoneal administration of paclitaxel solubilized with poly(2-methacryloxyethyl phosphorylcholine-co-n-butyl methacrylate) for peritoneal dissemination of gastric cancer / D. Soma [et al.] // Cancer Sci. 2009 Vol. 100, № 10. P. 1979–1985.
6. Intraoperative Chemotherapy with Carbon Particles Adsorbing Mitomycin-C for Gastric-Cancer with Peritoneal Dissemination in Rabbits / A. Hagiwara [et al.] // Surgery. 1988. Vol. 104. P. 874–881.
7. Reduction of peritoneal carcinomatosis by intraperitoneal administration of phospholipids in rats / J. Otto [et al.] [Electronic resource]. 2007. URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/7/104/> (date of access: 07.02.2014).
8. Weiss C., Tietze L., Schumpelick V. Phospholipids reduce the intraperitoneal adhesion of colonic tumor cells in rats and adhesion on extracellular matrix in vitro // Intern. J. Col. Dis. 2004. Vol. 19. P. 525–532.
9. Inhibition of gastric cancer cell adhesion in nude mice by intraperitoneal phospholipids / M. Jansen [et al.] // World J. Surg. 2005. Vol. 29. P. 708–714.
10. 5-FU-hydrogel inhibits colorectal peritoneal carcinomatosis and tumor growth in mice / Y. Wang [et al.] [Electronic resource]. 2007. URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/10/402> (date of access: 16.08.2010).

Поступила в редакцию 15.01.2015.

Михаил Юрьевич Ревтович – кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела абдоминальной онкопатологии РНПЦ ОМР имени Н. Н. Александрова.

Павел Михайлович Бычковский – кандидат химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории структурно-химической модификации полисахаридов и лекарственных средств на их основе учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», директор УП «Унитехпром БГУ».

Ольга Владимировна Красько – кандидат технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биоинформатики Объединенного института проблем информатики НАН Беларуси.

Юрий Петрович Истомин – доктор медицинских наук, заведующий отделом комплексной терапии с экспериментальной группой и группой химиотерапии РНПЦ ОМР имени Н. Н. Александрова.

Елена Николаевна Александрова – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела комплексной терапии с экспериментальной группой и группой химиотерапии РНПЦ ОМР имени Н. Н. Александрова.

Андрей Иванович Шмак – доктор медицинских наук, заведующий отделом абдоминальной онкопатологии РНПЦ ОМР имени Н. Н. Александрова.

Татьяна Лукинична Юркштович – кандидат химических наук, заведующая лабораторией структурно-химической модификации полисахаридов и лекарственных средств на их основе учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем».

Федор Николаевич Капуцкий – академик, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории структурно-химической модификации полисахаридов и лекарственных средств на их основе учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем».

Наталья Васильевна Голуб – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории структурно-химической модификации полисахаридов и лекарственных средств на их основе учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем».

Валентина Александровна Алиновская – старший научный сотрудник лаборатории структурно-химической модификации полисахаридов и лекарственных средств на их основе учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем».

Раиса Ивановна Костерова – научный сотрудник лаборатории структурно-химической модификации полисахаридов и лекарственных средств на их основе учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем».

Сергей Олегович Соломевич – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории структурно-химической модификации полисахаридов и лекарственных средств на их основе учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем». Научный руководитель – П. М. Бычковский.

Юрий Иванович Рогов – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий курсом патологической анатомии Белорусской медицинской академии последипломного образования.

УДК 582.285

А. К. ХРАМЦОВ

О ВЫЯВЛЕНИИ В БЕЛАРУСИ ГРИБА *PAEPALOPSIS TRIENTALIS* (BERK.) CIF.

Изложены сведения о нахождении в Беларуси гриба *Paepalopsis trientalis* (Berk.) Cif., паразитирующего на седмичнике европейском (*Trientalis europaea* L.) и представляющего собой анаморфу головневого гриба *Urocystis trientalis* (Berk. & Broome) B. Lindeb. Приведена историческая справка об изучении данного облигатного паразита растений рода *Trientalis* L. (Primulaceae) на территории Беларуси.

По результатам исследования образцов *P. trientalis*, собранных в окрестностях д. Сычевичи Молодечненского р-на Минской обл. Беларуси, дана краткая морфологическая характеристика выявленного микромицета. Указан гербарный материал, послуживший основанием для статьи и хранящийся в гербарии Белорусского государственного университета (MSKU), где также представлены сборы телеоморфы возбудителя головни седмичника из четырех локалитетов Беларуси.

Ключевые слова: *Paepalopsis trientalis*; анаморфа; *Urocystis trientalis*; головневые грибы; *Trientalis europaea*; Беларусь.

The data concerning the localization of the fungus *Paepalopsis trientalis* (Berk.) Cif. within Belarus is presented. This species is a parasite of the european starflower (*Trientalis europaea* L.) and corresponds to the anamorph of a smut fungus *Urocystis trientalis* (Berk. & Broome) B. Lindeb. We also supply a historical account of the research work done in Belarus on this obligate plant parasite of *Trientalis* L. (Primulaceae).

We provide a brief morphological description of *P. trientalis* based on the assessing of samples collected near Sychevichi village (Molodzechno district, Minsk region, Belarus). The herbarium samples that are referred to in our work and serve as the grounds for this article are retained in Belarusian State University Herbarium (MSKU). This collection also includes *P. trientalis* teleomorph samples from four Belarusian locations.

The results of this research work extend our knowledge of morphometric characteristics and distribution of european starflower smut and might be taken into consideration when compiling the inventory of Belarusian mycobiota.

Key words: *Paepalopsis trientalis*; anamorph; *Urocystis trientalis*; smut fungi; *Trientalis europaea*; Belarus.

Paepalopsis trientalis (Berk.) Cif. представляет собой анаморфную стадию головневого гриба *Urocystis trientalis* (Berk. & Broome) B. Lindeb. (Urocystidaceae, Urocystidales, Ustilaginomycetes, Basidiomycota), паразитирующего на растениях рода *Trientalis* L. (Primulaceae), в частности на седмичнике европейском (*Trientalis europaea* L.) [1–6]. Возбудитель головни седмичника распространен в Европе (Центральная, Северная, Восточная), Азии, Северной Америке [1–3, 5, 6], однако по сравнению с телеоморфной стадией его анаморфа реже регистрируется исследователями. Так, например, из числа сопредельных с Беларусью стран нахождение *P. (= Paepalopsis) trientalis* отмечено на северо-западе европейской части России [7].

Для Беларуси возбудитель головни седмичника впервые отмечается Л. С. Гутнер по материалам А. А. Ячевского в Брестской обл. на *T. europaea* в 1941 г. [1]. Позже, в 1975 г., для той же территории он указывается М. К. Игнатавичюте [3], однако из данных публикаций неясно, в какой стадии патоген был собран в Беларуси.

В гербарии Белорусского государственного университета хранятся образцы телеоморфы возбудителя головни *T. europaea* из следующих четырех локалитетов Беларуси: Минская обл., Молодечненский р-н, окрестности д. Сычевичи, у канала вблизи спортивно-оздоровительного комплекса «Бригантина», сосняк мшистый, 21.08.2009, собрал и определил А. К. Храмцов; Минская обл., Мядельский р-н, окрестности к. п. Нарочь, вблизи санатория «Нарочанский берег», сосняк мшистый, 09.09.2011, собрал и определил А. К. Храмцов; Брестская обл., Дрогичинский р-н, окрестности д. Кремно, сосняк чернично-мшистый, 29.06.2013, собрала Е. А. Бушко, определил А. К. Храмцов; Минская обл., Мядельский р-н, окрестности д. Осово, березняк, 25.08.2013, собрала С. С. Каркоцкая, определил А. К. Храмцов (рис. 1). Данный материал опубликован в нескольких работах и расширяет сведения о распространении возбудителя головни седмичника европейского [8–10].

В мае 2011 г. на территории Беларуси в пределах геоботанической подзоны дубово-темнохвойных лесов Ошмянско-Минского геоботанического округа, Минско-Борисовского геоботанического района нами отмечена анаморфная стадия (*Paepalopsis trientalis*) вышеуказанного облигатного паразита седмичника европейского. Анаморфа гриба найдена в том же местообитании, где нами ранее (2009) отмечалась его телеоморфа (см. рис. 1).