



*Р.В. Журиков, Л.П. Коваленко, С.В. Алексеева, С.В. Никитин,
А.Д. Дурнев*

Влияние производных 5-оксипиримидина на противоопухолевый эффект гемцитабина, гематологические показатели и продолжительность жизни у мышей с аденокарциномой Ca755

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Введение. Совместное применение цитостатиков с лекарственными препаратами из других групп является перспективным методом снижения гематотоксичности.

Цель. Оценить влияние производных 5-оксипиримидина и гемцитабина, а также их комбинаций на торможение роста опухоли, выживаемость и гематологические показатели животных с аденокарциномой Ca755.

Материалы и методы. Мыши линии C57BL после инокуляции аденокарциномы Ca755 получали СНК-411, СНК-578, гемцитабин или их комбинации со 2-го по 15-ый день развития опухоли. На 9, 16 и 21 день развития опухоли измеряли объем и рассчитывали торможение роста опухоли. На 22-ой день половину животных отсадили для исследования выживаемости, вторую половину животных вывели из эксперимента и взяли кровь для анализа.

Результаты. В экспериментальных группах активного контроля и при введении СНК-411, СНК-578 и гемцитабина отмечено снижение содержания гемоглобина и эритроцитов по сравнению с интактным контролем. Введение производных 5-оксипиримидина совместно с гемцитабином препятствовало угнетению кроветворения. Различия содержания тромбоцитов не выходили за пределы референсных значений. В межгрупповых показателях лейкоцитарной формулы не было выявлено значимых различий. Через 7 дней после 14-ти дневного введения СНК-411 торможение роста опухоли (ТРО) составило 45 %, у СНК-578 ТРО составило 53 %, введение гемцитабина вызывало торможение роста опухоли на 61 %. При курсовом введении СНК-411 совместно с двукратным введением гемцитабина ТРО составило 79 %. Совместное введение СНК-578 с гемцитабином вызывало торможение роста опухоли на 80 %. Увеличение продолжитель-

ности жизни (УПЖ) при введении гемцитабина составило 44 %, при введении СНК-411 — 18 %, при введении СНК-578 — 21 %. Совместное введение гемцитабина с СНК-411 вызывало увеличение продолжительности жизни на 62 %, сочетание введения СНК-578 с гемцитабином — на 71 %.

Заключение. Комбинация гемцитабина с производными 5-оксипиримидина позволила получить выраженный противоопухолевый эффект без проявлений гематотоксичности.

Ключевые слова: гемцитабин; гематотоксичность; 5-оксипиримидины; аденокарцинома Ca755

Для цитирования: Журиков Р.В., Коваленко Л.П., Алексеева С.В., Никитин С.В., Дурнев А.Д. Влияние производных 5-оксипиримидина на противоопухолевый эффект гемцитабина, гематологические показатели и продолжительность жизни у мышей с аденокарциномой Ca755. Вопросы онкологии. 2023;69(2):238-245. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-238-245

Введение

Цитостатические препараты, оказывают влияние не только на клетки опухоли, но и на активно пролиферирующие ткани организма. Воздействие цитостатиков на костный мозг приводит к развитию гематотоксических побочных эффектов, таких как анемия, тромбоцитопения и лейкопения. Данные осложнения нередко приводят к нарушению режима лечения с уменьшением дозы препаратов, отсрочкой очередного курса лечения или к его прерыванию [1]. Среди солидных опухолей самая высокая частота анемии зарегистрирована среди опухолей легких и молочной железы [2].

Одним из подходов к повышению эффективности классической цитостатической терапии

злокачественных новообразований является применение комбинаций цитостатиков с лекарственными средствами других фармакологических групп, направленное на усиление противоопухолевого действия и снижение числа побочных эффектов [3].

В наших предыдущих исследованиях на экспериментальных моделях эпидермоидной карциномы легкого Lewis и меланомы B-16 было показано, что производные 5-оксипиримидина СНК-411 и СНК-578 обладают противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами, а также противоопухолевым и антиметастатическим действием [4–6]. Большинство производных пиримидина являются малотоксичными соединениями, обладают адаптогенными свойствами и антиоксидантной активностью, стимулируют клеточный и белковый обмен, ускоряют дифференцировку клеток [7].

В настоящей работе для совместного введения с производными 5-оксипиримидина животным с аденокарциномой Ca-755 был выбран гемцитабин — антиметаболит группы аналогов пиримидина (2'-дезоксидифторцитидин монохлорид), который вошел в первую линию противоопухолевой терапии и успешно применяется в клинической практике при лечении многих видов злокачественных новообразований [8]. При терапии диссеминированной аденокарциномы молочной железы человека он может применяться в режиме монотерапии, в частности, введение гемцитабина пациенткам с раком молочной железы в дозе 1250 мг/м² в течение 1 нед. после самого первого введения гемцитабина вызывало миелотоксичность у всех пациентов, что приводило к прекращению терапии [9].

Целью настоящей работы является сравнительная оценка эффективности противоопухолевого действия субтерапевтической дозы гемцитабина и его комбинаций с курсовым введением СНК-411 и СНК-578, оценка количественного состава эритроцитарного, лейкоцитарного и тромбоцитарного звеньев периферической крови животных-опухоленосителей при применении гемцитабина и указанных комбинаций, а также их влияние на выживаемость самок мышей C57BL/6 с аденокарциномой молочной железы Ca755.

Материалы и методы

В отделе химии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» синтезированы производные 5-оксипиримидина: СНК-411 [2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин, патент RU2518889 C2 (Bull. № 16, 10.06.2014, ФИПС, Москва)] и хорошо растворимый в воде СНК-578 [хлоргидрат 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина — патент RU 2686672 C1 (Bull. № 13, 30.04. 2019, ФИПС, Москва)].

СНК-411 и СНК-578 использованы в настоящей работе в виде фармацевтической субстанции. В качестве позитивного контроля и препарата для изучения совместного действия с производными 5-оксипиримидина применяли гемцитабин (Гемцитар, Биокад, Россия).

Работа выполнена на 130 самках мышей линии C57BL/6, полученных из филиала «Столбовая» ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животных содержали в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» при 12-часовом световом режиме на стандартном сбалансированном брикетированном корме со свободным доступом к пище и воде при естественном освещении и температуре воздуха 20–21 °С. Животных содержали в соответствии с приказом Минздрава России № 199н от 01 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и СП 2.2.1.3218–14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях) и правилами работы с животными, утвержденными этической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

В опытах на мышках линии C57BL/6 изучено влияние производных 5-оксипиримидина и гемцитабина на торможение роста опухоли и увеличение продолжительности жизни животных, которым имплантировали аденокарциному молочной железы Ca755. Штаммы опухолевых клеток аденокарциномы молочной железы Ca755 получены из банка опухолевых материалов НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России. Взвесь опухолевых клеток (50 мг в 0,5 мл раствора Хэнкса на мышь) аденокарциномы Ca755 имплантировали животному подкожно в область подмышечной впадины. Стандартная перевивочная доза составляла не менее 5×10^6 клеток/мышь. День подкожной перевивки клеток опухолевого штамма считали нулевым днем развития опухоли.

Гемцитабин (Гемцитар, Биокад, Россия), лиофилизат растворяли в изотоническом растворе натрия хлорида и вводили внутривенно (в/в) в дозе 100 мг/кг на 2-ой день развития опухоли и в дозе 50 мг/кг — на 9-й день развития опухоли. Суммарная доза в 150 мг/кг гемцитабина является субтерапевтической, её выбрали с целью лимитирования гематотоксического действия. СНК-411 разводили в 1 % растворе крахмала и вводили в/в в дозе 25 мг/кг. СНК-578 разводили в дистиллированной воде и вводили в/в в дозе 10 мг/кг. Оба соединения вводили с 2-го по 15-ый день развития опухоли.

В экспериментальных группах было по 20 животных, группа интактного контроля включала 10 животных. В исследование вовлечены животные в семи группах:

- 1) группа интактных животных (интактный контроль);
- 2) группы активного контроля с аденокарциномой Ca755: животные, не получавшие лекарственную терапию; 10 самкам мышей C57BL/6 с аденокарциномой Ca755 вводили 0,2 мл 1 % раствора крахмала в/в в течение 14 дней, 10 животным с аденокарциномой Ca755 14 дней в/в вводили 0,2 мл дистиллированной воды;
- 3) группа животных с аденокарциномой Ca755, которым вводили в/в в течение 14 дней СНК-411 в дозе 25 мг/кг;
- 4) группа животных с аденокарциномой Ca755, которым вводили в/в в течение 14 дней СНК-411 в дозе 25 мг/кг + гемцитабин в/в, двукратно на 2-й и 9-й дни развития опухоли (суммарная доза 150 мг/кг);

5) группа животных с аденокарциномой Ca755, которым вводили в/б в течение 14 дней СНК-578 в дозе 10 мг/кг;

6) группа животных с аденокарциномой Ca755, которым вводили в/б в течение 14 дней СНК-578 в дозе 10 мг/кг + гемцитабин в/б, двукратно на 2-й и 9-й дни развития опухоли (суммарная доза 150 мг/кг);

7) группа животных с аденокарциномой Ca755, которым вводили в/б гемцитабин, двукратно на 2-й и 9-й дни развития опухоли (суммарная доза 150 мг/кг).

В опытных группах и в группе активного контроля на 9, 16 и 21 день развития опухоли инженерным микрометром измеряли объем опухоли в трех измерениях и определяли торможение роста опухоли (ТРО) по сравнению с активным контролем. Торможение роста опухоли в процентах (ТРО, %) вычисляли по формуле: $TPO \% = [(V_{\text{контроля}} - V_{\text{опыта}}) / V_{\text{контроля}}] \times 100 \%$, где $V_{\text{контроля}}$ — средний объем опухоли в группе активного контроля (мм³), $V_{\text{опыта}}$ — средний объем опухолей в опытной группе, (мм³). Согласно методическим рекомендациям, минимальные критерии противоопухолевой активности — ТРО $\geq 70 \%$.

На 22 день опыта оставили на выживание по 10 животных в каждой группе, чтобы оценить действие терапии на увеличение средней продолжительности жизни (УПЖ). УПЖ вычисляли по формуле: $УПЖ, \% = [(СПЖ_{\text{опыта}} - СПЖ_{\text{контроля}}) / СПЖ_{\text{контроля}}] \times 100 \%$, где СПЖ — средняя продолжительность жизни в днях. Согласно методическим рекомендациям, минимальным критерием УПЖ животных с солидными опухолями является УПЖ не менее, чем на 50 %.

Для изучения влияния производных 5-оксипириимидина и гемцитабина на гематологические показатели крови на 22-ой день у 10 животных интактного контроля и 60 животных из 2–7 экспериментальных групп брали кровь путем декапитации. Подсчет форменных элементов крови и гемоглобина у мышей проводили на автоматическом гематологическом анализаторе ВС-2800 («MINDRAY», Китай). Соотношение различных видов лейкоцитов (окраска мазков крови по Романовскому) было проанализировано на компьютеризированной микроскопической системе МЕКОС-Ц2 (Мекос, Россия), микроскоп «Nikon Eclipse E200» (Nikon, Япония). Для стандартизации процесса приготовления мазков крови использовали автоматическое устройство для приготовления мазков крови V-SAMPLER (Vision, Австрия). Препараты крови фиксировали и окрашивали автоматически на приборе-автомате ЭМКОСТЕЙНЕР-АВТО АФОМК8-В-01 (ЭМКО, Россия).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения STATISTICA 12. Проверка на нормальность распределения проводилась с применением критерия Шапиро-Уилка. Все регистрируемые характеристики животных представлены в табл. в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$), либо медианы и квартилей $Me (Q1 \div Q3)$. Для проверки гипотезы об однородности групп исследования с нормальным распределением в исследуемой популяции проводили тестирование отсутствия различий между группами при помощи t-критерия Стьюдента. В случае распределения, отличающегося от нормального, для сравнения показателей использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Оценку гомогенности дисперсий проводили по тесту Левена. Значимость влияния факторов при гомогенной дисперсии определялась с помощью дисперсионного анализа ANOVA, с последующей обработкой методом множественных сравнений по Тьюки. Анализ выживаемости проводился с использованием метода Каплана-Майера, для оценки достоверности различий между кривыми выживаемости использовался F-критерий Кокса. Результаты считались статистически достоверными, если значение p было меньше или равным 0,05.

Результаты

Показатели крови, объема опухоли и выживаемости у мышей подгрупп активного контроля, которым вводили 1 % раствор крахмала или дистиллированную воду, не имели статистически достоверных отличий. Поэтому сравнение данных у животных опытных групп, которым вводили производные 5-оксипириимидина и гемцитабин, проводилось с суммарными показателями общего активного контроля. В результате проведенных исследований было установлено, что у мышей, которым вводили СНК-411 и СНК-578 (3 и 5 группа), показатели гемоглобина и эритроцитов не имели значимых различий по сравнению с группой активного контроля и были ниже показателей, полученных в группе интактного контроля ($p < 0,05$) (табл. 1). У мышей 7 группы после двукратного введения гемцитабина в суммарной дозе 100 мг/кг + 50 мг/кг содержание гемоглобина было ниже на 25 % и эритроцитов на 32 % показателей в группе интактного контроля и в 6 группе (СНК-578 + гемцитабин). В крови мышей, которым вводили СНК-411 и СНК-578 в сочетании с гемцитабином (группы 5 и 6), содержание гемоглобина и эритроцитов значимо не отличалось от уровня интактного контроля. В группе совместного введения СНК-411 с гемцитабином содержание гемоглобина было на 62 %, а количество эритроцитов — на 78 % выше, чем в группе активного контроля. В группе совместного введения СНК-578 с гемцитабином содержание гемоглобина было выше на 69 %, а количество эритроцитов — на 86 % по сравнению с активным контролем. Выявленные групповые различия содержания тромбоцитов не выходили за пределы референсных значений. Значимые различия в содержании лейкоцитов выявлены только между первой и второй контрольными группами ($p < 0,05$). В остальных группах, несмотря на выраженный лейкоцитоз, пределы колебаний данного показателя были столь велики, что при статистической обработке не представлялось возможности определить значимость различий. Во всех экспериментальных группах в лейкограмме отмечено различие с контрольной группой: число палочко- и сегментоядерных нейтрофилов было выше контрольного показателя в среднем в 3–4 раза, моноцитов больше на 57–130 % и, соответственно, количество лимфоцитов было, в среднем, в 2–3 раза ниже, чем в группе контроля. Следует отметить, что нейтрофилия и лимфопения отмечены во всех группах, за исключением 4-ой группы, у которой показатели лейкоцитарной формулы (кроме моноцитов) находились в референсных интервалах для данного вида животных. Моноцитоз регистрировали с 3 по 7 группы. Значимые различия с активным контролем наблюдались в 4 группе (СНК-411 25 мг/кг

+ гемцитабин 150 мг/кг) и 7 группе (гемцитабин 150 мг/кг), в которых содержание лимфоцитов и моноцитов было выше данных активного контроля, а число сегментоядерных нейтрофилов, соответственно, ниже.

Таким образом, курсовое введение производных 5-оксипиримидина вместе с двукратным введением гемцитабина (группы 4 и 6) препятствовало угнетению кроветворения и развитию анемии у мышей с аденокарциномой Ca755 по сравнению с группой активного контроля и оказывало протективное действие на показатели эритропоза. Полученные результаты согласуются с данными о положительном влиянии производных пиримидина и 3-гидроксипиридина ксимедона и мексидола, и их липосомальных форм на выраженность анемии у крыс с карциномой Walker-256, вызванной введением доксорубицина и паклитаксела, а также доксорубицина и циклофосфамида [10, 11].

Через 7 дней после 14-ти дневного введения СНК-411 в дозе 25 мг/кг мышам с аденокарциномой Ca755 ТРО составило 45 % (p = 0,21), при введении СНК-578 в дозе 10 мг/кг ТРО составляло 53 % (p = 0,07). Введение гемцитабина на 2 и 9 день опыта в суммарной дозе 150 мг/кг вызывало ТРО на 61 % (p = 0,02). При совместном введении СНК-411 с гемцитабином определено ТРО на 79 % (p = 0,001). При курсовом введении СНК-578 совместно с двукратным введением гемцитабина через 7 дней после окончания введения препаратов ТРО составило 80 % (p = 0,001) (табл. 2). Таким образом, введение комбинации гемцитабина с производными 5-оксипиримидина оказывало противоопухольевый эффект, соответствующий критериям эффективности. Необходимо также отметить, что при введении гемцитабина животные были вялыми и малоподвижными, совместное введение гемцитабина и производных 5-оксипиримидина значительно улучшало их состояние.

Таблица 1. Оценка 14-ти дневного введения СНК-411 и СНК-578 отдельно и совместно с двукратным введением гемцитабина на показатели периферической крови самок мышей линии C57Bl/6 с аденокарциномой Ca755

Группа/ показатель	1 группа интактный контроль	2 группа активный контроль	3 группа СНК-411 25 мг/кг	4 группа СНК-411 25 мг/кг + гемцитабин 150 мг/кг	5 группа СНК-578 10 мг/кг	6 группа СНК-578 10 мг/кг + гемцитабин 150 мг/кг	7 группа гемцитабин 150 мг/кг	
Гемоглобин г/л HGB	120,0 117,0;135	66,0 ₁ 61,0;75,0	79,0 _{1,4,6} 63,0;88,0	107,0 _{2,3,5} 98,0;115,0	69,0 _{1,4,6} 63,0;77,0	112,0 _{2,3,5,7} 94,0;129,0	89,0 _{1,2,6} 78,0;103,0	
Эритроцит млн. RBC	9,30 8,84;9,38	4,43 ₁ 4,27;5,43	5,40 _{1,4,6} 5,03;5,68	7,90 _{2,3,5} 7,22;8,97	5,10 _{1,4,6} 4,67;5,79	8,24 _{2,3,5,7} 7,24;8,97	6,31 _{1,2,6} 5,64;7,35	
Гематокрит% HCT	39,0 35,0;40,0	21,0 ₁ 19,0;23,0	22,0 _{1,4,6} 21,0;24,0	33,0 _{2,3,5} 32,0;39,0	22,0 _{1,4,6} 20,0;24,0	37,0 _{2,3,5} 30,0;38,0	28,0 _{1,2,6} 25,0;33,0	
Тромбоциты тыс. PLT	712 556;882	490 361;512	444 _{4,6,7} 320;525	1050 _{2,3,5} 857;1107	507 _{4,6,7} 314,0;538	791 _{2,3,5} 711;1097	762 _{2,3,5} 678;996	
Лейкоциты, тыс. WBC	15,9 13,8;26,0	26,0 ₁ 24,0;29,9	45,9 15,3;118,3	29,7 13,8;32,1	23,5 19,6;68,6	24,6 22,1;26,7	26,8 25,5;36,0	
ЛЕЙКОГРАММА	П	0,0 0,0;0,0	3,0 ₁ 2,0;3,5	4,0 ₁ 3,0;6,0	1,5 ₁ 1,0;4,0	3,0 ₁ 2,0;6,0	3,0 ₁ 1,0;4,0	2,0 ₁ 1,0;3,0
	С	13,0 9,0;14,0	52,0 ₁ 45,0;58,0	52,0 _{1,4,6,7} 48,0;56,0	21,0 _{1,2,3,5,6} 18,0;29,0	47,0 _{1,4} 35,0;61,0	39,0 _{1,3,4} 38,0;50,0	34,0 _{1,2,3} 31,0;38,0
	Э	1,0 0,0;4,0	1,5 0,0;2,0	0,5 0,0;1,0	0,5 0,0;2,0	0,0 0,0;1,0	2,0 1,0;4,0	2,0 0,0;4,0
	Б	0,0 0,0;1,0	0,0 0,0;1,0	0,0 0,0;0,0	0,0 0,0;0,0	0,0 0,0;1,0	0,0 0,0;0,0	0,0 0,0;0,0
	М	6,0 5,0;6,0	4,0 3,0;4,5	11,0 ₁ 8,0;20,0	9,5 _{1,2} 8,0;14,0	14,0 ₁ 9,0;24,0	10,0 _{1,2} 6,0;14,0	10,0 _{1,2} 7,0;10,0
	Л	81,0 76,0;83,0	35,5 ₁ 33,0;45,5	30,0 _{1,4,6,7} 21,0;38,0	65,5 _{1,2,3,5} 58,0;71,0	33,0 _{1,4,7} 22,0;43,0	43,0 _{1,3} 37,0;51,0	51,0 _{1,2,3,5} 45,0;56,0

Примечание: n — количество животных в группе; 1-7 — p < 0,05 по критерию Манна-Уитни по сравнению с группой под указанным номером

Таблица 2. Оценка 14-ти дневного введения СНК-411 и СНК-578 отдельно и совместно с двукратным введением гемцитабина на торможение роста опухоли самок мышей линии C57Bl/6 с аденокарциномой Ca755

Группы, n=10	Средний объем опухоли, мм			ТРО на 21 сут, %
	9-е сут	16-е сут	21-е сут	
Активный контроль	3958,7±461,9	12766,6±1376,1	18837,4±4220,5	-
СНК-411 25 мг/кг	2289,4±227,5	12694±972,1	10320,8±1322,9	45 %
СНК-411 25 мг/кг + Гемцитабин 150 мг/кг	142,7 ±51,4*	777,1±209,9*	3913,2±1050,4*	79 %
СНК-578 10 мг/кг	1603,4±172,3	7803,4±604,3	8827,4±2068,9	53 %
СНК-578 10 мг/кг +Гемцитабин 150 мг/кг	300 ±124,8*	1429,1±346,6*	3694,2±1094,1*	80 %
Гемцитабин (100 мг + 50 мг)	403±105,6*	2030±408,9*	7398,1±1752,6*	61 %

Примечание: n — количество животных в группе; ТРО — торможение роста опухоли; * — p < 0,05 по сравнению с контрольной группой, критерий Тьюки.

УПЖ при введении гемцитабина составило 44 % ($p = 0,001$), введение СНК-411 вызывало УПЖ на 18 % ($p = 0,009$), при введении СНК-578 УПЖ составило 21 % ($p = 0,002$). При совместном курсовом введении СНК-411 с двукратным введением гемцитабина наблюдалось УПЖ на 62 % ($p = 0,003$), при введении СНК-578 и гемцитабина УПЖ составило 71 % ($p = 0,0001$) (табл. 3, рис. 1). Средняя продолжительность жизни животных при введении комбинации гемцитабина совместно СНК-578 достоверно была больше средней продолжительности жизни животных при монотерапии гемцитабином ($p = 0,04$). Таким образом, УПЖ при введении комбинации гемцитабина с производными 5-оксипиримидина соответствует критерию эффективности.

Таблица 3. Оценка 14-ти дневного введения СНК-411 и СНК-578 отдельно и совместно с двукратным введением гемцитабина на продолжительность жизни самок мышей линии C57Bl/6 с аденокарциномой Ca755

Группы, n=10	Средняя продолжительность жизни, сут	Увеличение продолжительности жизни, %
Активный контроль	17	
СНК-411	20*	17,65 %
СНК411+ Гемцитабин	27,5*	61,76 %
СНК-578	20,5*	20,59 %
СНК578 + Гемцитабин	29**	70,59 %
Гемцитабин	24,5*	44,12 %

Примечание: n — количество животных в группе; * — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой с опухолью, Cox's F-test; ** — $p < 0,05$ по сравнению с группой гемцитабина, Cox's F-test

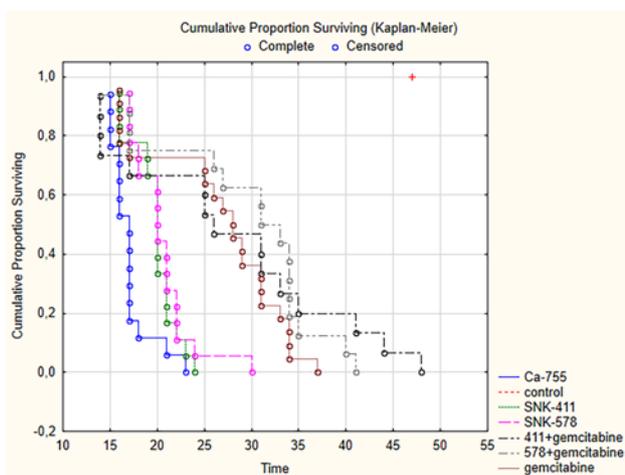


Рис. 1. Выживаемость мышей C57Bl/6 с Ca-755 по методу Каплана-Мейера. По оси абсцисс — время (дни); по оси ординат — кумулятивная доля выживших (%)

Обсуждение

Согласно полученным данным, курсовое введение СНК-411 и СНК-578 совместно с двукратным введением гемцитабина препятствовало угнетению кроветворения и развитию анемии

у мышей с аденокарциномой Ca755, что является одним из показателей поликомпонентного механизма противоопухолевого действия производных 5-оксипиримидина, в разной степени характерного для производных пиримидина. В частности, у крыс с карциномой Walker к концу эксперимента на 22 сут развивалась анемия с уменьшением содержания гемоглобина и эритроцитов. Полихимиотерапия доксорубицином и паклитакселом приводила к усилению анемии и снижению уровня гемоглобина и эритроцитов. Дополнительное введение препарата ксимедон (1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксипиримидин) приводило к уменьшению выраженности анемии, концентрация гемоглобина и количество эритроцитов достоверно увеличилось на 18,5 % и 24 % соответственно, по сравнению с крысами, получавшими только доксорубицин и паклитаксел [10]. При введении СНК-411 с гемцитабином содержание гемоглобина повысилось на 62 %, а количество эритроцитов на 78 % по сравнению с показателями мышей группы активного контроля с аденокарциномой Ca-755. В группе совместного введения СНК-578 с гемцитабином содержание гемоглобина было повышено на 69 %, а количество эритроцитов — на 86 % по сравнению с активным контролем.

Анемия является независимым фактором, негативно влияющим на развитие злокачественного заболевания, выживаемость онкологических больных, увеличивая риск прогрессирования и ухудшая чувствительность опухолевых клеток к химиотерапии. Одним из проявлений миелотоксичности цитостатиков служит эритроцитопения с усилением анемии, часто обусловленной самим опухолевым процессом [8]. При злокачественных новообразованиях анемия выявляется у 40 % пациентов на момент постановки диагноза и примерно у половины пациентов, получающих химиотерапию [1]. При монотерапии гемцитабином рака молочной железы одним из основных видов побочного действия является миелосупрессия [9]. Анемия у онкобольных может развиваться не только вследствие побочных эффектов цитостатиков, но и из-за дефицита железа, дефицита витамина В12, хронической кровопотери, метастатического поражения костного мозга, а также хронического воспаления [12]. Установлено, что 25 % всех онкологических заболеваний возникает в связи с хроническим воспалением, что характеризуется высокой концентрацией проонкогенных цитокинов в микроокружении опухоли [13].

Воспалительное микроокружение опухоли представляет собой сложную сеть, состоящую из многочисленных типов клеток, цитокинов,

ферментов и сигнальных путей. Важнейшие компоненты воспаления, связанного с раком, участвуют в скоординированной системе, влияющей на развитие рака, исследование которой может пролить свет на разработку новых потенциальных противоопухолевых методов лечения [14].

Согласно проведенным нами ранее исследованиям [15–17], СНК-411 и СНК-578 обладают выраженным противовоспалительным и иммуностимулирующим действием, направленным на нормализацию баланса Th1 и Th2 хелперных клеток и повышение содержания естественных киллеров (НК-клеток) и цитотоксических Т-лимфоцитов, на подавление концентрации провоспалительных и проонкогенных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-10, высокая концентрация которых в сыворотке крови онкобольных указывает на прогрессирование заболевания и неблагоприятный прогноз для общей выживаемости [18, 19].

При развитии резистентности к препаратам 1-й линии химиотерапии, эффективное лечение онкобольных предполагает исследовать совместное использование разных групп препаратов. Полученные в данной работе данные о совместном введении малотоксичных СНК-411 и СНК-578 с гемцитабином и ранее с доксорубицином [4, 5] указывают на дальнейшую возможность клинического исследования их применения с цитостатиками при солидных опухолях. Возможно, что, как и в проведенных экспериментальных работах, применение данных соединений позволит улучшить качество и продолжительность жизни онкологических больных.

По результатам анализа данных, полученных в эксперименте, можно предположить, что продолжительность жизни самок мышей линии C57Bl/6 с аденокарциномой Ca755 была увеличена за счет более выраженного противоопухолевого эффекта комбинаций гемцитабина с СНК-411 и СНК-578 и нормализации гематологических показателей.

Заключение

Совместное двукратное введение гемцитабина в суммарной дозе 150 мг/кг с курсовым введением СНК-411 и СНК-578 в дозах 25 мг/кг и 10 мг/кг мышам с аденокарциномой Ca755 усиливает торможение роста опухоли, увеличивает продолжительность жизни животных-опухоленосителей и нормализует содержание эритроцитов и гемоглобина. Комбинация гемцитабина с производными 5-оксипиримидина позволила получить выраженный противоопухолевый эффект, соответствующий критериям эффективности, без проявлений гематотоксичности.

Вклад авторов

Журиков Р.В. — написание текста статьи, получение экспериментальных данных, анализ данных и их интерпретация;

Коваленко Л.П. — разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, предоставление материалов исследования, редактирование статьи;

Алексеева С.В. — получение данных для анализа, анализ данных и их интерпретация, редактирование статьи;

Никитин С.В. — получение данных для анализа, предоставление материалов исследования, редактирование статьи;

Дурнев А.Д. — анализ данных, редактирование статьи, утверждение окончательного варианта статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Radziwon P, Krzakowski M, Kalinka E, et al. Anemia in cancer patients – Expert group recommendations. Revision 2020. *Oncol Clin Pract.* 2020;16(5):261-269. doi:10.5603/OCP.2020.0020.
2. Busti F, Marchi G, Ugolini S, et al. Anemia and iron deficiency in cancer patients: role of iron replacement therapy. *Pharmaceuticals.* 2018;11(4):94-110. doi:10.3390/ph11040094.
3. Mokhtari RB, Homayouni TS, Baluch N, et al. Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget.* 2017;8(23):38022-38043 doi:10.18632/oncotarget.16723.
4. Коваленко Л.П., Никитин С.В., Сорокина А.В. и др. Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на рост и метастазирование карциномы легкого lewis у мышей линии C57Bl/6. *Эксп. клин. фармакология.* 2020;83(6):24-27 [Kovalenko LP, Nikitin SV, Sorokina AV, et al. Effect of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine on growth and metastasis of Lewis lung carcinoma in C57BL/6 mice. *Experimental and clinical pharmacology.* 2020;83(6):24-27 (In Russ.)]. doi:10.30906/0869-2092-2020-83-1-24-27.
5. Nikitin SV, Rebeke AG, Zhurikov RV, et al. Synthesis and antitumor and antimetastatic activity of 5-hydroxypyrimidine derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2019;53 (8):697-700. doi:10.1007/s11094-019-02065-1.
6. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Никитин С.В. Противоаллергенная и противовоспалительная активность производных 5-оксипиримидина (СНК-411 и СНК-578). *Эксп. клин. фармакология.* 2020;83(10):9-12 [Kovalenko LP, Korzhova KV, Nikitin SV. Antiallergenic and anti-inflammatory activity of 5-oxypyrimidine. *Experimental and clinical pharmacology.* 2020;83(10):9-12 (In Russ.)]. doi:10.30906/0869-2092-2020-83-10-9-12.

7. Студенцов Е.П., Рамш С.М., Казурова Е.Г. и др. Адаптогены и родственные группы лекарственных препаратов – 50 лет поисков. Обзоры по клин. фарм. и лек. терапии. 2013;11(4):3-43 [Studentsov EP, Ramsh SM, Kazurova EG, et al. Adaptogens and similar groups of drugs – 50 years of search. Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. 2013;11(4):3-43 (In Russ.)]. doi:10.17816/RCF1143-43.
8. Семиглазова Т.Ю., Гершанович М.Л., Латипова Д.Х. и др. Эффективность низких доз гемцитабина в комбинации с цисплатином в лечение диссеминированного рака молочной железы с прогрессированием после применения антрациклинов, таксанов и капецитабина. Фарматека. 2012;(8):61-66 [Semiglavova TU, Gershanovich ML, Latipova DH, et al. Efficacy of low-dose gemcitabine in combination with cisplatin for therapy of disseminated mammary gland carcinoma with progression after combination of anthracyclines, taxans and capecitabine. Pharmateka. 2012;(8):61-66 (In Russ.)].
9. Locker GJ, Wenzel C, Schmidinger M, et al. Unexpected severe myelotoxicity of gemcitabine in pretreated breast cancer patients. *Anticancer drugs*. 2001;12(3):209-12. doi:10.1097/00001813-200103000-00006.
10. Масыгин В.А., Сипров А.В., Волкова Н.Д. и др. Сравнительная оценка гематопротекторной эффективности производных пиримидина и 3-гидроксипиридина при противоопухолевой химиотерапии в эксперименте. Современные проблемы науки и образования. 2015;3 [Masyagin VA, Siprov AV, Volkova ND, et al. Comparative analysis of hematoprotective effects of 3-hydroxypyrimidine and pyrimidine derivatives for anticancer therapy in experiment. *Contemporary Problems of Science And Education*. 2015;3 (In Russ.)].
11. Соловьева М.А., Сипров А.В., Агеев В.П. и др. Влияние производных пиримидина и 3-гидроксипиридина в составе липосом на показатели эритропоэза при использовании липосомальных доxorубицина и циклофосфамида у крыс со злокачественным опухолевым процессом. Современные проблемы науки и образования. 2021;2 [Solovyeva MA, Siprov AV, Ageev VP, et al. The effect of pyrimidine and 3-hydroxypyridine derivatives in liposomes on erythropoiesis indicators in rats with malignant tumor process treated with liposomal doxorubicin and cyclophosphamide. *Contemporary problems of science and education*. 2021;2 (In Russ.)]. doi:10.17513/spno.30594.
12. Dicato M, Plawny L, Diedrich M. Anemia in cancer. *Annals of oncology*. 2010;7:vii167-vii172. doi:10.1093/annonc/mdq284.
13. Balkwill FR, Mantovani A. Cancer-related inflammation: common themes and therapeutic opportunities. *Semin. Cancer Biol*. 2012;22:33–40. doi:10.1016/j.semcancer.2011.12.005.
14. Lan T, Chen L, Wei X. Inflammatory cytokines in cancer: comprehensive understanding and clinical progress in gene therapy. *Cells*. 2021;10(1):100-118. doi:10.3390/cells10010100.
15. Кузнецова О.С., Таллерова А.В., Никитин С.В., Коваленко Л.П. Иммунофармакологические свойства нового производного 5-оксипиримидина СНК-411// Экспериментальная и клиническая фармакология 2015;78(4):6-9 [Kuznetsova OS, Tallerova AV, Nikitin SV, Kovalenko LP. Immunopharmacological activity of new 5-hydroxypyrimidine derivative SNK-411. *Experimental and clinical pharmacology*. 2015;78(4):6-9 (In Russ.)]. doi:10.30906/0869-2092-2015-78-4-6-9.
16. Kuznetsova OS, Tallerova AV, Nikitin SV, et al. Effects of 5-pyrimidinol derivative snk-411 on cytokine profile of mice with lewis lung carcinoma. *Bull Exp Biol Med*. 2016;160(10):488-491. doi:10.1007/s10517-016-3202-z.
17. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Зайнуллина Л.Ф. и др. Влияние производных 5-оксипиримидина на рост опухоли и содержание цитокинов в сыворотке крови самок мышей линии СВА с раком шейки матки (РШМ-5). Биомедицинская химия. 2021;67(2):158-161 [Kovalenko LP, Korzhova KV, Zainullina LF, et al. Effect of 5-hydroxypyrimidine derivatives on tumor growth and cytokine concentration in blood serum of female CBA mice with cervical cancer (RSHM-5). *Biomeditsinskaya khimiya*. 2021;67(2):158-161 (In Russ.)]. doi:10.18097/pbmc20216702158.
18. Taniguchi K, Karina M. IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer. *Seminars in Immunology*. 2014;26(1):54–74. doi:10.1016/j.smim.2014.01.001.
19. Wang H, Joyce J. Alternative activation of tumor-associated macrophages by IL-4. Priming for protumoral functions. *Cell Cycle*. 2010;9(24):4824-4835. doi:10.4161/cc.9.24.14322.

Поступила в редакцию 07.09.2022

Прошла рецензирование 23.12.2022

Принята в печать 16.02.2023

*R.V. Zhurikov, L.P. Kovalenko, S.V. Alexeeva,
S.V. Nikitin, A.D. Durnev*

The effect of 5-hydroxypyrimidine derivatives on the antitumor effect of gemcitabine, hematological parameters, and survival of mice with adenocarcinoma Ca755

FSBI Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow,
the Russian Federation, Moscow

Introduction. The combined use of cytostatic agents with drugs from other groups is a promising method for reducing hematotoxicity.

Aim. To evaluate the impact of 5-hydroxypyrimidine derivatives and gemcitabine, as well as their combinations, on tumor growth inhibition, survival, and hematological parameters in animals with Ca755 adenocarcinoma.

Materials and methods. After inoculation of adenocarcinoma Ca755 mice received SNK-411, SNK-578, gemcitabine or their combination from 2nd to 15th day of tumor development. Tumor volume was measured and tumor growth inhibition was calculated on the 9th, 16th and 21st days of tumor development. On the 22nd day, half of the animals were left for follow-up and evaluation of survival, while the other half was euthanized, and their blood samples were taken for analysis.

Results. Compared to the intact control, a decrease in hemoglobin and erythrocyte levels was observed in all experimental active control groups that received SNK-411, SNK-578, and gemcitabine. The administration of 5-hydroxypyrimidine derivatives in combination with gemcitabine prevented the suppression of hematopoiesis. No statistically significant differences were found in platelet and leukocyte counts among

the groups. Tumor growth inhibition (TGI) was studied on 7th day after the 14-day administration of SNK-411. In the group that received SNK-411 TGI was 45 %, in the group that received SNK-578 — 53%, in the group treated by gemcitabine — 61 %. 14-day combined administration of SNK-411 and gemcitabine resulted in 79 % TGI. Combination of SNK-578 and gemcitabine inhibited tumor growth by 80 %. Gemcitabine increased median survival time (MST) by 44 %, SNK-411 — by 18 %, SNK-578 — by 21 %. Combinations of SNK-411 and gemcitabine increased MST by 62 %, SNK-578 and gemcitabine — by 71 %.

Conclusion. The combination of gemcitabine and 5-hydroxypyrimidine derivatives demonstrated prominent antitumor effect without hematotoxicity.

Keywords: gemcitabine; hematotoxicity; 5-hydroxypyrimidines; adenocarcinoma Ca755

For citation: Zhurikov RV, Kovalenko LP, Alexeeva SV, Nikitin SV, Durnev AD. The effect of 5-hydroxypyrimidine derivatives on the antitumor effect of gemcitabine, hematological parameters, and survival of mice with adenocarcinoma Ca755. *Voprosy Onkologii*. 2023;69(2):238–245. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-238-245

Сведения об авторах

**Журиков Руслан Владимирович*, мл. науч. сотр. отдела лекарственной токсикологии, ФГБНУ «НИИ Фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская д. 8; zhurikovrv@gmail.com.

Коваленко Лариса Петровна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. отдела лекарственной токсикологии, ФГБНУ «НИИ Фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская д. 8; kovalenko.larisa@mail.ru.

Алексеева Светлана Витальевна, ст. науч. сотр. отдела лекарственной токсикологии, ФГБНУ «НИИ Фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская д. 8; alexeeva.sv@mail.ru.

Никитин Сергей Васильевич, канд. хим. наук, ст. науч. сотр. отдела химии лекарственных средств, ФГБНУ «НИИ Фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская д. 8; madji@list.ru.

Дурнев Андрей Дмитриевич, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., заведующий отделом лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ Фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская д. 8; addurnev@mail.ru.

**Zhurikov Ruslan Vladimirovich*, MD, Junior researcher in Drug Toxicology Department of FSBI Zakusov Institute of Pharmacology, 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russia, email: zhurikovrv@gmail.com.

Kovalenko Larisa Petrovna, DSc (Bio.), Leading researcher in Drug Toxicology Department of FSBI Zakusov Institute of Pharmacology, 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russia, email: kovalenko.larisa@mail.ru.

Alexeeva Svetlana Vitalievna, Senior researcher in Drug Toxicology Department of FSBI Zakusov Institute of Pharmacology, 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russia, email: alexeeva.sv@mail.ru.

Nikitin Sergey Vasilyevich, PhD (Chem.), Senior researcher in Drug Toxicology Department of FSBI Zakusov Institute of Pharmacology, 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russia, Russia, email: madji@mail.ru.

Durnev Andrey Dmitrievich, DSc (Med.), Prof., Corresponding member of the RAS, Head of Drug Toxicology Department of FSBI Zakusov Institute of Pharmacology, 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russia, email: addurnev@mail.ru.