



Применение донора оксида азота нитросорбида для повышения противоопухолевой активности доксорубина при терапии экспериментальной глиобластомы крыс



Алексеева А.И.^{1,2}, Федосеева В.В.¹, Гельперина С.Э.³, Павлова Г.В.², Халанский А.С.¹

¹ ФГБНУ «НИИ Морфологии человека», Москва, Россия

² Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

³ ООО «Технология лекарств», Химки, Московская область, Россия



Введение. Доксорубин – противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда, широко используемый при терапии злокачественных новообразований. Доксорубин является субстратом р-гликопротеина – мембранного белка множественной лекарственной устойчивости, гиперэкспрессия которого приводит к выбросу ксенобиотиков из клеток. Доксорубин не используется в нейроонкологии ввиду наличия ГЭБ в опухоли, однако, показывает высокую антипролиферативную активность in vitro [1].

Оксид азота (NO) – сигнальная молекула, играющая двойственную дозозависимую роль в канцерогенезе. В высоких дозах NO (>500 мкМ) оказывает противоопухолевое действие in vitro [2], а также играет ключевую роль в дилатации сосудов, в том числе церебральных. NO является ингибитором р-гликопротеина. Одним из экспериментальных подходов в онкологии является комбинированное использование цитостатиков с донорами NO [3].

Цель эксперимента: исследовать роль нитросорбида в комбинации с доксорубином на противоопухолевый эффект в отношении экспериментальной глиобластомы 101/8 (тканевой штамм).

Эксперимент. Животным (половозрелые самцы крыс Wistar, m=200-250 грамм, n=72) была имплантирована глиобластома 101.8 (перевиваемый тканевой штамм, полученный в НИИ Морфологии человека). По данным морфологического исследования опухоль имеет устойчивое строение глиобластомы (grade IV). Животные были разделены случайным образом на 5 групп и получали терапию доксорубином, нитросорбидом или их комбинацией. Доксорубин (Teva, Israel) вводили (в/в) в дозе 1,5 мг/кг, нитросорбид (в/в или п/о) в дозе 0,5 мг/кг. Терапию проводили на 2, 5 и 8 сутки после имплантации опухоли. Для оценки продолжительности жизни часть животных в каждой группе наблюдали в течение 100 дней.

Для оценки объема опухоли часть животных забивали на 14 день, выделяли мозг, готовили серийные гистологические срезы толщиной 7 мкм и шагом 125 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином. Измерение объема опухоли проводили, используя морфометрическую программу Image-Pro Premiere Media Cybernetics USA, достоверность различий в группах оценивали по критерию Манна-Уитни.

Результаты. Интрацеребральная опухоль была обнаружена при вскрытии у всех животных как в контроле, так и в опыте. Средняя продолжительность жизни (СПЖ) крыс контрольной группы составляла 13 суток (табл. 1, рис. 1). При комбинированном использовании доксорубина и нитросорбида УПЖ составило 155% и 112% при п/о и в/в введении соответственно. В группах Докс и НС отмечено незначительное УПЖ в 57% и 41% соответственно.

Анализ результатов гистологического исследования, проведенного через 6 суток после окончания лечения, показал, что, несмотря на значительные вариации размеров опухолей внутри групп, средний объем опухолей при комбинированном действии Докс и НС был в ~2,5 раза меньше, чем при применении одного Докс (различия между группами достоверны, табл. 2, рис. 2). Размеры опухолей при применении только нитросорбида (группа 3) не отличались от контроля.

Таблица 1. Продолжительность жизни крыс с глиобластомой 101/8 после лечения доксорубином в отдельности или в комбинации с нитросорбидом

№	Воздействие	n	Продолжительность жизни животных с опухолью (сут)				Достоверность различий*
			Min/Max	M±SD	Me	УПЖ, %*	
1	Контроль	13	9/21	13 ± 3	13	-	-
2	Докс	10	13/38	21 ± 7	18	57	P <0,001
3	НС (п/о)	9	13/30	19 ± 6	18	41	P = 0,007
4	Докс+НС (п/о)	9	23/50	34 ± 11	30	155	P <0,001
5	Докс+НС (в/в)	9	18/46	28 ± 9	25	112	P <0,001

Таблица 2. Средний объем опухоли (мм³) через 6 суток после окончания лечения (на 14 день после имплантации опухоли)

№	Воздействие	n	Объем опухоли, мм³			Достоверность различий*	ТРО, %*
			M ± SD	Me	Min/Max		
1	Контроль	10	68 ± 54	96	<1 / 115	-	
2	Докс	11	16 ± 12	13	<1 / 35	P < 0,05	77
3	НС	6	69 ± 48	80	0 / 140	P = 0,97	~0
4	Докс+НС (п/о)	9	8 ± 6	5	0 / 16	P = 0,044	88

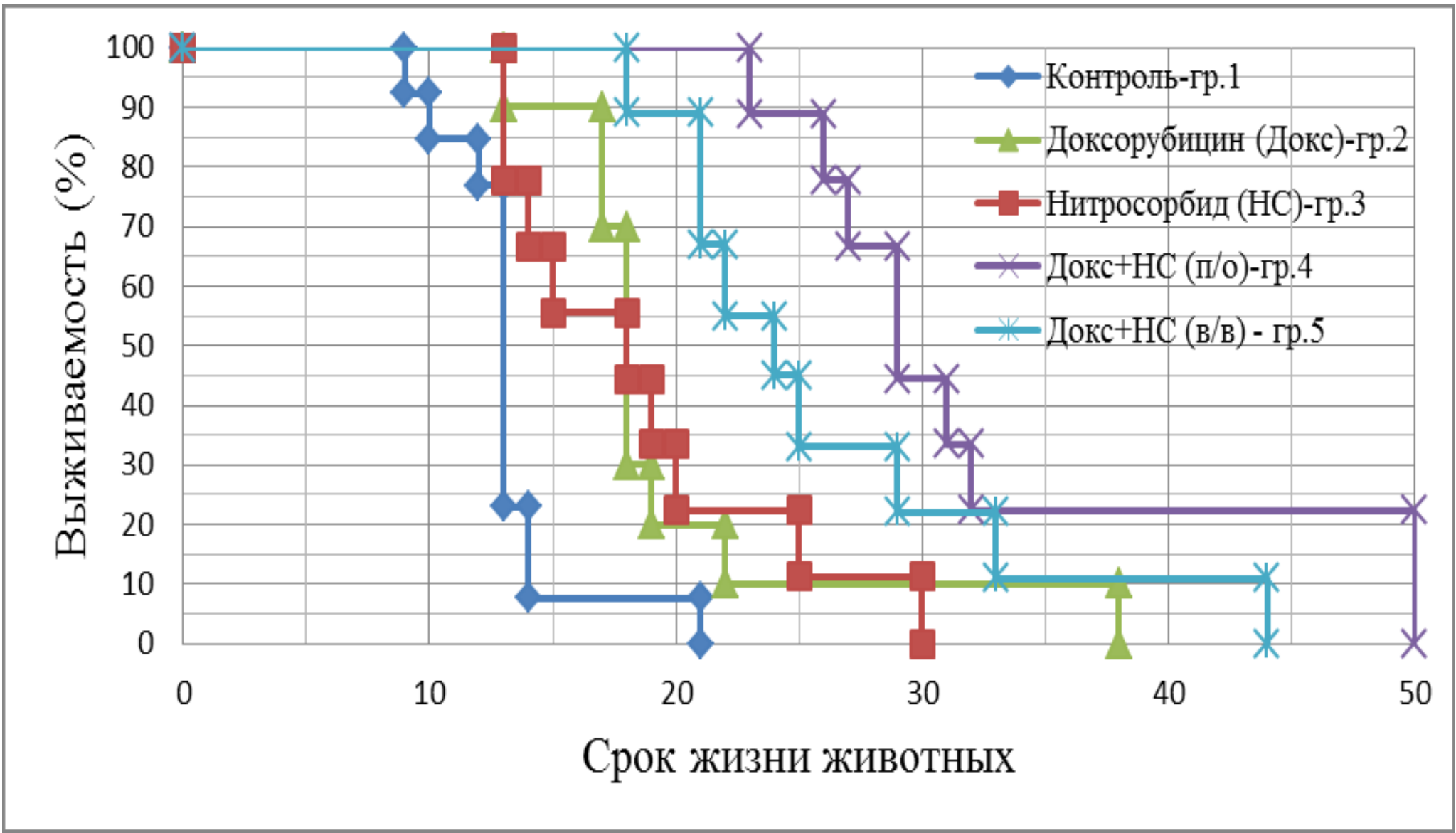


Рисунок 1. Выживаемость крыс с глиобластомой 101/8 (кривая Каплана-Майера) после применения Докс, НС и комбинации Докс с НС при пероральном (п/о) и внутривенном (в/в) введении НС

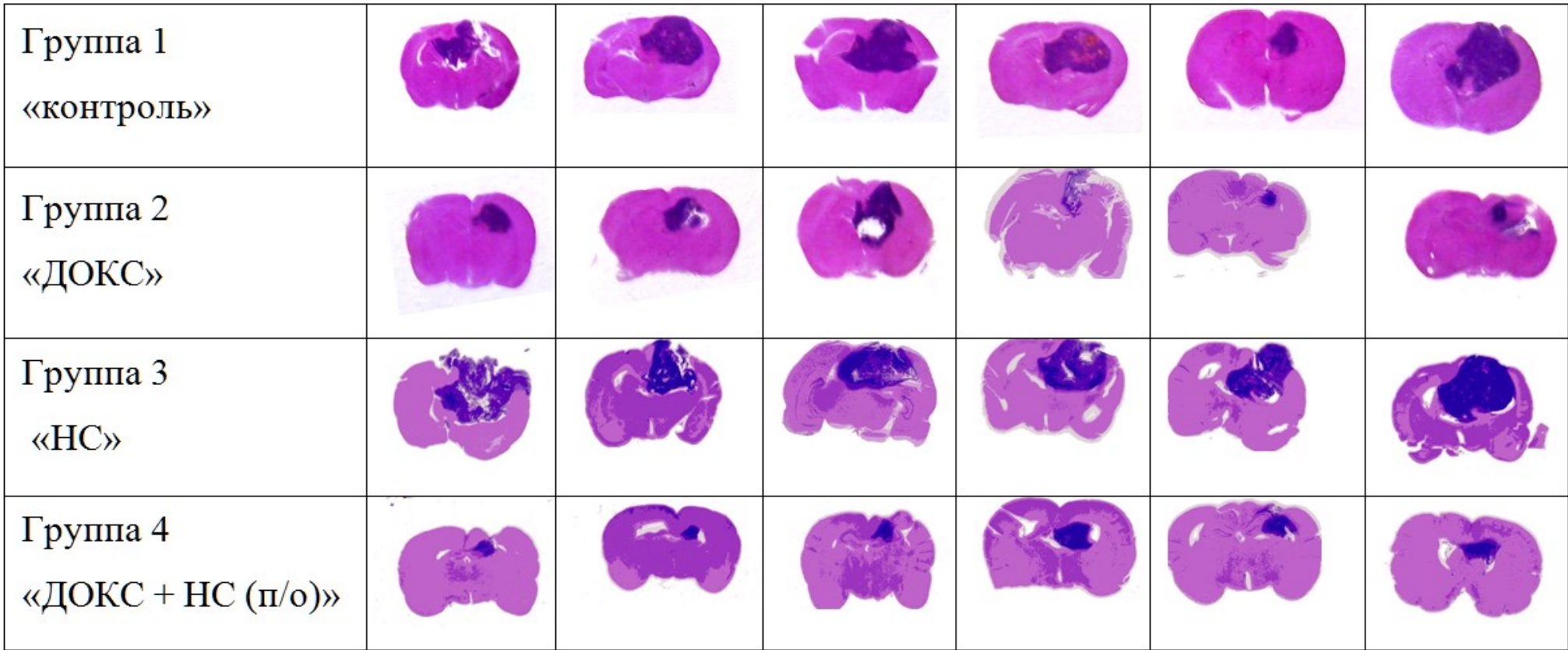


Рисунок 2. Фронтальные срезы мозга крыс с глиобластомой 101.8 после химиотерапии на 14 день после имплантации (окраска гематоксилином и эозином; срезы отобраны по максимальной площади опухоли на срезе)

Заключение. Донор оксида азота нитросорбид потенцирует противоопухолевый эффект доксорубина в отношении интракраниально имплантированной глиобластомы 101/8 у крыс, что может объясняться как повышением проницаемости сосудистого эндотелия ГЭБ для доксорубина, так и ингибированием р-гликопротеина в опухолевых клетках.

Литература.

1. da Ros, M., Iorio, A. L., Lucchesi, M., Stival, A., de Martino, M., & Sardi, I. (2015). The Use of Anthracyclines for Therapy of CNS Tumors. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 15(6), 721–727.

2. Sinha, B. K., Bortner, C. D., Mason, R. P., & Cannon, R. E. (2018). Nitric oxide reverses drug resistance by inhibiting ATPase activity of p-glycoprotein in human multi-drug resistant cancer cells. *Biochimica et biophysica acta. General subjects*, 1862(12), 2806–2814.

3. Alimoradi, H., Greish, K., Barzegar-Fallah, A., Alshaibani, L., & Pittalà, V. (2018). Nitric oxide-releasing nanoparticles improve doxorubicin anticancer activity. *International journal of nanomedicine*, 13, 7771–7787.