

2. Rossi A. et al. Metaanalysis of comparison of efficiency cisplatin and carboplatin as a part of the combined chemotherapy in patients with previously untreated SCLC. *J. Clin. Oncol.* 2012; 70: 1692—3.
3. Bychkov M.B. Small cell lung cancer. In book "Lung cancer," edited M.I. Davydov and B.Y. Polotskiy. Moscow, 1995 (in Russian).
4. Sundstrom S. et al. Cisplatin and etoposide regimen is superior to cyclophosphamide, epirubicin, and vincristine regimen in SCLC: results from a randomized phase III trial with 5 years follow-up. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 4656—72.
5. Hanna N., Bunn P.A.Jr., Langer C. et al. Randomized phase II trial comparing irinotecan/cisplatin with etoposide/cisplatin in patients with previously untreated extensive-stage disease small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24 (13): 2038—43.
6. Noda K., Nishiwaki Y., Kawahara M. et al. Irinotecan plus cisplatin compared with etoposide plus cisplatin for extensive small-cell lung cancer. *N. Eng. J. Med.* 2002; 346 (2): 85—91.
7. Schmittel A., Sebastian M., Fischer von Weikersthal L. et al. A German multicenter, randomized phase III trial comparing irinotecan-carboplatin with etoposide-carboplatin as first-line therapy for extensive-disease small-cell lung cancer. *Ann. Oncol.* 2011; 22 (8): 1798—804.
8. Naskhletashvili D.R. Modern possibilities of conservative treatment of patients with metastatic breast cancer and lung cancer to the brain. Abstract of Candidate of Medical Sciences. Moscow, 2002 (in Russian).
9. Ettinger D.S., Finkelscein D.M., Sarma R.P. et al. Phase II study of paclitaxel in patients with extensive-disease small cell lung cancer: An Eastern Cooperative Oncology Group Study. *J. Clin. Oncol.* 1995, 13:1430—5.
10. Jett J.R., Kirschling R.J., Jung S.H. et al. A phase II study of paclitaxel and granulocyte colony-stimulating factor in previously untreated patients with extensive-stage small cell lung cancer. A study of the North Central Cancer Treatment Group. *Semin Oncol* 1995; 22 (Suppl. 6): 75—7.
11. Hesketh P.J., Crowley J., Burris H.A. et al. Evaluation of docetaxel in previously untreated extensive-stage small cell lung cancer: A Southwest Oncology Group phase II trial. *Cancer J. Sci. Am.* 1999; 5: 237—41.
12. Kuz'minov A.E. Development of new chemotherapy regimens metastatic small cell lung cancer. Abstract of Candidate of Medical Sciences. Moscow; 2007 (in Russian).

Поступила 04.03.13

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ НАУКА — ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗДРАВООХРАНЕНИЮ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 615.277.3.032.14:616-006.04].036.8.076.9

В.С. Покровский¹, Е.М. Трещалина¹, Е.В. Лукашева², Л.А. Седакова¹

РАЗРАБОТКА РЕЖИМА ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ L-ЛИЗИН-АЛЬФА-ОКСИДАЗЫ ИЗ *TRICHODERMA CF. AUREOVIRIDE* RIFAI ВКМФ-4268 ПОД КОНТРОЛЕМ ПЕРЕНОСИМОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ

¹ФГБУ "Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина" РАМН, 115478, г. Москва; ²Российский университет дружбы народов, 117198, г. Москва

Изучены различные дозы и режимы внутривенного применения L-лизин-альфа-оксидазы на моделях опухолей мышей под контролем эффективности и переносимости. Оптимальная выбранная схема предусматривает введение первой относительно высокой стартовой дозы и последующих поддерживающих доз, составляющих ½ или ⅓ от первой ("дискретный" режим). Показана эффективность и удовлетворительная переносимость режима "дискретный" при 5-кратном курсе внутривенного введения в суммарных дозах 450—550 Ед/кг. К лечению L-лизин-альфа-оксидазой в "дискретном" режиме чувствительны следующие опухоли мышей: аденокарцинома молочной железы Са755, меланома В16, аденокарцинома толстой кишки — АКАТОЛ, рак шейки матки РШМ-5, эпидермоидная карцинома легкого Льюис и плазмоцитомы МОПС-406 (TROmax = 57—92%).

Ключевые слова: L-лизин-альфа-оксидаза, противоопухолевая активность, внутривенное введение.

DEVELOPMENT OF INTRAVENOUS ADMINISTRATION OF L-LYSINE-ALPHA-OXIDASE FROM *TRICHODERMA CF. AUREOVIRIDE* RIFAI ВКМФ-4268 REGIME CONTROLLED BY SAFETY AND EFFICACY OF TREATMENT

V.S. Pokrovsky¹, E.M. Treshalina¹, E.V. Lukasheva², L.A. Sedakova¹¹N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences, 115478, Moscow, Russian Federation; ² People's Friendship University, 117198, Moscow, Russian Federation

Various doses and modes of intravenous L-lysine-alpha-oxidase application on tumor models in mice under the control of efficacy and tolerability have been studied. Optimal choice scheme provides introduction of the first relatively high starting dose and subsequent maintenance doses comprising ½ or ⅓ of the first ("discrete" mode). The efficiency and an acceptable tolerability has been shown during "discrete" 5-fold treatment course with intravenous cumulative doses of 450-550 U/kg. By treating L-lysine-alpha-oxidase in the "discrete" mode following tumor-bearing mice have been sensitive: breast adenocarcinoma Sa755, B16 melanoma, adenocarcinoma of the colon AKATOL, cervical cancer, cervical 5, epidermoid carcinoma and Lewis lung plasmacytoma CI-406 (TROmax = 57-92%).

Key words: L-lysine-alpha-oxidase, antitumor activity, intravenous.

L-лизин-альфа-оксидаза (ЛО) представляет собой противоопухолевый фермент, продуцентами которого являются различные растения и грибы, в том числе грибы рода *Trichoderma*. Наиболее изучена ЛО из *Trichoderma viride* и *Trichoderma harzianum Rifai* [1—3]. Торможение роста опухолевых клеток под действием ЛО реализуется за счет блокирования перехода клеток из фазы S в фазу G₂/M клеточного цикла [2, 4]. Молекулярные механизмы антипролиферативного и побочного эффектов под действием ЛО связаны с блокированием синтеза белка в клетках в результате окислительного дезаминирования эссенциальной аминокислоты L-лизина и образования в реакции обладающего прямой цитотоксичностью H₂O₂ [2, 4]. На этапе доклинического изучения *in vivo* первоначально для ЛО был предложен режим многократного внутривенного (в/в) введения с фиксированными интервалами между инъекциями (неопубликованные данные). Период полувыведения ЛО из плазмы крови мышей (T_{1/2}) составляет 67—93 мин, а динамика изменения концентрации ЛО в сыворотке крови при 5-дневном ежедневном введении не зависит от количества введений [5]. Даже через 24 ч после инъекции ЛО сохраняются значительные концентрации фермента (6,3—8,4 нг/мл при введении ЛО в дозе 1—3 мг/кг), по расчетам обеспечивающие практически полное отсутствие L-лизина в крови. Поскольку L-лизин является незаменимой аминокислотой и не синтезируется в организме, длительное поддержание предельно низких концентраций L-лизина в крови животных при многократном в/в введении ЛО в постоянно высоких дозах приводит к развитию так называемого лизинового голода: потере массы тела и последующей гибели мышей из-за значимого ограничения синтеза белков. Поэтому актуальным являлся поиск таких доз ЛО, которые бы обеспечивали гибель опухолевых клеток без развития "лизинового голода". Это определило необходимость экспериментальной разработки оптимального терапевтического режима многократного в/в введения ЛО под контролем дефицита массы тела как причины гибели животных. В соответствии с этим были сформулированы цель и задачи исследования.

Цель исследования — разработка оптимального режима многократной в/в терапии ЛО под контролем переносимости и эффективности.

Задачи исследования: 1) определить кратность между в/в инъекциями, дозы и курс лечения ЛО под контролем переносимости и эффективности; 2) оценить эффективность ЛО при в/в введении в оптимальной схеме на чувствительных опухолях мышей.

Материал и методы

Животные. Опыты проведены на мышах BDF₁, CBA и BALB/c обоего пола массой тела 18—22 г разведения ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, которых содержали в виварии РОНЦ при естественном освещении на брикетированном корме и постоянном доступе к воде.

Режимы внутривенного введения ЛО. Для исследования использована субстанция ЛО с удельной активностью 95 Ед/мг, которую разводили 0,9% раствором хлорида натрия непосредственно перед в/в введением до концентрации 2,5—25 Ед/мл (0,04—0,4 мг на 1 мл белка). Дозы для в/в терапии были выбраны на основании данных, полученных при внутрибрюшинном (в/б)

введении ЛО. При многократном в/в введении ЛО изучали два режима: режим 1 "монотонный" с одинаковой разовой дозой на каждую инъекцию; режим 2 "дискретный" с относительно большой стартовой дозой и последующими разовыми дозами, составляющими 1/2 или 2/3 от стартовой дозы.

Режим 1 "монотонный", интервал 48 ч или 24 ч: 3-кратно в разовых дозах от 150 до 200 Ед/кг; 4-кратно в разовой дозе 150 Ед/кг; 5-кратно в разовых дозах от 35 до 150 Ед/кг.

Режим 2 "дискретный", 5-кратно, интервал 48 ч: дозовый ряд 200—75—75—75—75 Ед/кг (суммарная доза 500 Ед/кг); дозовый ряд 150—100—100—100—100 Ед/кг (суммарная доза 550 Ед/кг); дозовый ряд 150—75—75—75—75 Ед/кг (суммарная доза 450 Ед/кг); дозовый ряд 150—50—50—50—50 Ед/кг (суммарная доза 350 Ед/кг); дозовый ряд 100—50—50—50—50 Ед/кг (суммарная доза 300 Ед/кг); дозовый ряд 100—33—33—33—33 Ед/кг (суммарная доза 232 Ед/кг).

Режимы в/в введения ЛО под контролем дефицита массы тела мышей отработывали на чувствительных к перевиваемым опухолям: солидной аденокарциноме молочной железы Ca755 и карциноме легкого Льюис (LLC), а также на в/б лимфолейкозе Р388. Спектр противоопухолевого действия ЛО при в/в введении в оптимальном режиме изучали на саркоме солидных опухолях мышей: саркоме 180, АКАТОЛ, РШМ-5, МОПС-406 и меланоме В16. Опухолевые штаммы получали из Банка ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, эксперименты выполняли в соответствии с действующими требованиями [6].

Оценка переносимости в/в терапии. О переносимости ЛО судили в сравнении с группой контроля. Определяли динамику массы тела мышей и фиксировали гибель мышей при значимом уменьшении массы тела в процессе и после лечения. В процессе наблюдения фиксировали также обычные показатели здоровья животных: состояние и поведение.

Оценка эффективности терапии. Эффективность лечения оценивали по стандартным критериям: торможению роста солидной опухоли (ТРО, %) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ, %) мышей с лейкозом. Значимыми считали ТРО ≥ 50%, УПЖ ≥ 25% [6].

Статистическая обработка данных. Выполнена по методу Стьюдента в модификации Р.Б. Стрелкова с расчетом доверительных интервалов средних сравниваемых величин. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Завершение экспериментов. Мышей умерщвляли передозировкой эфирного наркоза с использованием гуманных методов обращения с животными, принятыми в РФ.

Результаты и обсуждение

Режим "монотонный". На Ca755 ЛО в разовой дозе 150 Ед/кг при 5-дневном курсе был эффективным и приводил к умеренному достоверному ТРО = 68—78% ($p < 0,05$), сравнимому с в/б лечением, но вызывал единичную гибель мышей от токсичности после 3—4-й инъекции на фоне резкого уменьшения массы тела. Уменьшение разовой дозы ЛО до 125 Ед/кг в этом режиме привело к улучшению переносимости лечения без гибели мышей, однако при этом эффективность снижалась до ТРО = 45—57% ($p > 0,05$) (табл. 1).

Проведенная на в/б малочувствительном к ЛО Р388 апробация сокращенного до 3 дней монотонного курса лечения в пределах эффективной суммарной дозы путем увеличения разовой дозы до 175 или 200 Ед/кг (суммарные дозы соответственно 525 и 600 Ед/кг) не дала положительного результата: УПЖ = 1% при гибели более по-

Для корреспонденции: Покровский Вадим Сергеевич — канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. комбинированной терапии опухолей; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24; e-mail: vadimpokrovsky@yandex.ru.

Таблица 1

Результаты изучения противоопухолевой активности и переносимости ЛО на мышах с Ca755

Разовая доза на инъекцию, Ед/кг		Суммарная доза, Ед/кг	ТРО на сутки после окончания лечения, %		Уменьшение массы тела на 3—5-е сутки после лечения, %	Гибель от токсичности на фоне снижения массы тела
первая	последующие*		4	7—10		
150	150	450	76**	58	> 25	2/10***
150	150	750	78**	68**	> 25	1/8**
125	125	625	45	47	> 15	0/10
200	75	500	80**	72**	< 10	0/10
150	100	550	83**	62**	< 10	0/10
150	75	450	77**	60**	< 10	0/10

Примечание. * — 2—3-я или 2—5-я, интервал 48 ч; ** — различия с контрольной группой достоверны ($p < 0,05$); *** — мыши пали после 3-го или 4-го введений.

ловины мышей от токсичности на фоне снижения массы тела более 25% (табл. 2).

Таким образом, терапия ЛО при многократном монотонном в/в введении в диапазоне разовых доз 125—200 Ед/кг (суммарные дозы 500—750 Ед/кг соответственно) оказалась плохо переносимой и относительно малоактивной на Ca755 или неактивной на P388 в сравнении с в/б введением. Пик дефицита массы тела наблюдался на 3—5-е сутки после окончания в/в терапии ЛО независимо от величины суммарной дозы.

Режим "дискретный". На модели Ca755 в серии опытов было показано, что дискретное в/в введение ЛО с первой разовой дозой 100—200 Ед/кг и последующими дозами 75 или 100 Ед/кг (суммарные дозы 450—550 Ед/кг соответственно) дает сопоставимый с в/б терапией значимый достоверный противоопухолевый эффект на уровне ТРО = 60—90% без гибели мышей. Достигнутый эффект сохранялся в течение 10 дней на уровне ТРО = 83—77—60% ($p < 0,05$) при удовлетворительной переносимости и отсутствии гибели от токсичности (см. табл. 1). Определенный таким образом режим в/в введения ЛО был апробирован на P388 и LLC. На лейкозе была подтверждена хорошая переносимость в/в ЛО без гибели мышей от токсичности при отсутствии ответа на лечение. На LLC с использованием ЛО в суммарной дозе 550 Ед/кг при удовлетворительной переносимости без гибели получен длительный достоверный противоопухолевый эффект на уровне ТРО = 74—81%. Снижение или увеличение суммарной дозы на 50-100 Ед/кг приводило к уменьшению эффекта

до ТРО = 29—42%, что ниже минимально значимого уровня (табл. 3).

Опыты на мышах с двумя солидными карциномами молочной железы и легкого показали, что режим "дискретный" с интервалом 48 ч дает возможность провести 5-кратный в/в курс лечения ЛО с характерной для в/б лечения активностью при удовлетворительной переносимости.

Спектр противоопухолевой активности в/в ЛО в режиме "дискретный". Изучение показало, что при в/в терапии ЛО в режиме "дискретный", помимо Ca755 и LLC, чувствительными оказались все чувствительные к в/б ЛО солидные опухоли мышей (табл. 4).

Противоопухолевое действие ЛО соответствовало ТРО = 57—92% ($p < 0,05$), которое в случае РШМ-5 было максимальным и удерживалось не менее 14 дней. Так, при воспроизведении полученных результатов на LLC и Ca755 подтвержден высокий длительный достоверный противоопухолевый эффект на уровне ТРОmax = 82 и 90% соответственно ($p < 0,05$). Высокочувствительной к в/в терапии ЛО оказалась также плазмоцитома МОПС-406, ТРОmax = 92% ($p < 0,05$). Умеренную чувствительность показала меланома В16, ТРОmax = 77% ($p < 0,05$), пограничный эффект на уровне ТРОmax = 57—59%, ($p < 0,05$) получен на аденокарциноме АКАТОЛ и раке шейки матки РШМ-5. Малочувствительной к в/в ЛО оказалась саркома 180, ТРОmax = 46%. По отношению к в/в терапии ЛО опухоли расположены в следующем порядке убывания чувствительности: МОПС-406, меланома В16, РШМ-5, АКАТОЛ, саркома-180.

Во всех экспериментах динамика массы тела мышей достоверно не отличалась от таковой в контрольных

Таблица 2

Эффективность ЛО на модели лимфолейкоза мышей P388

Разовая доза на инъекцию, Ед/кг		Дозы суммарные, Ед/кг	УПЖ, %	Уменьшение массы тела на 3—5-е сутки после окончания лечения	Гибель от токсичности
первая	последующие*				
150	150	600	1	> 25	3/6
175	175	525	3	> 25	2/6
200	200	600	0	> 25	2/6
200	100	600	29	< 10	0/7
150	75	450	19	< 10	0/8
150	50	350	13	< 5	0/6
100	50	300	10	0	0/6
100	33	232	13	0	0/6

Примечание. * — интервал 48 ч.

Таблица 3

Результаты изучения противоопухолевой активности ЛО на мышах с карциномой Льюис (LLC)

Разовая доза на инъекцию, Ед/кг		Доза суммарная, Ед/кг	ТРО на сутки после окончания лечения, %		
первая	последующие*		1—3	8—11	16—17
35	35	175	56	62	36
150	150	750	53	46	13
200	100	600	42	30	30
150	100	550	81**	82**	74**
150	75	450	29	29	7
100	50	300	23	3	0

Примечание. * — интервал 24 или 48 ч; ** — достоверность отличия от контроля ($p < 0,05$).

Таблица 4

Спектр чувствительных перевиваемых солидных опухолей мышшей к в/в терапии ЛО в суммарной дозе 450—550 Ед/кг при режиме "дискретный"

Опухолевый штамм	ТРОтах на сутки после окончания лечения, %	Длительность сохранения достоверного противоопухолевого эффекта, сутки после окончания терапии
Саркома 180	46	0
Меланома В16	77*	6
АКАТОЛ	57*	6
РШМ-5	59*	14
МОПС-406	92*	11

Примечание. * — результаты достоверны ($p < 0,05$).

группах, дефицита массы тела не отмечали, переносимость терапии была удовлетворительной, гибели от токсичности не отмечали.

Ранее нами было показано, что ЛО при монотонном 5-кратном в/в введении с интервалами 24 ч или 48 ч в разовых дозах 100—150 Ед/кг (суммарные дозы 500—750 Ед/кг соответственно) вызывает умеренный противоопухолевый эффект на Са755 (ТРО = 80%) и Р388 (УПЖ = 22%) без каких-либо побочных эффектов (неопубликованные данные). Для в/в введения величина разовых доз 125 и 150 Ед/кг определена в пределах эффективных суммарных, длительность курса 3 или 5 дней с интервалом 48 или 24 ч. В результате исследования на мышях с чувствительными к в/в введению ЛО опухолями под контролем дефицита массы тела и последующей гибели животных разработан режим "дискретный" для проведения многократной в/в терапии ЛО с интервалом 48 ч. Режим заключается во введении первой относительно высокой стартовой дозы и последующих поддерживающих доз, составляющих 1/2 или 2/3 от первой. Показана эффективность и удовлетворительная переносимость режима "дискретный" при 5-кратном в/в курсе в суммарных дозах 450—550 Ед/кг. Терапия ЛО в режиме "дискретный" не вызывает значимого дефицита массы тела мышшей и сопряженной с ним гибели мышшей. Этот режим позволяет реализовать противоопухолевый эффект ЛО в отношении практически всего спектра чувствительных к в/в терапии опухолевых моделей: аденокарцинома молочной железы Са755, меланома В16, аденокарцинома толстой кишки АКАТОЛ, рак шейки матки РШМ-5, эпидермоидная карцинома легкого Льюис и плазмоцитомы МОПС-406. Наиболее чувствительной к в/в ЛО оказалась плазмоцитомы МОПС-406, практически не чувствительной к лечению был лимфолейкоз Р388.

Сравнительный анализ биологических эффектов ЛО в разовой дозе 150 Ед/кг при монотонном и дискретном в/в режимах позволил предположить, что найденный 48-часовой интервал является оптимальным для дискретного режима. Он позволяет нивелировать влияние депрессии уровня L-лизина в плазме крови и увеличить амплитуду колебания концентрации L-лизина непосредственно перед инъекцией ЛО и после нее. Так, показано, что у мышшей ВДФ1 в/в введение ЛО в однократной дозе 70 Ед/кг сразу и на период до 12 ч снижает уровень L-лизина в плазме крови до ничтожно малого, практически не определяемого уровня. Восстановление концентрации L-лизина наступает лишь через 24 ч [7]. Это объясняет полученный нами феномен удержания противоопухолевого эффекта без гибели мышшей от

дефицита лизина. Скорее всего, поддерживающие дозы ЛО позволяют обеспечить концентрацию L-лизина на уровне, минимально достаточном для жизни только нормальных клеток. Дефектное кровоснабжение опухоли не обеспечивает активно делящиеся клетки с интенсивным синтезом белка, особенно в G₁-фазе клеточного цикла, постоянным поступлением незаменимых аминокислот и соответственно делает их более уязвимыми к колебаниям концентрации L-лизина в плазме крови, чем здоровые клетки. Косвенно это подтверждается данными фармакокинетики ЛО в плазме крови у мышшей [3]. Так, расчетный T_{1/2} при внутривенном введении ЛО в диапазоне терапевтических доз не зависит от дозы, а снижение концентрации ЛО в крови носит ярко выраженный двухфазный характер: в начальной фазе (смешанная фаза распределения и элиминации) концентрация препарата снижается быстрее, чем в конечной (фаза элиминации). Наличие длительной фазы элиминации свидетельствует об отсроченном начале восстановления уровня L-лизина в плазме крови после введения фермента.

Полученные данные позволяют считать, что улучшение переносимости ЛО при дискретном внутривенном введении связано с повышением избирательности цитотоксического действия фермента на опухолевые клетки при изменении амплитуды и характера колебаний уровня L-лизина в плазме крови. Пик дефицита массы тела мышшей при ежедневном внутривенном введении ЛО, наступающий через 3—5 дней после окончания курса лечения независимо от величины суммарной дозы, подтверждает кумулятивный характер этого побочного эффекта. Более того, при внутривенной дискретной терапии в сравнении с монотонным внутривенным введением показана возможность уменьшения равноэффективной суммарной дозы на 200 Ед/кг (750 Ед/кг против 550 Ед/кг). Все вышесказанное является основанием для рекомендации использования дискретного режима для внутривенного введения ЛО при проведении доклинических и клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березов Т.Т. Молекулярные и биохимические основы энзимотерапии опухолей. Биомедицинская химия. 2005; 51: 235—47.
2. Лукашева Е.В., Березов Т.Т. L-лизин-α-оксидаза: физико-химические и биологические свойства. Биохимия. 2002; 67 (10): 1394—402.
3. Покровский В.С., Лесная Н.А., Трецалина Е.М., Лукашева Е.В., Березов Т.Т. Перспективы разработки новых ферментных противоопухолевых препаратов. Вопросы онкологии. 2011; 57 (2): 155—64.
4. Kusakabe H., Kodama K., Kuninaka A., Yoshino H., Misono H., Soda K. A new antitumor enzyme, L-lysine alpha-oxidase from *Trichoderma viride*. Purification and enzymological properties. J. Biol. Chem. 1980; 255(3): 976—81.
5. Лукашева Е.В., Лукашев А.Н., Покровский В.С., Трецалина Е.М., Шумилина Е.Ю., Аринбасарова А.Ю. и др. Исследование основных фармакокинетических параметров L-лизин-α-оксидазы. Вопросы медицинской, биологической и фармацевтической химии. 2013; 1: 57—62.
6. Миронов А.Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Медицина. 2005.
7. Kusakabe H., Kodama K., Machida H., Midorikawa Y., Kuninaka A., Misono H. et al. Occurrence of a novel enzyme, L-lysine oxidase with antitumor activity in culture extract of *Trichoderma viride*. Agric. Biol. Chem. 1979; 43 (2): 337—43.

REFERENCES

1. Berezov T.T. Molecular and biochemical basis of cancer enzymotherapy. *Biomedicinskaja himija*. 2005; 51: 235—47 (in Russian).
2. Lukasjeva E.V., Berezov T.T. L-lysine- α -oxidase: physico-chemical and biological properties. *Biohimija*. 2002; 67 (10): 1394—402 (in Russian).
3. Pokrovskij V.S., Lesnaja N.A., Treshhalina E.M., Lukasjeva E.V., Berezov T.T. Perspectives of new anticancer enzyme drugs development. *Voprosy onkologii*. 2011; 57 (2): 155—64 (in Russian).
4. Kusakabe H., Kodama K., Kuninaka A., Yoshino H., Misono H., Soda K. A new antitumor enzyme, L-lysine α -oxidase from *Trichoderma viride*. Purification and enzymological properties. *J. Biol. Chem.* 1980; 255 (3): 976—81.
5. Lukasjeva E.V., Lukasjev A.N., Pokrovskij V.S., Treshhalina E.M., Shumilina E.Ju., Arinbasarova A.Ju. et al. Studying of pharmacokinetic properties of L-lysine- α -oxidase. *Voprosy medicinskoj, biologiceskoj i farmacevticeskoj himii*. 2013; 1: 57—62 (in Russian).
6. Mironov A.N., ed. Manual for preclinical drug testing. Part one. Moscow: Meditsina. 2005 (in Russian).
7. Kusakabe H., Kodama K., Machida H., Midorikawa Y., Kuninaka A., Misono H. et al. Occurrence of a novel enzyme, L-lysine oxidase with antitumor activity in culture extract of *Trichoderma viride*. *Agricult. Biol. Chem.* 1979; 43 (2): 337—43.

Поступила 04.02.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.831-006.484.04-073.537-085.831

И. Ю. Кубасова¹, З. С. Смирнова¹, К. В. Ермакова¹, Л. М. Борисова¹, М. П. Киселева¹, Н. А. Оборотова¹, Г. А. Меерович², В. М. Деркачева³

ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ У КРЫС

¹ФГБУ "Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина" РАМН, 115478, г. Москва; ²Институт общей физики им. А. М. Прохорова" РАН, 141073, г. Москва; ³ФГУП "Государственный научный центр" Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей", 123995, г. Москва

Изучена возможность применения флуоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ) с использованием отечественных фотосенсибилизаторов и аппаратуры при опухолях головного мозга. При изучении динамики уровня и селективности накопления фотосенса и тиосенса в ткани глиомы С6 спектрально-флуоресцентным методом показано, что препараты селективно накапливаются в ткани опухоли. По патоморфологическому критерию показана высокая эффективность ФДТ с фотосенсом и тиосенсом в монотерапии, а также при комбинированном лечении. Установлено повышение терапевтической эффективности комбинированного лечения глиомы С6 с использованием ФД и интраоперационной ФДТ с аласенсом.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, флуоресцентная диагностика, глиома С6, фотосенс, тиосенс, аласенс.

FLUORESCENCE DIAGNOSIS AND PHOTODYNAMIC THERAPY OF MALIGNANT GLIOMAS IN RATS.

I.Yu. Kubasova¹, Z.S. Smirnova¹, K.V. Ermakova¹, L.M. Borisova¹, M.P. Kiseleva¹, N.A. Oborotova¹, G.A. Meerovich², V.M. Derkacheva³

¹N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences, 115478, Moscow, Russian Federation; ²A.M. Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, 141073, Moscow, Russian Federation; ³FSUE «SSC» NIOPIK, 123995, Moscow, Russian Federation

The possibilities of fluorescence diagnosis (FD) and photodynamic therapy (PDT) with domestic photosensitizers and domestic equipment in brain tumors have been studied. Investigation of the level and selectivity of accumulation dynamics of Photosens and Tiosens in C6 glioma tissue by spectral fluorescence method has showed the selective accumulation of both agents in tumor tissue. High efficiency of PDT with Photosens and Tiosens both as monotherapy and as combined treatment has been shown on the base of pathomorphological criteria. Increase of therapeutic efficacy of combined treatment of C6 glioma using FD and intraoperative PDT with Alasens has been established.

Key words: photodynamic therapy, fluorescence diagnosis, glioma C6, Photosens, Tiosens, Alasens.

Лечение злокачественных глиом головного мозга составляет одну из наиболее сложных задач в нейроонкологии. На современном этапе наиболее эффективным является комбинированный подход к лечению злокачественных глиом, включающий хирургическое удаление опухоли, лучевую терапию, химиотерапию, а также ряд

новых методов лечения: иммунотерапию, антиангиогенную, фотодинамическую терапию (ФДТ) [1].

Основными факторами, влияющими на прогноз больных со злокачественными глиомами, являются: гистологическая степень злокачественности опухоли, возраст пациентов, тяжесть состояния больных при поступлении в клинику и после операции, а также радикальность хирургического вмешательства [2]. Главной целью оперативного вмешательства является удаление максимально возможного объема опухоли и постановка точного гистологического диагноза.

Для корреспонденции: Смирнова Зоя Сергеевна — д-р мед. наук, проф., зав. лаб. экспериментальной химиотерапии НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ. 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24; e-mail: smirnova_z@mail.ru.