

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА ПЕКТИНА НА ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЯХ КРЫС

Алимжанов Н. Ю., Шаймурзаева Б. А., Ахатова И. М.

Кыргызская государственная медицинская академия им. И. К. Ахунбаева

Национальный центр онкологии

Бишкек, Кыргызская Республика

Резюме: В статье приводятся данные исследования по изучению противоопухолевых свойства пектина на модели перевиваемых опухолей крыс. Скрининг противоопухолевой активности пектина проведен на трех перевиваемых опухолях крыс: веретенноклеточной саркоме 45, карциносаркоме Уокера 256 и лимфосаркоме Плисса. Данные, полученные в эксперименте, свидетельствуют о перспективности пектина в качестве противоопухолевого агента, т.к. один из критериев отбора перспективных соединений был достигнут.

Ключевые слова: пектин, противоопухолевые свойства.

КЕЛЕМИШТЕРДИН ЧЫРМАЛЫШКАН ШИШИКТЕРИНЕ ПЕКТИНДИН ШИШИККЕ КАРШЫ КАСИЕТИ

Алимжанов Н. Ю., Шаймурзаева Б. А., Ахатова И. М.

И. К. Ахунбаев атындагы Кыргыз мамлекеттик медициналык академиясы

Улуттук онкология борбору

Бишкек, Кыргыз Республикасы

Корутунду: Макалада келемиштердин чырмалышкан шишиктеринин моделине пектиндин шишикке каршы касиетин изилдөө боюнча маалыматтар келтирилген. Пектиндин шишикке каршы скрининги келемиштердин үч чырмалышкан шишигине жүргүзүлдү: веретенноклеткалык саркомада 45, Уокер карциносаркомасында 256 жана Плисс лимфосаркомасында. Эксперименттен алынган маалыматтар, пектиндин шишикке каршы сапатынын жакшы жагы бар экендигин айгинелеп турат.

ANTICANCER PROPERTIES OF PECTIN ON TRANSPLANTABLE TUMORS IN RATS

Alimzhanov N. Y., Shaymurzaeva B. A., Ahatova I. M.

I. K. Ahunbaev Kyrgyz State Medical Academy

National Oncology Center

Bishkek, Kyrgyz Republic

Resume: The article presents data studies of antitumor properties of pectin in the model of transplanted tumors in rats. Screening of antitumor activity of pectin was conducted on three transplantable rat tumors: spindle cell sarcoma 45, Walker carcinosarcoma 256, Pliss lymphosarcoma. The data obtained in the experiment demonstrated antitumor properties of pectin, since it satisfies the one criteria of selection of the explored drugs.

Key words: pectin, anti-tumor properties.

Злокачественные новообразования являются одной из самых серьезных медико-биологических и социально-экономических проблем. По прогнозам ВОЗ за период с 2008 года по 2030 год онкологическая заболеваемость и смертность во всем мире возрастет в 2 раза. Число больных вырастет с 12,7 до 22,2 млн., а смертность - с 6 до 12 млн. [18].

Лекарственная терапия (химиотерапия) опухолей является одной из важных составляющих любой антираковой программы. В настоящее время в клинической практике

используется больше ста противоопухолевых препаратов [2]. Однако общая эффективность химиотерапии все еще недостаточно действенна, а спектр онкологических заболеваний, чувствительных к химиотерапии, ограничен. Создание новых активных противоопухолевых препаратов позволит расширить спектр опухолей, при которых результаты химиотерапии пока еще не столь ощутимы [14].

Природные полисахариды представляют практический интерес для онкологии, как соединения, обладающие противоопухолевым

потенциалом. Полисахариды способны не только тормозить рост экспериментальных опухолей [16], но и потенцировать противоопухолевую активность конвенциональных цитостатиков [7, 12].

Кроме этого полисахариды используются в качестве полимерной стабилизирующей оболочки при создании наноразмерных металлокомпозитов со свойствами легкодоступных биологических материалов полифункционального назначения [1, 9]. Предполагалось, что противоопухолевые свойства платиносодержащих нанокompозитов будут более выражены и пролонгированы за счет стабилизации наночастиц полисахаридами. Такое предположение вполне обосновано и нашло экспериментальное подтверждение [17]. После однократного введения нанокompозита платины в дозе на два порядка меньше общепринятой достигнута регрессия опухоли у 50% животных.

Пектины некоторых растений исследованы в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов. Однако результаты этих исследований не однозначны. Так, пектины ольхи клейкой у одних исследователей тормозили рост экспериментальных опухолей, ингибируя процессы метастазирования [16], у других - они стимулировали этот рост, снижая противометастатическое действие циклофосфана [11].

Вероятно, что такая разнонаправленность результатов связана с тем, что молекулярная масса исследованных пектинов сильно отличалась. Установлено, что пектины массой больше 300 кДа способны снижать иммунную реактивность. Те же пектины с молекулярной массой 20-100 кДа обладали иммуностимулирующим действием [10].

Таким образом, нанокompозиты на основе полимеров, сочетая в себе качества составляющих компонентов, как правило, улучшают свойства итогового продукта. Относительно нанокompозита пектин-металл однозначно утверждать, что итоговый продукт будет обладать противоопухолевым действием нельзя, т.к. неизвестен противоопухолевый потенциал низкомолекулярного пектина с молекулярной массой до 15 кДа.

В связи с этим представляет безусловный интерес скрининг противоопухолевых свойств наноразмерного низкомолекулярного пектина на некоторых штаммах перевиваемых опухолей

лабораторных животных.

Материалы и методы.

Наноразмерность испытуемого материала достигалась посредством диспергирования нативного свекловичного пектина в шаровой мельнице при 1425 оборотов в минуту (материал шаров и ячейки – карбид вольфрама) в течение 10 минут. В обработанном таким образом пектине содержание D-галактуроновой кислоты составило 83,0%, карбоксильных и метоксильных группы - 14,8 и 4,6 % соответственно, $M_w = 15$ кДа.

ИК-спектры пектина демонстрировали широкие пики поглощения с 3420 cm^{-1} до 3330 cm^{-1} в области высоких частот. Эти пики соответствовали колебанию гидроксильных групп, участвующих в образовании водородных связей. В низкочастотной области н ($\text{C} = \text{O}$) пик 1750 cm^{-1} , пик 1730 cm^{-1} соответствовал поглощению воды и отражал асимметричные колебания при 1630 cm^{-1} ионизированных карбоксильных групп $\text{nas}(\text{COO}^-)$. Максимальный пик 1420 cm^{-1} относился к симметричному колебанию группы (COO^-) . Слабое поглощение при 955 cm^{-1} обусловлено колебаниями γ (OH)-гидроксильной группы с водородными связями. Полученные ИК-спектры является типичными для пектиновых веществ.

Исследования проводились по правилам, принятыми в Страсбурге Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [5].

Скрининг противоопухолевой активности пектина проведен на трех перевиваемых опухолях крыс: веретенчатой саркоме 45, карциносаркоме Уокера 256, лимфосаркоме Плисса. В работе использовано 250 беспородных животных и крыс линии Вистар весом 120-150г. Гомогенизированную опухоль разводили средой 199 до соотношения 1:5. Приготовленную таким образом взвесь вводили под кожу задней лапы в объеме 0,2 мл. Лечение начинали через 72 часа после перевивки. Пектин, разведенный водой, вводили зондом в желудок один раз в сутки в дозе 600 мг/кг в течение 10-14 дней. Контрольная группа получала эквивалентный объем воды.

В качестве параметров оценки противоопухолевого эффекта препаратов использовали: торможение роста опухоли и увеличение продолжительности жизни. Динамику опухолевого роста регистрировали,

измеряя размеры опухоли штангенциркулем в трех взаимно перпендикулярных плоскостях. Результат выражался в произведении этих величин, деленом на два. Торможение роста опухоли (ТРО) оценивали по формуле:

$$\text{ТРО} = (V \text{ контроль} - V \text{ опыт}) / V \text{ контроль} \times 100\%,$$

где V контроль – среднее значение объема опухоли в контрольной группе,

V опыт – среднее значение объема опухоли в опытной группе.

Увеличение продолжительности жизни рассчитывали по формуле:

$$\text{УПЖ} = (\text{ПЖ контроль} - \text{ПЖ опыт}) / \text{ПЖ контроль} \times 100\%,$$

где ПЖ контроль – средняя продолжительность жизни в контрольной группе,

ПЖ опыт – средняя продолжительность жизни в опытной группе [15]

О степени выраженности эффекта судили по средней величине опухоли (x , среднеквадратическому отклонению s_x и ошибке репрезентативности s). Статистическая обработка материала проведена параметрическими и непараметрическими методами [4,6].

Результаты исследования.

Наибольшую противоопухолевую эффективность пектин продемонстрировал на модели метастазирующей карциносаркомы Уокера 256 (таблица 1). В процессе лечения на 7-10 сутки зарегистрировано максимальное торможение роста опухоли в 77%. Разница размеров опухоли в контрольной и опытной группах достигала статистически значимых величин $p < 0,05$. После окончания лечения торможение хотя и составляло 62%, однако уровень значимости был больше 0,05. Оценка кинетики роста опухоли в период с 10 по 17 дни отчетливо показала, что темпы роста в группе животных, получавших пектин, были несколько выше, чем в контрольной группе. В связи с этой особенностью показатель торможения роста опухоли снизился.

Продолжительность жизни животных после введения пектина была вдвое выше, чем в контрольной группе, за счет того, что у 26% животных опухоль Уокера регрессировала. Увеличение продолжительности жизни при этом достигало статистически значимого уровня $p < 0,01$.

Меньшую активность пектин показал на лимфосаркоме Плисса (таблица 2). В начале лечения торможение роста опухоли

в 46% достигало статистически значимого уровня. После окончания введения препарата торможение ослабевало за счет увеличения темпов роста в опытной группе и не достигало статистически значимого уровня. Однако торможение роста опухоли на первом этапе отразилось на продолжительности жизни животных. Животные, получавшие пектин прожили на 20% дольше, чем контрольные. Разница в продолжительности жизни этих двух групп достигает статистически значимого уровня $p < 0,05$.

При изучении противоопухолевых свойств пектина на саркоме 45 были получены более скромные результаты. Весьма умеренное торможение роста опухоли и увеличение продолжительности жизни не достигает статистически значимых величин. Т.е. пектин на данной модели оказался неэффективным средством.

Выводы. Данные, полученные в эксперименте, свидетельствуют о перспективности пектина в качестве противоопухолевого агента, т.к. один из критериев отбора перспективных соединений был достигнут. Увеличение продолжительности жизни крыс с карциносаркомой Уокера превысило пороговый уровень в 50% и составило 99,8%. Кроме того у 26% животных опухоль регрессировала в результате лечения. Полученные данные хорошо согласуются с опубликованными ранее данными [11], которые демонстрируют, что реакция опухолевых клеток зависит как

Таблица 1.

Противоопухолевые свойства пектина на опухоли Уокера

Группа	Размеры опухоли в см ² и торможение ее роста в %		Продолжительности жизни в днях и ее увеличение в %
	7-10 день	14-17 день	
Показатель			
Контроль	3,03 ± 0,7	10,93±2,8	19,30±1,9
Пектин	1,11±0,2	4,13±2,0	38,56±5,3
Торможение роста опухоли	77,4	62,1	
Уровень значимости p	<0,05	>0,05	
Увеличение продолжительности жизни			99,8
Уровень значимости p			<0,01

Таблица 2.

Противоопухолевые свойства пектина на опухоли Плисса

Группа	Размеры опухоли в см ² и торможение ее роста в %		Продолжительности жизни в днях и ее увеличение в %
	7день	14день	
Показатель			
Контроль	5,76± 0,8	24,60 ± 3,4	17,0 ± 1,0
Пектин	3,09± 0,2	19,18 ± 3,3	21,3 ± 1,1
Торможение роста опухоли	46,3	22,0	
Уровень значимости p	<0,05*	>0,05	
Увеличение продолжительности жизни			20,2
Уровень значимости p			<0,05*

Примечание * - Критерий Вилкоксона-Манна-Уитни

Таблица 3.

Противоопухолевые свойства пектина на опухоли С-45

Группа	Размеры опухоли в см ² и торможение ее роста в %		Продолжительности жизни в днях и ее увеличение в %
	10 день	17 день	
Показатель			
Контроль	2,48 ± 0,4	4,52±0,4	29,34±2,5
Пектин	2,39±0,3	4,07±0,6	32,61±3,3
Торможение роста опухоли	3,62	9,96	
Уровень значимости p	>0,05	>0,05	
Увеличение продолжительности жизни			11,1
Уровень значимости p			>0,05

от типа используемого пектина, так и от неодинаковой чувствительности самих опухолей к пектинам. Хотя польза пектинов в терапии злокачественных опухолей начинает все больше признаваться, механизмы этих эффектов еще предстоит изучить. Выяснение механизмов действия этих веществ осложняется, во-первых, сложностью структуры природных пектинов, во-вторых, ее изменением в процессе экстракции и модификациями структуры различными методами фрагментации, используемыми для получения специализированных пектинов. Анализ этих факторов необходим для разработки правильной стратегии применения пектинов и их производных в терапии злокачественных новообразований.

Литература:

1. Брусенцов Н.А., Брусенцова Т.Н., Сергеев А.В., Шумаков Л.И. Ферромагнитные жидкости, ферро-и ферромагнитные суспензии для радиочастотной индукционной гипертермии опухолей. //ХФЖ, №4. - т. 34.- 2000. - С. 38-43.
2. Государственный реестр лекарственных средств, т. I. М., 2002.-1300 с., Энциклопедия лекарств, РЛС, 2006. вып. 14, RLSNET.RU.- 1391 с.
3. Гриценко Л.А. Металлосодержащие нанокомпози́ты на основе арабиногалактана.// Дисс. ... канд.хим.наук., Иркутск, 2007. - 179с.
4. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л., Мед-на. 1973.- 143 с.
5. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и в иных научных целях (ETS 123) Страсбург 18 марта 1986 г.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М., Высш. школа, 1990.- 352 с.
7. Лопатина К.А. Водорастворимые полисахариды растений Сибири в комплексной терапии перевиваемых опухолей.// Дисс...канд. мед. наук, Томск, 2007 - 151 с.
8. Оводов Ю. С. Современные представления о пектиновых веществах // Биоорганическая химия , 35(3). - 2009 – С. 293-310.
9. Помогайло А.Д., Розенберг А.С. Уфлянд И.Е. Наночастицы металлов в полимерах. М.: Химия , 2000. - 671с.
10. Попов С. В. Иммуномодулирующее действие пектиновых полисахаридов.// Дисс... докт. биол. наук. Сыктывкар, 2010. 247 с..
11. Разина Т. Г. Фитопрепараты и биологически активные вещества лекарственных растений в комплексной терапии злокачественных новообразований: экспериментальное исследование.// Дисс...докт. биол. наук, Томск, 2006. - 336 с.
12. Сафонова Е. А. Полисахариды растений как корректоры цитостатической терапии экспериментальных опухолей.// Дисс...канд. мед. наук, Томск, 2011. - 168 с.
13. Суздалев И.П. Физикохимия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов.М.: Ком Книга, 2005. – 589с.
14. Трещалина Е.М. Противоопухолевая активность веществ природного происхождения. – М., ООО Медиа, 2009. -270 с.
15. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.// под общей ред. Хабриева Р.У. М., Мед-на, 2005. С.647 – 668.
16. Шилова Н.В. Влияние экстрактов ольхи клейкой на развитие перевиваемых опухолей в условиях цитостатической терапии.// Дисс...канд. мед. наук. Томск, 2004. -228 с.
17. Эстрела-Льопис В.Р., Бородинова Т.И., Трегубова Н.А., Чивичалова А.В., Олейник А.И. Биоконъюгаты и нанокомпози́ты на основе наночастиц золота и платины — основа новых лекарственных форм для онкотерапии.// Тезисы докладов Научно-практической конференции. Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения. Киев, 2009. - С.467.
18. World Cancer Report. -Lyon: J.A.R.C. Press, 2003. -352 p.