

С.А. Сивкович  
В.Э. Орел  
Н.Н. Дзятковская

Институт онкологии  
АМН Украины, Киев, Украина

**Ключевые слова:**

лимфосаркома Плисса,  
лимфогранулематоз,  
неходжкинские  
лимфомы, доксорубицин,  
заряженные наночастицы,  
механохимическая активация.

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕХАНОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННЫХ ЗАРЯЖЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ ДОКСОРУБИЦИНА ПРИ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЛИМФОМАМИ

**Резюме.** Цель работы — анализ клинического применения механохимически активированных (МА) заряженных наночастиц доксорубицина (ДР) в качестве фактора, ограничивающего осложнения, при полихимиотерапии (ПХТ) больных злокачественными лимфомами. Исследование проведено с участием 17 больных неходжкинскими лимфомами (НХЛ), 23 — лимфогранулематозом (ЛГМ) и на 60 неинbredных крысах с лимфосаркомой Плисса. Механохимическую активацию заряженных наночастиц антибиотика проводили с интенсивностью подвода механической энергии 20 Вт/г. Противоопухолевое действие МА ДР на животных с лимфосаркомой Плисса более эффективно, чем действие официального ДР (в 1,5 раза). Во время проведения ПХТ больным с ЛГМ и НХЛ и в продолжении ближайших дней после сеансов химиотерапии при использовании МА ДР количество побочных эффектов в среднем на 41% меньше, а также на 35% повышалась частота полной ремиссии. Использование в схемах ПХТ МА ДР повысило пятилетнюю выживаемость пациентов с НХЛ на 9%, а ЛГМ — на 24%.

### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на современные успехи в полихимиотерапии (ПХТ) при злокачественных опухолях, проблемой является возникающая при клиническом использовании доксорубицина (ДР) достаточно высокая токсичность препарата. Особое внимание к этому обусловлено тем, что существует риск инициирования вторичной малигнизации и кардиотоксичности в результате применения ДР. Вторичную малигнизацию, в частности, связывают с хромосомными aberrациями. Основным механизмом кардиотоксичности обусловлен свободнорадикальным перекисным окислением липидов, вызывающим разрушение мембран митохондрий. ДР уменьшает синтез мРНК альфа-кардиального актина в сердце, что свидетельствует о нарушении экспрессии генов. Поэтому можно констатировать многофакторность молекулярного механизма эффекта токсичности действия ДР. Факторами риска развития антрациклиновой кардиотоксичности являются: возраст старше 65 лет, наличие в анамнезе заболевания сердца, гипертонии, предшествующая лучевая терапия [1].

Также до сих пор не решен вопрос о первичной и вторичной резистентности злокачествен-

ных опухолей к антрациклам, вызванной, в частности, мембранным транспортом из опухолевых клеток антибиотика р-гликопротеином с молекулярной массой 170 кД (продукт гена множественной лекарственной устойчивости *MDR* 7-й хромосомы). Кроме того, лекарственную резистентность опухолей связывают с мембранным транспортом посредством белка с молекулярной массой 190 кД, синтезируемого геном множественной лекарственной устойчивости *MRP* 16-й хромосомы. В настоящее время считают, что резистентность к антрациклам обусловлена многофакторным молекулярным механизмом [2].

В течение последних лет ученые разработали наномедицинские механохимические технологии для приготовления препаратов и вакцин в виде нанопорошков из самоорганизующихся заряженных микро- и наночастиц. Результаты доклинических испытаний механохимически активированных (МА) лекарств и вакцин продемонстрировали их более эффективные терапевтические эффекты и снижение побочных эффектов лечения [3].

Цель данной работы — экспериментальное обоснование и анализ клинического приме-

ния механохимически активированных заряженных наночастиц ДР в качестве фактора, ограничивающего осложнения при ПХТ больных злокачественными лимфомами.

## ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Экспериментальные исследования.** Исследование проведено на 60 неинbredных крысах-самках с лимфосаркомой Плисса. Вес животных — 90–100 г, разводка вивария Института онкологии АМН Украины. Трансплантацию опухолевых клеток осуществляли введением 0,5 мл 30% суспензии.

Животных поделили на 3 группы: 1-я группа — контроль (без воздействия); 2-я группа — введение официального (ОФ) ДР; 3-я — введение МА ДР. Препарат вводили внутривентриально в дозе 1 мг/кг на 4, 6-е и 8-е сутки после перевивки опухоли.

**Клинические исследования.** Проанализированы непосредственные результаты лечения 23 больных лимфогранулематозом (ЛГМ) и 17 пациентов с неходжкинскими лимфомами (НХЛ) с морфологически подтвержденными диагнозами. Характеристика больных представлена в табл. 1. ПХТ пациентам с ЛГМ проводили по схеме АСОРР, а НХЛ — по схеме АСОР. Проводили 5–6 курсов ПХТ с использованием ДР. Больные были разделены на 2 группы. В 1-й группе использовали МА ДР из расчета 20 мг/м<sup>2</sup>, во 2-й контрольной группе лечение проводили ОФ ДР из расчета 40 мг/м<sup>2</sup> поверхности тела пациента.

Таблица 1

Характеристика больных злокачественными лимфомами

Показатель	Группа больных, n (%)	
	1-я	2-я (контроль)
Пол:		
мужской	9 (45)	10 (50)
женский	11 (55)	10 (50)
Средний возраст	38 ± 2	40 ± 2
Стадия:		
II	8 (40)	7 (35)
III	5 (25)	8 (40)
IV	7 (35)	5 (25)
Интоксикация		
нет	4 (20)	6 (30)
есть	16 (80)	14 (70)
Лимфогранулематоз	11 (55)	12 (60)
Морфологический вариант:		
смешанно-клеточный	5 (25)	4 (20)
лимфоидное истощение	2 (10)	3 (15)
лимфоидное преобладание	1 (5)	2 (10)
не установлен	3 (15)	3 (15)
НХЛ	9 (45)	8 (40)
T-клеточный вариант лимфом	5 (25)	5 (25)
B-клеточный вариант лимфом	4 (20)	3 (15)

Оценку эффективности лечения проводили на основании регистрации объективных непосредственных клинических результатов лечения и по международным критериям, специально разработанным для злокачественных лимфом, с градациями «полная ремиссия», «частичная ремиссия» и «отсутствие эффекта» (менее 75% регрессии очагов, отсутствие регрессии, прогрессирование поражений). Побочные эффекты ПХТ

оценивали согласно рекомендациям ВОЗ и Международного противоракового союза.

**Механохимическая активация.** Механохимическую активацию антибиотика осуществляли в микровибромельнице Лотос-2 (Лотос, Украина) с линейным электродвигателем и металлической рабочей камерой, в которую помещали лиофилизированный порошок ДР. Условия механической обработки: частота 35 Гц, амплитуда 9 мм, продолжительность 5 мин, интенсивность подвода механической энергии 20 Вт/г исключали термоллиз ДР.

При механохимической активации (сдвиг, удар, диспергирование) препарата в нем возникают пластические деформации, вызывающие изгибание, разветвление, расщепление, слияние дефектов кристаллической решетки — дислокации. При этом в веществе появляются свободные места в узлах кристалла — вакансии. Это является предпосылкой генерации в антибиотике химически высокоактивных положительно заряженных наночастиц — ионов и свободных радикалов. Последующее растворение МА препарата в водной среде инициирует ионную поляризацию ДР, повышающую противоопухолевую активность антибиотика [4]. Препарат вводили пациентам и животным по общепринятой методике.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Экспериментальные исследования.** Результаты сравнительного изучения влияния ОФ ДР и МА ДР на рост лимфосаркомы Плисса приведены в табл. 2. Как видно из таблицы, каждый препарат вызывал торможение роста опухоли на протяжении 14 сут после перевивки. При этом введение ОФ ДР вызывало уменьшение объема опухоли в 2,2 раза; МА ДР — в 3,3 раза по сравнению с контролем.

Таблица 2

Влияние ДР на объем лимфосаркомы Плисса

Серия опытов	Объем опухоли (см <sup>3</sup> ) в разные сроки (сут) после перевивки				
	8	11	12	13	14
Контроль (без ДР)	1,72 ± 0,30	4,19 ± 1,70	9,35 ± 1,77	13,48 ± 3,74	22,12 ± 1,89
Введение ОФ ДР	0,89 ± 0,44	3,81 ± 0,55	5,19 ± 1,07*	8,71 ± 1,31	9,81 ± 1,55*
Введение МА ДР	1,20 ± 0,33	3,73 ± 1,62	4,26 ± 1,88*	4,43 ± 3,89*,**	6,61 ± 1,76*

\*Разница статистически достоверна по сравнению с контролем; \*\*разница статистически достоверна по сравнению с животными, которым вводили ОФ ДР.

Обращает на себя внимание тот факт, что противоопухолевое действие МА ДР эффективнее, чем действие ОФ ДР в 1,5 раза.

**Клинические исследования.** В процессе и после ПХТ с использованием МА ДР не зафиксировано особенностей реакции кожи в месте введения препарата. Сравнительный анализ побочных эффектов МА ДР и ОФ ДР во время ПХТ пациентов представлен в табл. 3.

**Таблица 3**  
Основные побочные эффекты при использовании в ПХТ МА ДР

Побочные эффекты	Группа больных, n (%)	
	1-я	2-я (контроль)
Лейкоцитопения IV степени	0 (0)	6 (30)
Тромбоцитопения III степени	1 (5)	14 (70)
Сердечно-сосудистые нарушения	12 (60)	18 (90)
Диарея	1 (5)	10 (50)
Рвота	0 (0)	14 (70)
Отсутствие токсических эффектов	6 (30)	2 (10)

При проведении курсов ПХТ с использованием МА ДР в 1-й группе у 14 (70%) больных отмечали симптомы общей токсичности I степени по шкале ВОЗ, у 6 (30%) больных проявлений токсичности не установлено. При использовании ОФ ДР во 2-й группе отмечали II степень токсичности у 3 (15%) пациентов, I — у 15 (75%) больных, проявления токсичности отсутствовали лишь у 2 (10%). Учитывая, что наиболее значимыми побочными эффектами ДР в период ПХТ являются сердечно-сосудистые нарушения, миелодепрессия и диспепсия, провели сравнительный анализ этих побочных эффектов у больных 1-й и 2-й групп. Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы зафиксированы у 18 (90%) пациентов 2-й группы и 12 (60%) — 1-й. На основании показателей периферической крови у 6 (30%) больных 2-й группы отмечали лейкопению IV степени, в 1-й группе не зафиксировано ни одного случая. Тромбоцитопению III степени отмечали у 1 (5%) пациента при использовании в ПХТ МА ДР и у 14 (70%) — при ПХТ с ОФ ДР. Во 2-й группе во время проведения ПХТ у 14 (70%) больных отмечали рвоту, периодически — тошноту, у 10 (50%) — диарею. При использовании в ПХТ МА ДР диарея возникала у 1 (5%) пациента, тошнота и рвота не отмечены. В целом при проведении ПХТ больным с ЛГМ и НХЛ с использованием МА ДР количество отмечаемых побочных эффектов во время химиотерапии и в ближайшие дни после нее в среднем на 48% меньше, чем при использовании ОФ препарата.

Анализ эффективности лечения приведен в табл. 4. Как видно из данных, полную ремиссию отмечали у 11 (55%) больных, получивших лечение МА ДР и у 4 (20%) пациентов при ПХТ с ОФ препаратом. Отсутствие эффекта вследствие проведенного лечения среди больных 2-й группы отмечено в 9 (45%) случаях, в 1-й группе — 7 (35%). В 1-й группе частичную ремиссию определяли у 2 (10%) пациентов, во 2-й — у 7 (35%).

**Таблица 4**  
Результаты лечения больных с ЛГМ и НХЛ при использовании в схеме ПХТ МА ДР

Группа больных	Полная ремиссия, %	Частичная ремиссия, %	Отсутствие ответа, %
1-я	11 (55)	2 (10)	7 (35)
2-я (контроль)	4 (20)	7 (35)	9 (45)

Пятилетняя выживаемость больных с НХЛ в 1-й группе составляла — 27%, а во 2-й группе — 16%; а для ЛГМ в 1-й группе составила 49%, а во 2-й — 25%.

Более высокая противоопухолевая эффективность и минимальная токсичность ПХТ с использованием МА заряженных наночастиц ДР при ПХТ больных злокачественными лимфомами на наш взгляд обусловлена избирательной особенностью положительно заряженных наночастиц препарата электростатически связываться с отрицательно заряженными биомембранами злокачественных клеток. Это увеличивает последующую более высокую проницаемость заряженных наночастиц ДР через поры, каналы биомембран злокачественных клеток и инициирует их апоптоз на основе менее токсичных свободнорадикальных механохимических механизмов нарушения биоэнергетических процессов [5]. Не исключено, что именно механизм механохимической коррекции биоэнергетических процессов в организме больных злокачественными лимфомами способствовал повышению их пятилетней выживаемости.

## ВЫВОДЫ

1. Результаты экспериментальных исследований лимфосаркомы Плисса свидетельствуют, что противоопухолевое действие МА заряженных наночастиц ДР более эффективно, чем действие ОФ ДР.

2. Использование МА заряженных наночастиц ДР в схемах ПХТ больных с ЛГМ и НХЛ ограничивает осложнения при их лечении и повышает пятилетнюю выживаемость пациентов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Elbl L, Vasova I, Navratil M, *et al.* Late cardiotoxicity in patients with malignant lymphoma treated with doxorubicin chemotherapy. *J Vnitr Lek* 2006; **52** (4): 328–38.
2. Ferreira MJ, Duarte N, Gyemant N, *et al.* Interaction between doxorubicin and the resistance modifier stilbene on multidrug resistant mouse lymphoma and human breast cancer cells. *Anticancer Res* 2006; **26** (5A): 3541–6.
3. Kondo SA. Design and development of novel polymeric prodrugs prepared by mechanochemical solid-state polymerization. *Yakugaku Zasshi* 2000; **120**: 1337–46.
4. Orel VE, Kudryavets YuI, Bezdenezhnik NA, *et al.* Mechanochemically activated doxorubicin nanoparticles in combination with 40MHz frequency irradiation on A-549 lung carcinoma cells. *Drug Delivery* 2005; **12** (3): 171–8.
5. Orel VE. Biological mechanochemi-emission and bioenergetics. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 1998; **46**: 273–8.

## USE OF MACHANO-CHEMICALLY ACTIVATED CHARGED NANOPARTICLES OF DOXORUBICIN AS A FACTOR LIMITING COMPLICATIONS IN POLY-CHEMOTHERAPY OF PATIENTS WITH MALIGNANT LYMPHOMAS

*S.A. Sivkovich, V.E Orel, N.N. Dzyatkovskaya*

**Summary.** Objective of a study — analysis of clinical use of mechanochemically activated (MA) charged

*nanoparticles of doxorubicin (DR) as a factor limiting complications in polychemotherapy (PCT) of patients with malignant lymphomas. A study was performed in 17 patients with non-Hodgkin's lymphomas (NHL), 23 patients with Hodgkin's lymphomas (HL) and 60 non-inbred rats with Pliss' lymphosarcoma. Mechanochemical activation of charged nanoparticles DR was performed with intensity of power supply of 20 W/g. Anti-tumor effect of MA DR on the animals with Pliss' lymphosarcoma was 1,5-fold more effective than the effect of officinal DR. During PCT of HL and NHL patients using of MA DR decreased complications dur-*

*ing and some days after sessions of chemotherapy by 41% as well as increased frequency of complete remission by 35%. Use of MA DR in schedules of PCT increased 5-year survival of NHL patients by 9% and HL patients by 24%. Use of MA nanoparticles DR in the schedules of PCT of HL and NHL patients limits complications and increases 5-year survival of patients.*

---

**Key Words:** Pliss' lymphosarcoma, Hodgkin's lymphomas, non-Hodgkin's lymphomas, doxorubicin, machanochemical activation, charged nanoparticles.