

УДК 616-006.484-018-085.277.3

Д. П. ВЕЕВНИК¹, З. Б. КВАЧЕВА², А. С. ФЕДУЛОВ³, С. А. БЕЛЯЕВ⁴,
Т. Л. ЮРКШТОВИЧ⁴, В. Н. КАЛЮНОВ⁵, Н. Г. АНТОНЕВИЧ²,
П. М. БЫЧКОВСКИЙ⁴, А. А. БОРОВСКИЙ³

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ТЕМОДЕКС» В РАЗЛИЧНЫХ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ЛИНИЯХ КЛЕТОК ГЛИОМ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

¹ ГК Больница скорой медицинской помощи, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

³ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

⁴ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

⁵ Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Представлены результаты изучения цитостатического и цитотоксического действия нового противоопухолевого лекарственного средства «Темодекс» и субстанции темозоломида в культурах опухолевых глиальных клеток разной степени злокачественности. Объектами исследования служили перевиваемые линии клеток глиомы крысы C-6, глиобластомы человека A-172, глиомы человека U-251MG. Установлено, что оба препарата вызывали противотуморогенный эффект во всех трех тестируемых линиях клеток. Причем, «Темодекс» проявил более пролонгированную цитотоксичность, которая развивалась на 2–7 суток позже и была протяженнее, по сравнению с таковой темозоломида при равном с ним противоопухолевым эффектом.

Ключевые слова: темозоломид, опухоли головного мозга, перевиваемые линии опухолевых клеток человека и животных

Введение. Первичные опухоли головного мозга (ОГМ) занимают одно из ведущих мест в структуре онкозаболеваний, характеризуясь широкой распространенностью, высокой степенью инвалидизации и смертности, в том числе среди наиболее трудоспособной части населения. Они составляют примерно 1,4% от общего количества фиксируемых неоплазий у человека. Частота диагнозов ОГМ в мире колеблется от 7,42 до 13,9 на 100 000 населения в год [20] при неуклонной тенденции к их росту, с увеличением возраста: 4 на 100 000 до 12 лет, 6 – до 35 лет, 18 – до 55 лет и 70 000 на 100 000 до 75 лет [9].

Учитывая то, что данная патология наносит значительный социальный и экономический ущерб обществу, решение этой проблемы является одной из приоритетных задач здравоохранения [5]. Это тем более так, если принять во внимание что, несмотря на стандартные методы лечения ОГМ, заключающиеся в хирургическом удалении с последующей лучевой и лекарственной терапией в различных комбинациях, низкая выживаемость, большая летальность и инвалидизация продолжают сохраняться [1, 3]. Средняя продолжительность жизни при наиболее злокачественных ОГМ, в частности при мультиформной глиобластоме, не превышает 12–15 мес [13]. При их медикаментозном лечении применяется довольно широкий арсенал лекарственных средств, к которым относятся препараты: производные нитрозомочевины (кармустин, ломустин, мустофоран), алкилирующие агенты 2-го поколения (темодал), различные комбинации химиотерапевтических средств – PCV (прокарбазин, ломустин, винкристин), PNV (прокарбазин, нидрин, винкристин) [2].

В последние годы наиболее хорошо зарекомендовал себя эффективно используемый в клинической практике препарат – темозоломид. Он был синтезирован группой ученых,

возглавляемых М. Stevens, в 1984 году в Великобритании и прошел почти 20-летний путь изучения в экспериментальных и клинических условиях [17]. Темозоломид принадлежит к группе алкилирующих агентов 2-го поколения – имидазотетразинов. Основным механизмом его действия является метилирование ДНК канцерных клеток – химический процесс присоединения метильных групп (углеводородных остатков) СН₃ к 06 гуанину, нарушающий структуру клетки. Являясь небольшой липофильной молекулой, препарат хорошо проникает через ГЭБ, накапливаясь в тканях опухоли в концентрациях, достаточных для реализации его терапевтического эффекта [6, 11, 18].

В настоящее время повышение действенности химиотерапии является актуальной задачей в нейроонкологии. В связи с этим активно разрабатываются как новые формы цитостатиков и их комбинаций, так и способы их доставки, в том числе путем непосредственного внесения химиопрепарата в ложе удаленной опухоли. Такой вариант доставки обеспечивает максимальную концентрацию медикамента в зоне аппликации при минимальной системной токсичности. Локальная химиотерапия используется в практике нейроонкологии в ряде стран, в том числе и США, где в качестве препарата местного действия используется «Глиадел», представляющий собой активную субстанцию кармустин, иммобилизованную в биодеградируемый синтетический полимерный носитель. По мере биодеградации носителя высвобождается активный химиопрепарат, обеспечивая тем самым пролонгированное химиотерапевтическое действие на оставшиеся опухолевые клетки [7, 21].

В рамках Государственной научно-технической программы «Новые лекарственные средства» рядом структурных подразделений Белгосуниверситета ранее разработана и освоена технология приготовления субстанции ТЗ. Показано на культуре глиомных клеток, что данный препарат не уступает по своему противоопухолевому действию аналогичному зарубежному коммерческому препарату [7]. В настоящее время в НИИ ФХП БГУ, БГМУ и РУП «Белмедпрепараты» проводятся исследования, направленные на разработку и испытания оригинального противоопухолевого лекарственного средства «Темодекс» (ТМ) для локальной химиотерапии злокачественных ОГМ, где в качестве активного вещества используется субстанция темозоломида, иммобилизованного на биодеградирующемся гелеобразующем фосфате декстрана (ФД). Одним из первых этапов доклинического исследования эффективности разрабатываемых противоопухолевых препаратов является изучение их антипролиферативной и цитотоксической активности в перевиваемых линиях опухолевых клеток человека и животных [15].

Целью данного исследования, явилось сравнительное изучение цитостатического и цитотоксического действия нового противоопухолевого лекарственного средства «Темодекс» и субстанции темозоломида в культурах опухолевых глиальных клеток разной степени злокачественности.

Материалы и методы. *Перевиваемые линии опухолевых клеток и условия их выращивания.*

C-6 – культура клеток глиомы крысы, индуцированная *in vivo* N-нитрозомочевинной, моноклональная клеточная линия, кариология 2n=42, пределы изменчивости по числу хромосом 39–44, модальное число хромосом 42. Туморогенность: туморогенна на белых беспородных крысах. Характеризуется 85–90%-ным содержанием астроглиальных клеток и около 10%-ным олигодендроцитов, которые имеют различную степень зрелости;

A-172 – культура клеток глиобластомы человека, кариология 2n=46, модальное число хромосом 80. Туморогенность: не туморогенна на линиях NIH/Swiss, обработанных антимоцитарной сывороткой;

U-251MG – культура клеток глиомы человека, количество полиплоидов 1,4%, кариология: 2n=46, предел изменчивости 39–52 хромосом, модальное число хромосом 48,50, канцерогенна.

Линии клеток получены из коллекции культур клеток человека и животных Института цитологии, г. Санкт-Петербург. Восстановленные после криоконсервации культуры еженедельно перевивали и поддерживали в субпасажах, систематически контролируя их на жизнеспособность (не менее 97% живых клеток) и отсутствие микроорганизмов – контаминантов (бактерий, грибов, микоплазм). Все работы с культурами проводили в ламинарном боксе второго класса защиты с вертикальной подачей стерильного воздуха.

Для монослойного культивирования клеток в качестве ростовой среды использовали питательную среду DMEM (Дульбекко модифицированная среда Игла, Sigma) с добавлением телячьей эмбриональной сыворотки – 10% (HyClone), антибиотиков – гентамицина в дозе

мкг/мл (Белмедпрепараты). Посевная доза клеток - 150 000 в 1 мл ростовой среды. Культуры инкубировали в пластиковых флаконах (Coster), с ростовой поверхностью 25 см² в термостате при 37°C. Срок их жизни культур 14–16 суток. Для изучения влияния разных доз препаратов на накопление клеток и их морфологию использовали культуры в логарифмической фазе роста в течение суток после их посева).

Исследуемые препараты. Субстанция темозоломида (ТЗ), фосфат декстрана (ФД) и «Темодекс» (ТМ), (ТЗ, иммобилизованный на гелеобразующем фосфате декстрана при соотношении компонентов 1:9). Предварительно приготовленные во флаконах навески препаратов метично укупоривались и стерилизовались гамма-облучением в дозе 0,5 МРад.

Условия проведения экспериментов. Перед проведением экспериментов в стерильных флаконах в каждый флакон с содержимым добавляли по 30 мл питательной среды ДМЕМ, инкубировали в течение 20 мин и на 15 мин оставляли в термостате при 37°C. Готовили различные концентрации субстанции темозоломида и препарата «Темодекс» (в пересчете на темозоломид) в питательной среде: 300 мкг/мл, 150 мкг/мл, 75 мкг/мл, 37,5 мкг/мл. Концентрации ФД в питательной среде соответствовали содержанию его в ТМ и составляли 2700 мкг/мл, 1500 мкг/мл, 750 мкг/мл и 337,5 мкг/мл соответственно. По 10 мл приготовленных растворов вносили во флаконы с культурами после удаления из них культуральных сред и инкубировали в термостате при 37°C. Наблюдения за культурами проводили ежедневно в течение 14 дней. Для каждой дозы препаратов использовали по три флакона с культурой. Результаты анализировали по средним значениям трех повторностей.

Методы оценки роста и морфологии клеток. Через 48 и 96 ч после добавления препаратов определяли количество накопленных (выросших) клеток во флаконах опытных и контрольных групп. Для этого питательную среду удаляли, монослой клеток для перевода их в суспензию обрабатывали 0,25%-ным раствором трипсина с 0,025%-ным раствором Версена (1:3). Концентрацию снятых клеток подсчитывали в камере Горяева общепринятым способом. Степень подавления роста клеток выражали в процентах и вычисляли по формуле: $N\% = (1 - \text{опыт}/\text{контроль}) \cdot 100\%$ [8].

Морфологический анализ культур проводили прижизненно с использованием светового микроскопа с фазово-контрастным инвертированным микроскопом Nikon TS100 (Япония) при увеличении в 100–200 раз. Ежедневно в течение 14 суток оценивали целостность монослоя клеток, их форму, размеры, состояние ядер, цитоплазмы, длину отростков, наличие цитодеструкции. Проводили съемку изображений клеток при помощи видеокамеры, связанной с компьютером.

Статистический анализ результатов. Статистическую обработку данных количественного накопления клеток проводили общепринятым методом, определяя достоверность различий по t-критерию Фишера – Стьюдента. На каждую точку использовали не менее 3 флаконов с культурой в 3 повторностях эксперимента.

Результаты и их обсуждение. **Определение степени подавления роста клеток исследуемыми препаратами в тест-системах культур клеток.** При оценке накопления клеток в течение 48 ч в культуре глиомы крысы С6 в присутствии ТЗ установлен его антипролиферативный эффект в дозах 300–75 мкг/мл ($p < 0,05$), на 10–15% превосходя таковое ТМ (рис.1). Более длительная инкубация (96 ч) сопровождалась усугублением эффектов обоих препаратов, выразившимся в нарастании угнетения роста по каждой концентрации на 15–24% (рис1), ($p < 0,05$).

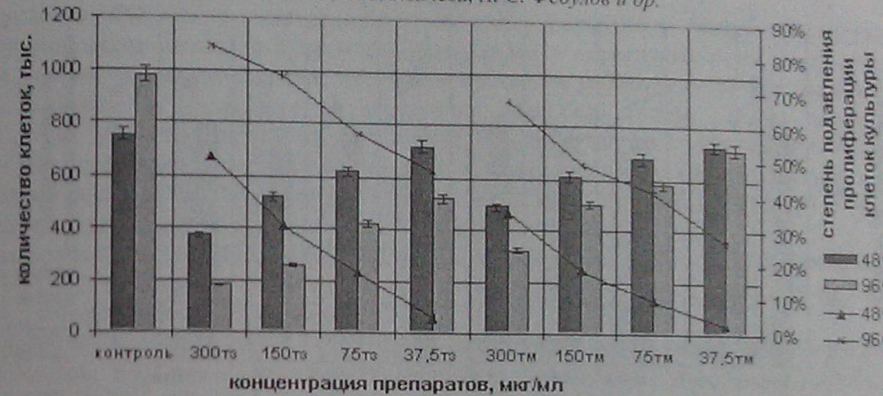


Рис. 1. Антипролиферативный эффект препаратов темозоломида (ТЗ) и «Темодекса» (ТМ) в культурах глиомы крысы С6. По правой оси – среднее количество накопления клеток на флакон (гистограмма), по левой оси – степень подавления роста клеток по отношению к контролю (линейный график)

Применительно к глиобластоме человека А-172 (рис. 2) и ТЗ и ТМ проявили антимитотическое действие при 48-часовом их контакте с культурой лишь в дозе 300 мкг/мл, причем в сопоставимых пределах 15 и 18% соответственно.

При продлении срока инкубации до 96 ч ТЗ подавлял накопление клеток на 40–50% относительно контроля в расширенном диапазоне концентраций от 300 до 75 мкг/мл, тогда как ТМ действовал в эквивалентной мере, но в более узком диапазоне доз – 300–150 мкг/мл.



Рис. 2. Антипролиферативный эффект препаратов темозоломида (ТЗ) и «Темодекса» (ТМ) в культурах глиобластомы человека А-172. По правой оси – среднее количество накопления клеток на флакон (гистограмма), по левой оси – степень подавления роста клеток по отношению к контролю (линейный график)

Что же касается линии клеток глиомы человека U- MG, то в пределах 48 ч экспозиции обоими препаратами не выявлено их антипролиферативного эффекта ($p > 0,05$), (рис. 3). Однако спустя 96 ч контакта клеток с препаратами ТМ и ТЗ (300 мкг/мл) отмечено уменьшение биомассы культуры на 32 и 33% соответственно. В дозах 150–37,5 мкг/мл ТМ оказывал менее выраженное (4–12%) антипролиферативное действие на клетки по сравнению с ТЗ (20–29%).

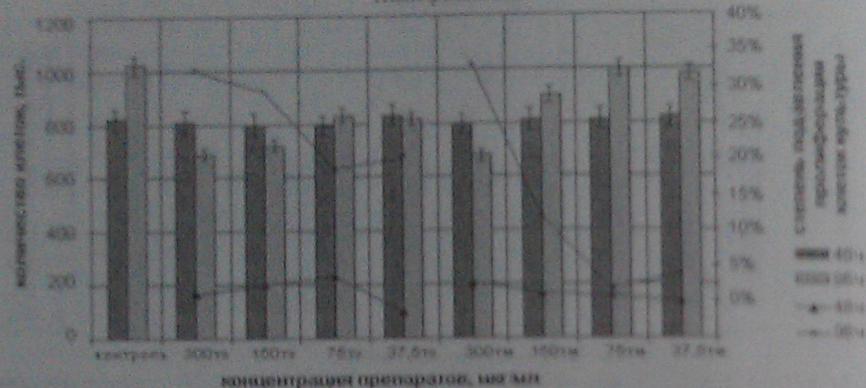


Рис. 3. Антипролиферативный эффект препаратов темозоломида (ТЗ) и «Темодекса» (ТМ) в культурах глиомы человека U-251 MG. По правой оси – среднее количество накопления клеток на флакон (гистограмма), по левой оси – степень подавления роста клеток по отношению к контролю (линейный график)

Исследование цитотоксического действия препарата «Темодекс» и субстанции темозоломида в дозе 300 мкг/мл в динамике роста культур опухолевых клеток. Предварительно исследовали влияние на тестируемые культуры гидрогеля ФД в дозе 2700 мкг/мл, соответствующей его содержанию в препарате «Темодекс», взятом в концентрации 300 мкг/мл. Перед внесением в культуры гидрогель диспергировали механически, поскольку лежачий на поверхности клеток целый пласт может вызвать нарушение их дыхания и проявление цитотоксичности. При наблюдении за культурами в течение 10-12 дней их роста *in vitro* не выявлено влияния ФД на пролиферативную активность и морфологию клеток во всех опухолевых линиях при сравнении их с контрольными культурами ($p < 0,05$) (рис. 4).

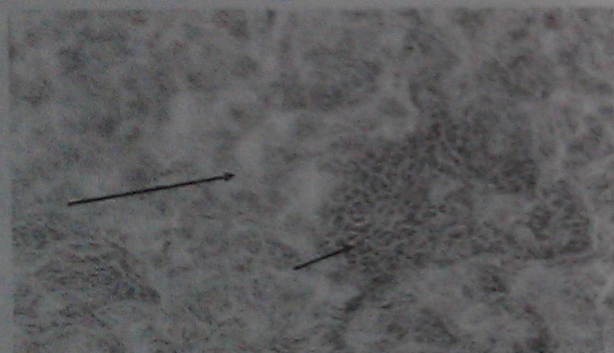


Рис. 4. Фазово-контрастная микроскопия, ув. x200. Длинная стрелка – фосфат декстрана на поверхности клеток; короткая стрелка – участок сохраненного монослоя клеток.

Отсутствие цитодеструкции в культуре клеток глиобластомы человека А-172 при совместном культивировании фосфата декстрана в дозе 2700 мкг/мл, что соответствует его содержанию в препарате «Темодекс» в дозе 300 мкг/мл

После 48-часового контакта с ТЗ и ТМ культуры глиомы крысы С-6 несмотря на сохранность в целом монослоя претерпевали морфологические изменения. Они характеризовались округлением небольшой части клеток (10-15%), их отслоением от поверхности флакона и нахождением в культуральной среде. Некоторые из них (25-30%) увеличены в размерах, содержат вакуоли. В таких клетках наблюдается сохранность ядер, наличие 3-4 гипертрофированных ядрышек. Монослой клеток в целом при его сохранности был несколько разрежен, отличался по плотности от контрольной культуры. В культурах, инкубированных с ТЗ, степень выраженности морфологических изменений была выше, а признаки цитотоксичности проявлялись раньше – уже ко вторым суткам инкубации с препаратом.

В условиях 48-96 ч инкубации с обоими препаратами имело место развитие цитодеструктивных процессов в культурах, приводящих к нарушению целостности монослоя, отслоению клеток от подложки (рис. 5). Часть клеток округляется, теряются межклеточные контакты. Наблюдается укорочение и деструкция отростков клеток. Другая часть клеток, наоборот, имеет увеличенные размеры – они гипертрофированы, с просветленным ядерным веществом. Причем в культурах, инкубированных с ТЗ, цитодеструкция клеток наступала раньше – на 2-3 сутки после внесения препарата, в то время как в культуре, инкубируемой с ТМ, остро выраженная цитодеструкция наблюдалась на 3-4-е сутки (рис. 5).

Выраженных изменений морфологии клеток и нарушения целостности клеточного монослоя в культуре А-172 в течение 48 часов контакта с ТЗ и ТМ в дозе 300 мкг/мл не выявлено по сравнению с контрольными культурами.

Проявление цитодеструкции и сходной цитопатологии (гипертрофия, округление и отслоение клеток, нарушение целостности монослоя) наблюдались в культуре глиобластомы человека А-172 только через 4-5 суток после контакта с ТЗ и через 6-8 дней после воздействия препарата ТМ (рис. 6).

После внесения препаратов в культуры клеток глиомы человека U-251 MG через 48 ч не выявлено выраженных изменений в морфологии клеток, рисунке монослоя по сравнению с контрольной культурой. Их проявление наступает только через 4-5 суток контакта клеток с препаратами. Особенностью явился локальный (очаговый) характер нарушения целостности монослоя, с теми же морфологическими изменениями клеток, выражающимися в укорочении их отростков, увеличением размеров, округлением клеток. Наибольшая выраженность цитотоксического эффекта при действии ТЗ в культуре наблюдалась на 10-е сутки после его внесения, а при контакте клеток с препаратом ТМ – на 9-14 сутки. Дальнейшие наблюдения за культурами были приостановлены, так как в контрольных культурах (без внесения препаратов) появились признаки старения клеток (рис. 7).

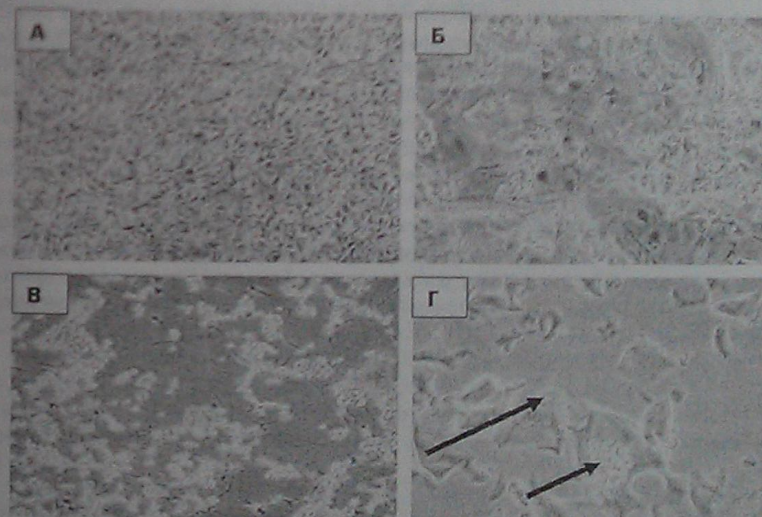


Рис. 5. Фазово-контрастная микроскопия, ув. x 200. Длинная стрелка – частицы гидрогеля фосфата декстрана в процессе биодеградации, короткая стрелка – остатки разрушенного монослоя клеток. Цитотоксическое действие препаратов темозоломида и «Темодекса» в культурах глиомы крысы С-6: А – контрольная культура глиомы крысы С-6, 5-е сутки роста *in vitro*; В – цитодеструкция в культуре С-6 на 3-и сутки после добавления в питательную среду 300 мкг/мл темозоломида; Б, Г – развитие цитодеструктивных изменений в культуре С-6 на 4 (Б)-5-е (Г) сутки после добавления препарата «Темодекс» в дозе 300 мкг/мл

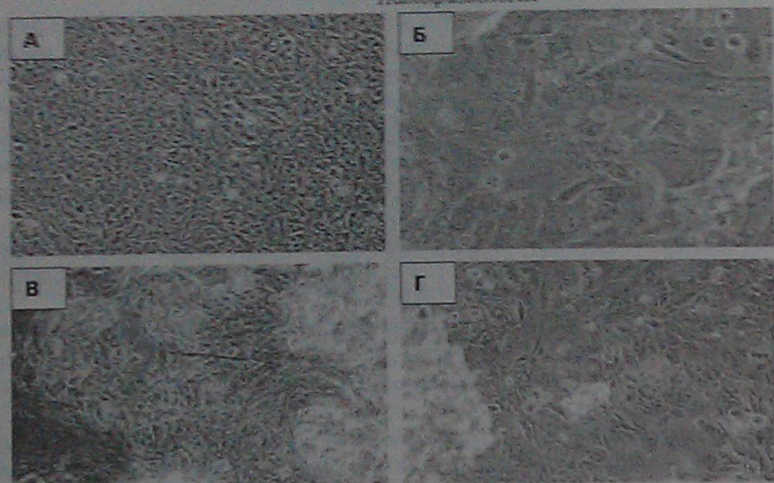


Рис.6. Фазово-контрастная микроскопия, ув. х 200. Цитотоксическое действие препаратов темозоломида и «Темодекса» в культурах глиобластомы человека А-172:

А – контрольная культура глиобластомы человека А-172, 7-е сутки роста *in vitro*. Б – цитодеструкция в культурах на 5-е сутки после добавления препарата темозоломида в дозе 300 мкг/мл; В, Г – развитие цитодеструктивных изменений в культурах на 6-е (В)–8-е (Г) сутки после добавления в питательную среду «Темодекса» в дозе (в пересчете на темозоломид) 300 мкг/мл.

Проведенные сравнительные исследования антипролиферативных и цитотоксических свойств субстанции темозоломида и его иммобилизованной формы «Темодекс» (ТМ) показали, что оба препарата вызывают противоопухолевый эффект в культурах разной степени чувствительности: глиомы крысы С-6, глиобластомы человека А-172 и глиомы человека U-251 в дозе 300 мкг/мл. Установлено, что препарат «Темодекс», по сравнению с субстанцией темозоломида (ТЗ) во всех культурах обладает более пролонгированной цитотоксичностью, которая протекает на 2–7 суток более длительно, достигая такого же эффекта, как и при использовании препарата ТЗ. В связи с полученными результатами препарат «Темодекс» может быть предложен в качестве противоопухолевого препарата местного пролонгированного действия. В процессе биодegradации носителя (фосфата декстрана) высвобождается активный химиопрепарат ТЗ, обеспечивая тем самым пролонгированное химиотерапевтическое действие на опухолевые клетки. Подобного локального действия используется препарат «Глиадел», представляющий собой активную субстанцию кармустиин, иммобилизованную в биодegradируемый синтетический полимерный носитель [7, 21].

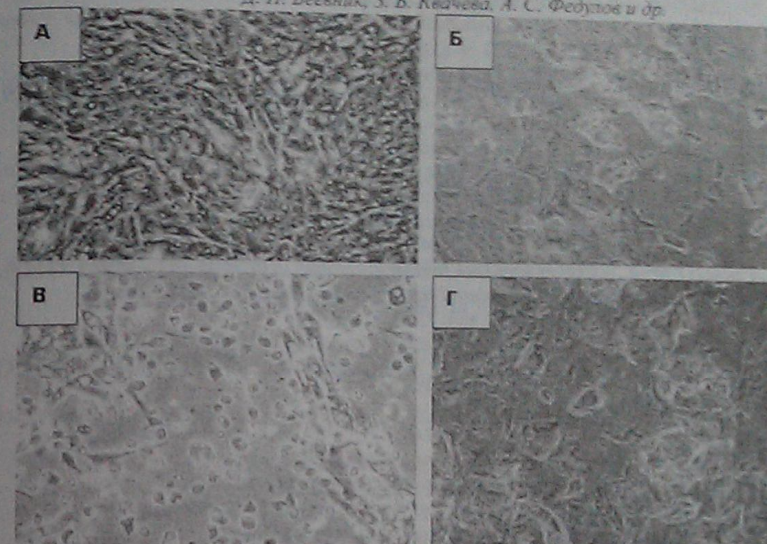


Рис.7. Фазово-контрастная микроскопия, ув. х 200. Цитотоксическое действие препаратов темозоломида и «Темодекса» в культурах глиомы человека U-251:

А – контрольная культура глиомы человека U-251, 13-е сутки роста *in vitro*; Б, Г – цитодеструкция клеток через 9(Б) и 14 (В) суток после добавления в питательную среду «Темодекса» в дозе 300 мкг/мл; В – цитодеструкция клеток в культуре U-251 на 10-е сутки после добавления препарата темозоломид в дозе 300 мкг/мл.

Наблюдаемая разная степень выраженности противоопухолевых эффектов в культурах клеток глиом и глиобластом человека и животных при инкубации с исследуемыми препаратами свидетельствует о разной чувствительности перевиваемых опухолевых клеток к препаратам ТМ и ТЗ. Наибольшие противоопухолевые эффекты выражены в культуре клеток глиомы крысы С-6, наименьшие в культуре глиомы человека U-251. Наши результаты согласуются с данными других исследователей, которые изучали на ряде линий нейроглиальных клеток препарат темозоломид фирмы «Shering-Plough» и показали в сопоставимых с используемыми нами для исследования дозах разную степень выраженности цитотоксического и антипролиферативного эффектов данного препарата в культурах [14]. Установленная разная чувствительность (резистентность) опухолевых клеток к ТЗ стимулирует поиск сочетанных с ТЗ и других факторов воздействия на опухолевые клетки: лучевая терапия, цитокины (IFN- β) и др. [16, 18, 19], в том числе и в комбинации с вновь разработанной лекарственной формой – «Темодекс».

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности проведения доклинических и клинических испытаний субстанции ТЗ и разработанной на ее основе готовой лекарственной формы ТМ (ТЗ, иммобилизованный на резорбируемый носитель – фосфат декстрана) для локальной пролонгированной химиотерапии высоко-злокачественных опухолей головного мозга [2, 10, 12, 14].

Разработка технологий получения противоопухолевого препарата ТЗ и его иммобилизованной формы на фосфате декстрана – ТМ в РБ является основой для производства отечественных противоопухолевых лекарственных препаратов для лечения пациентов с ОГМ. Подобная тактика позволит сэкономить валютные средства, выделяемые на закупку данных медикаментов, расширить доступность к проведению эффективной химиотерапии с использованием отечественных лекарственных средств.

Литература:

- [1] Балканов А. С. и др. // Вопросы нейрохирургии имени акад. И.И. Бурденко. 2005. № 3. С. 14.
- [2] Коновалов А. Н., Поталов А. А., Лошаков В. А. и др. // Вопросы нейрохирургии имени И.И. Бурденко. 2006. № 2. С. 3–11.
- [3] Коновалов А. Н., Поталов А., Лошаков В. и др. // IV съезд нейрохирургов России. М., 2006. С. 151.

- [4] Лукашевич Ю. Н., Шанько Ю. Г. // Материалы съезда неврологов и нейрохирургов Республики Беларусь. Тез. докл. 2002. С. 216–217.
- [5] Лосев Ю. А., Берснев В. П., Поляков И. В. // Нейрохирургия. 2004. С. 67–68.
- [6] Осипов И. К., Мусибаян Л. И., Нечитайло М. Н. и др. // Сибирский онкологический журнал. 2009. № 6 (36).
- [7] Сапозник И. И., Федюлов А. С., Качкова Э. Б. и др. // Мед. журн. 2007. № 3. С. 79–81.
- [8] Трещетина Е. М., Жукова О. С., Гарасимова Г. К. и др. // В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ/под общей ред. чл.-корр. РАН проф. Р.Н.Хабриева. 2 изд., перераб. и доп. М.: «Медицина», 2005. С. 637–651.
- [9] Barker F. et al. // *Cancer*. 1997. Vol.80. No. 5. P. 936–941.
- [10] Banissi C., Francois G., Chen L. // *Cancer Immunol Immunother*: 2009. Vol 58. P. 1627–1634.
- [11] Danks J. M., Plincker G. L., Jarvis B. // *Am J Cancer: Temozolomide*. 2002. Vol. 1. P. 55–80.
- [12] Mead C., Pentimith V. W. // *Arch Toxicol*. 1998. Vol. 72. P. 372–380.
- [13] Quick A., Patel D., Nattakummetos M. et al. // *Rev Recent Clin Trials*. 2010. No. 5(1). P. 14–27.
- [14] Raymond Eric, Ichhika Elzhena, Soda Hiroshi et al. // *International Journal of Oncology, Clinical Cancer Research*. 1997. Vol. 3. P. 1769–1774.
- [15] Richard J. Cenderoff, Paul A. Veber, D. Ronald. Smith, et al. // *Investigative Ophthalmology&Visual Science*. 1990. Vol. 31, No. 12.
- [16] Johannes R., Heilmann J. // *Int. J. Radiation Oncology Biol/ Phys.*: 2000. Vol. 47, No. 3. P.779–784.
- [17] Stevens M. F., Hickman J. A., Stone R. et al. // *J. Med. Chem*. 1984. Vol. 27. P. 196–201.
- [18] Stupp R., Hegi M. E., Mason W. P. et al. // *Lancet Oncol*. 2009. Vol. 10, No. 5. P. 459–66.
- [19] Ahsan Y., Akiyoshi A., Kazumari Y. // *Neurooncology*. 2009. Vol. 35. P. 139–148.
- [20] Wrensch M. K., Minn Y., Bondy M. L. // *Neurooncology. The Essentials*. New York, 2000. P. 2–17.
- [21] Westphal M., Hilt D. C., Bortey E. // *Neurooncology*. 2003. Vol. 5. P. 79–88.

Поступила в редакцию: 03. 05 2012 г.

D. P. VEEVNIK¹, Z. B. KVACHEVA², A. S. FEDULOV³, S. A. BELIAEV⁴, T. L. YURKSHVICH⁴,
N. G. ANTONEVICH², P. M. BYCHKOVSKIY⁵, A. A. BOROVSKIY²

COMPARATIVE STUDIES OF ANTITUMOR ACTIVITY OF THE PREPARATION "TEMODEX" IN DIFFERENT HUMAN AND ANIMAL GLIOMA CELL LINES

¹ Civil Hospital ambulance, Minsk, Belarus

² National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

³ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

⁴ Belarusian State University, Minsk, Belarus

⁵ Institute of Physiology, Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Summary

The paper presents the results of a study of cytostatic and cytotoxic action of a new anticancer preparation "Temodex" and the substance of temozolomide in malignant glial cell cultures of different malignancy degrees. The rat glioma C6, human glioblastoma A-172, and human glioma U-251MG cell cultures were used in the study. It is found that both preparations cause antitumor effect in cultures of varying malignancy degrees. It is established that the preparation "Temodex" in all cultures have a more prolonged cytotoxicity, which occurs at 2-7 days longer, reaching the same effect as temozolomide.

Keywords: brain tumor, temozolomide, human and animal glioma cell lines, cytotoxicity.

УДК 612.751.1:616.71-008.9:616-006.6-08-06-053.2

О. В. КАРАСЬ, Н. Е. КОНОПЛЯ

МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТЬ И МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Проведена оценка состояния минеральной плотности и метаболизма костной ткани у пациентов после комплексного лечения медуллобластомы и острого миелоидного лейкоза. Установлено, что проводимая терапия оказала ряд побочных эффектов на активность костного формирования и процесс резорбции в период максимальной активности костного обмена. В результате, низкие темпы накопления костной массы у пациентов привели к снижению минеральной плотности костной ткани.

Ключевые слова: минеральная плотность костной ткани, костный метаболизм, пубертат, медуллобластома, острый миелоидный лейкоз.

Введение. Достижения в лечении многих злокачественных новообразований (ЗН) у детей позволили значительно повысить выживаемость пациентов. На сегодняшний день эффективность излечения от злокачественного заболевания детей в возрасте до 14 лет достаточно высока и составляет 80–85% [1]. По данным белорусского детского канцер регистра, за 10-летний период (2001–2010 гг.) общая выживаемость детей до 18 лет, получивших лечение ЗН, составила 74%. С другой стороны, как само заболевание, так и проводимое противоопухолевое лечение приводят к развитию различных побочных последствий, которые могут возникать спустя месяцы, а иногда и годы после завершения основных этапов лечения. Кроме того, некоторые побочные эффекты противоопухолевой терапии возможно выявить только в определенный период развития ребенка (например, период активного роста или полового созревания) [2]. Одним из таких осложнений является нарушение процессов костного метаболизма (КМ). Известно, что у здоровых детей 5–16 лет, характеризующихся различными темпами роста, отмечается высокая степень сбалансированности остеосинтеза и резорбции с относительным преобладанием процессов формирования кости [3]. Этим обуславливается накопление пиковой костной массы (ПКМ), достигающей к концу периода полового созревания 80–90 % от генетически детерминированного уровня [4–6]. Подавление темпов костеобразования в результате противоопухолевого лечения препятствует адекватному накоплению ПКМ, обуславливая снижение минеральной плотности костной ткани (МПКТ), что, в свою очередь, предрасполагает к преждевременному возникновению серьезных осложнений, связанных с остеопорозом. Нарушения КМ и МПКТ носят мультифакториальный характер. Противоопухолевое лечение оказывает как прямое влияние на костную ткань, так и косвенное посредством возникающего гипогонадизма и соматотропной недостаточности [7]. Кроме того, низкая физическая активность и недостаточное энергетическое питание во время лечения также являются факторами риска низкой костной массы [8].

Целью данного исследования была оценка состояния минеральной плотности и метаболизма костной ткани после комплексного лечения ЗН в детском возрасте и выявление факторов риска низкой костной массы.

Объекты и методы исследования. Исследование МПКТ поясничного отдела позвоночника (L₂-L₄) выполнено у 47/52 пациентов с медуллобластомой (МБЛ) (четыре отказались от ее проведения, 1 пациентка получала заместительную терапию женскими половыми гормонами, и у 45/47 пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) (двое отказались от проведения исследования). Оценка состояния