

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФИТОСБОРА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Т.Г. Разина¹, Е.П. Зуева¹, С.В. Корепанов², С.Г. Крылова¹, Е.Н. Амосова¹, К.А. Лопатина¹

¹ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (г. Томск),

²Алтайский краевой фитоцентр «Алфит» (г. Барнаул)

РЕЗЮМЕ

На мышах с карциномой легких Льюис обнаружена ингибция роста опухоли фитосбором (ромашка, подорожник, тысячелистник, солодка, толокнянка, зверобой) и экстрактом элеутерококка, показана возможность повышения эффективности цитостатической терапии; отмечено уменьшение выраженности лейкопении, вызванной циклофосфаном.

Ключевые слова: перевиваемые опухоли, циклофосфан, фитосбор.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно в мире регистрируется около 500 тысяч пациенток с диагнозом рак шейки матки (Р1ПМ), из них в России – более 12 тысяч. Эта патология занимает 7 место в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований.

Сочетанно-лучевая терапия по-прежнему является одним из основных методов лечения РШМ. Результаты лечения, благодаря сравнительно медленному метастазированию и высокой радиочувствительности клеток опухоли, выглядят лучше таковых других локализаций. Так, пятилетняя выживаемость при I стадии заболевания приближается к 100 %, при II составляет 85 % и при III стадии – 68–72 % [1]. Однако сопутствующие лучевые повреждения у ряда больных приводят к снижению качества жизни, порой к инвалидизации и даже смерти [12, 18, 19, 20, 21].

Применение современных антибластомных средств, являющихся мощным стрессорным фактором, еще более усугубляет уже существующее истощение системы резистентности организма, вследствие чего активируется процесс метастазирования [2, 3]. Кроме того, как лучевая, так и химиотерапия относятся к воздействиям, нарушающим баланс иммунитета, вызывающим токсическую аплазию кроветворения [4]. Присоединяются новые и усугубляются имеющиеся сопутствующие заболевания.

Поэтому актуальным является поиск препаратов, снижающих токсические проявления специфического лечения опухолей. При этом необходимым является отсутствие

стимулирующего влияния таких средств на развитие опухолевого процесса.

Алтайским краевым фитоцентром «Алфит» для профилактики и лечения лучевых ректитов, циститов, вагинитов предложен сбор из фармакопейных растений: ромашки, подорожника, зверобоя, тысячелистника, солодки и толокнянки, взятых в равных соотношениях, измельченных и сбрикетированных. Дополнительно, в качестве мягкого иммуномодулятора в сочетании с фитосбором рекомендован аптечный экстракт элеутерококка.

Поскольку данный комплекс предполагается назначать до лечения, в процессе лечения и 3 месяца в качестве реабилитации после облучения, мы посчитали целесообразным проверить его действие на экспериментальных животных (мышах). Прежде всего, чтобы проверить его влияние на рост и развитие опухоли. Во врачебной среде, в том числе и среди онкологов, встречается мнение о возможном стимулирующем влиянии фитотерапии, в частности адаптогенов, на опухолевый процесс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 83 мышах-самках линии С57В1/6 с карциномой легких Льюис (3LL) и меланомой В-16 (В-16) массой 20 г в возрасте 3 мес., содержащихся на обычном режиме вивария. Перевивку опухолей проводили согласно общепринятым методикам [5].

Лечение фитосбором (ромашка, подорожник, зверобой, тысячелистник, солодка, толокнянка) (ООО «Фармзавод «Гален», г. Барнаул) начинали с 7 сут. после трансплантации 3LL и В-16, продолжая в течение 12 сут.

Фитосбор вводили мышам зондом в желудок, в дистиллированной воде в дозе 100 мг/кг. Для проведения цитостатической терапии использовали циклофосфан (ЦФ), выпускаемый промышленностью (ОАО «Биохимик», г. Саранск) в виде стерильного порошка, помещенного в герметически укупоренные флаконы по 0,2 г. Цитостатик вводили однократно внутримышечно в дозе 125 мг/кг мышам с 3LL и В-16 – на 13–12 сут. после трансплантации опухолей. Контрольные животные получали эквивалентные количества растворителя в дни введения препаратов.

В конце экспериментов мышей умерщвляли, соблюдая «Правила работы с лабораторными животными». Определяли объем и массу первичной опухоли, массу легких с метастазами, подсчитывали количество и площадь метастазов в легких, вычисляли торможение роста опухоли (ТРО, %), частоту метастазирования, индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %) [5, 6]. Кроме того, на 3 сут. после введения ЦФ проводили подсчет количества лейкоцитов в периферической крови мышей. Результаты обрабатывали с применением непараметрических критериев Вилкоксона-Манна-Уитни и точного метода Фишера [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Назначение ЦФ для лечения мышей с 3LL в используемом режиме не повлияло на рост первичного опухолевого узла: его масса оказалась на уровне контрольного значения. Под влиянием цитостатика наблюдалась ингиби-

ция процесса диссеминации опухоли: количество метастазов уменьшилось в 7,2 раза, а их площадь – в 14,7 раза по сравнению с контрольными данными ($P < 0,01$), индекс ингибирования метастазирования составил 88 %, масса легких с метастатическими узлами снизилась в 1,6 раза (табл. 1).

Изолированное применение фитосбора в сочетании с экстрактом элеутерококка привело к уменьшению массы 3LL по сравнению с контролем (в 1,2 раза, $P < 0,05$). При этом проявилась тенденция к уменьшению таких показателей процесса диссеминации как количество (в 1,9 раза) и площадь (в 2,5 раза) метастазов в легких, индекс ингибирования метастазирования в этой группе мышей составил 46 %, масса легких снизилась в 1,3 раза (табл. 1)

На фоне отсутствия влияния цитостатика на первичную опухоль и частоту метастазирования при использовании фитосбора и экстракта элеутерококка в сочетании с ЦФ масса 3LL оказалась достоверно меньше контрольного значения, а количество мышей с метастатическим поражением достоверно снизилось относительно контроля и составило 78 % (табл. 1). У мышей, получавших комбинированную терапию, в 1,7 раза уменьшилось количество и в 8 раз – площадь метастазов в легких по сравнению с этими данными у леченных только ЦФ мышей, однако эти изменения носили характер тенденции. Следует отметить, что у животных, получавших сочетанное лечение, масса легких с метастазами была меньше и с высоким уровнем значимости ($P < 0,01$)

Таблица 1

Влияние фитосбора (ромашка, подорожник, тысячелистник, солодка, толокнянка, зверобой) и экстракта элеутерококка на развитие 3LL у мышей-самок линии C57BL/6 и эффективность лечения ЦФ

Группа наблюдения, доза препарата (количество мышей)	Масса опухоли ($X \pm m$), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышшь ($X \pm m$)	Площадь метастазов на 1 мышшь ($X \pm m$), мм ²	Масса легких ($X \pm m$), мг	ИИМ, %
1. Контроль (8)	5,58 $\pm$ 0,36	–	100	46,88 $\pm$ 11,92	105,19 $\pm$ 40,58	331,88 $\pm$ 41,52	–
2. ЦФ 125 мг/кг х 1 (10)	5,08 $\pm$ 0,36	9	90	6,50 $\pm$ 2,36 1-2 $P < 0,01$	7,16 $\pm$ 4,20 1-2 $P < 0,01$	212,30 $\pm$ 8,14 1-2 $P < 0,01$	88
3. Фитосбор 100 мг/кг + элеутерококк 5 мл/кг х 12 (10)	4,56 $\pm$ 0,25 1-3 $P < 0,05$	18	100	25,10 $\pm$ 4,05	41,73 $\pm$ 13,57	250,60 $\pm$ 22,96	46
4. ЦФ + фито-сбор 100 мг/кг + элеутерококк 5 мл/кг х 12 (9)	4,61 $\pm$ 0,34 1-4 $P < 0,05$	17	78 1-4 $P < 0,005$	3,78 $\pm$ 0,97 1-4 $P < 0,01$	0,90 $\pm$ 0,32 1-4 $P < 0,01$	184,78 $\pm$ 4,41 2-4 $P < 0,01$	94

Примечание: в этой таблице и далее перед уровнем значимости P указаны номера сравниваемых групп.

отличалась от этого показателя у мышей, получавших только ЦФ. Интегральный показатель развития процесса диссеминации – индекс ингибирования метастазирования – в этой группе животных оказался наивысшим и составил 94 % (табл.1).

Под влиянием цитостатика количество лейкоцитов в периферической крови животных уменьшилось в 9,5 раза по сравнению с контролем ($P < 0,01$). При изолированном назначении фитосбора и экстракта элеутерококка мышам с 3LL обнаружено уменьшение выраженности лейкоцитоза, имеющего место при развитии опухоли: количество клеток белой крови снизилось в 1,3 раза ($P < 0,01$) и приблизилось к норме. Особо следует отметить, что совместное назначение фитосбора и экстракта элеутерококка с ЦФ привело к существенному повышению (в 2,5 раза, $P < 0,01$) числа лейкоцитов в периферической крови по сравнению с их количеством у леченных одним цитостатиком животных (табл. 2).

В эксперименте на мышах-самках линии C57BL/6 применение ЦФ привело к достоверному торможению роста меланомы В-16: масса первичной опухоли оказалась в 1,4 раза меньше контрольного уровня. Однако цитостатик не оказал достоверного ингибирующего влияния на процесс диссеминации опухоли (табл. 3).

Использование фитосбора и экстракта элеутерококка в сочетании с ЦФ значимо не изменяло эффективности противоопухолевой терапии. В то же время, наблюдалась тенденция к уменьшению массы первичного опухолевого узла, количества метастатических узлов в легких (в 1,4 раза) и площади метастатического

Таблица 2

Содержание лейкоцитов в периферической крови мышей-самок линии C57BL/6 с 3LL после терапии ЦФ, фитосбором (ромашка, подорожник, тысячелистник, солодка, толокнянка, зверобой) и экстрактом элеутерококка

Группа наблюдения (количество животных)	Количество лейкоцитов на 3 сут после введения ЦФ ($X \pm m$), Г/л
1. Контроль (6)	18,00 $\pm$ 0,66
2. ЦФ (6)	1,90 $\pm$ 0,09 1-2 $P < 0,01$
3. Фитосбор + экстракт элеутерококка (6)	13,43 $\pm$ 0,42 1-2 $P < 0,01$
4. ЦФ + фитосбор + экстракт элеутерококка (6)	4,77 $\pm$ 0,45 2-4 $P < 0,01$

поражения (в 2,1 раза) по сравнению с этими показателями у мышей, леченных цитостатиком (табл. 3). Если после введения циклофосфана индекс ингибирования метастазирования составлял 6 %, то комбинированное использование цитостатика и препаратов растительного происхождения повышало его до 32 % (табл. 3).

При изолированном введении мышам фитосбора и экстракта элеутерококка тенденция к уменьшению таких показателей процесса диссеминации, как количество (в 1,4 раза) и площадь (в 2,1 раза) метастазов в легких по сравнению с соответствующим контролем оказалась более выраженной, чем в группе животных, леченных одним цитостатиком, при этом индекс ингибирования метастазирования в этой группе оказался наивысшим и составил 54 % (табл. 3).

Таблица 3

Влияние фитосбора (ромашка, подорожник, тысячелистник, солодка, толокнянка, зверобой) и экстракта элеутерококка на развитие меланомы В-16 у мышей-самок линии C57BL/6 и эффективность лечения ЦФ

Группа наблюдения, доза препарата (количество животных)	Масса опухоли ($X \pm m$), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь ($X \pm m$)	Площадь метастазов на 1 мышь ($X \pm m$), мм ²	Масса легких ($X \pm m$), мг	ИИМ, %
1. Контроль (11)	5,33 $\pm$ 0,21	-	45	3,45 $\pm$ 2,13	0,68 $\pm$ 0,53	160,09 $\pm$ 0,17	-
2. ЦФ 125 мг/кг х 1 (14)	3,78 $\pm$ 0,17 1-2 $P < 0,01$	29	64	2,29 $\pm$ 0,74	0,25 $\pm$ 0,11	190,14 $\pm$ 5,64	6
3. Фитосбор 100 мг/кг + экстракт элеутерококка 5 мл/кг х 12 (10)	5,70 $\pm$ 0,23	+7	40	1,80 $\pm$ 0,18	0,24 $\pm$ 0,13	158,80 $\pm$ 5,73	54
4. ЦФ + фитосбор 100 мг/кг + экстракт элеутерококка 5 мл/кг х 12 (11)	3,57 $\pm$ 0,16 1-4 $P < 0,01$	33	64	1,64 $\pm$ 0,56	0,12 $\pm$ 0,04	212,00 $\pm$ 7,52 1-4 $P < 0,01$	32

Таким образом, назначение мышам с 3LL фитосбора (ромашка, подорожник, тысячелистник, солодка, толокнянка, зверобой) и экстракта элеутерококка тормозит рост опухоли, что приводит к закономерному снижению выраженности лейкоцитоза; при этом выявлена тенденция к ингибции процесса метастазирования. Совместное использование фитосбора и экстракта элеутерококка с ЦФ, не оказавшим влияния на первичную опухоль, приводит к уменьшению ее массы. Применение этой схемы лечения снижает частоту метастазирования 3LL, что не отмечено у мышей, получавших только цитостатик; достоверно снижается масса легких с метастатическими узлами, обнаружена также тенденция к уменьшению таких показателей процесса диссеминации, как количество и площадь метастазов. Существенным является способность изучаемых растительных средств снижать выраженность лейкопении, возникающей после введения животным ЦФ. При использовании фитосбора и экстракта элеутерококка для лечения мышей-самок линии C57BL/6 с меланомой B-16 выявлена тенденция к ингибции роста опухоли и метастазов как при изолированном применении, так и в сочетании с ЦФ.

Механизм действия изучаемого растительного сбора определяется входящими в его состав лекарственными растениями. Так, в эксперименте выявлено, что сок подорожника, обладая умеренной противоопухолевой активностью, оказывает более существенное ингибирующее влияние на процесс метастазирования опухолей, повышает эффективность химиотерапии, что согласуется с данными литературы о его использовании народной медициной для лечения рака легких и желудка [11, 16]. Установлено уменьшение гемато- и иммунодепрессивного влияния химиотерапии препаратом подорожника [15]. Показано, что способность этого растения снижать токсическое действие цитостатиков распространяется и на другие активно пролиферирующие ткани организма – обнаружено его защитное влияние на слизистую оболочку тонкой кишки мышей с аденокарциномой Эрлиха, поврежденную введением 5-фторурацила и рубомицина. Препарат подорожника, стимулируя процессы пролиферации, нормализует дифференцировку и миграцию эпителиальных клеток, вызывая ускоренное восстановление стационарного состояния эпителия кишечника [13].

В экспериментах на животных выявлена ингибция развития опухоли и повышение эффективности цитостатического лечения препаратом солодки [23]. Известно, что экстракт потенцирует противоопухолевое и антиметастатическое действие радиотерапии: введение его животным после облучения опухолевого узла усиливает регрессию опухоли и снижает среднюю скорость роста в период рецидивирования, а радиозащитный эффект экстракта обусловлен его стимулирующим влиянием на процессы пролиферации гемопоэтических клеток [14]. Обнаружено ускорение метаболизма стволовых клеток красного ростка костного мозга и повышение резистентности организма животных к стрессорному воздействию под влиянием экстракта корня солодки [9], показана его антиоксидантная активность: на фоне терапии ЦФ мышей с P-388 этот препарат снижает показатели перекисного окисления липидов [22]. Существуют данные о том, что иммуномодулирующее действие экстракта солодки может быть использовано для коррекции вторичных иммунодефицитов, вызванных противоопухолевыми препаратами [24]. Гемостимулирующие свойства солодки обусловлены находящимся в корнях глицирамом, содержащим в структуре молекулы два остатка D-глюкуроновой кислоты: показано его активирующее влияние на функцию адгезирующих элементов гемопоэз-индуцирующего микроокружения [17]. В эксперименте выявлено, что тысячелистник повышает эффективность химиотерапии. Сочетанное применение ромашки, зверобоя и тысячелистника усиливает противовоспалительное, спазмолитическое, ранозаживляющее действие каждого растения [25], что также вносит вклад в способность фитосбора снижать токсическое действие специфического лечения опухолей.

В связи с тем, что в экспериментах не выявлено стимулирующего действия изучаемых растительных средств на развитие опухолей, а в опыте на мышах с 3LL, напротив, обнаружена способность ингибировать ее рост и повышать эффективность химиотерапии, представляется возможным использование изучаемых растительных средств в комплексной терапии злокачественных новообразований.

ВЫВОДЫ

1. В эксперименте на мышах обнаружена способность фитосбора, вводимого совместно с

экстрактом элеутерококка, ингибировать рост карциномы легких Льюис.

2. На животных с карциномой легких Льюис выявлено повышение эффективности лечения циклофосфаном фитосбором и экстрактом элеутерококка.

3. Фитосбор и экстракт элеутерококка снижали выраженность лейкопении периферической крови мышей с карциномой легких Льюис.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В. И., Дарьялова С.Л. Избранные лекции по клинической онкологии. – М., 2000. – 735 с.
2. Балицкий К.П., Шмалько Ю.П. Стресс и метастазирование злокачественных опухолей. – Л., 1987. – 248 с.
3. Kato C, Kitajima S, Saga Y. et al. Assessment of quantitative dualparameter flow cytometric analysis for the evaluation of testicular toxicity using cyclophosphamide- and ethinylestradiol-treated rats // J. Toxicol Sci. – 2002. – Vol. 21. – № 2. – P.87–96.
4. Птушкин В.В. Совершенствование методов поддерживающей терапии при проведении цитостатического лечения // Современная онкология. – 2002. – Т.4. – № 2. – С. 28–30.
5. Софьина З.П., Сыркин А.Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. – М.: Медицина, 1980. – 296 с.
6. Архипов С.А., Юнкер В.М. Изменение интенсивности метастазирования в легкие перевиваемых опухолей мышей в зависимости от величины перевивочной дозы опухолевых клеток // Исследование по индукции и метастазированию опухолей у экспериментальных животных. – Новосибирск, 1984. – С. 14–32.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
8. Адамян Ц.И., Геворкян Э.С., Миносян СМ. и др. Влияние корня солодки голой на показатели периферической крови в динамике вибрационного воздействия // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 2005. – Т. 140. – № 8. – С.164–168.
9. Архипов С.А., Юнкер В.М. Изменение интенсивности метастазирования в легкие перевиваемых опухолей мышей в зависимости от величины перевивочной дозы опухолевых клеток // Исследование по индукции и метастазированию опухолей у экспериментальных животных. – Новосибирск, 1984. – С.14–32.
10. Балицкий К.П., Воронцова А.Л. Лекарственные растения и рак. – Киев, 1982. – 376 с.
11. Бардычи М.С., Цыб А.Ф. Местные лучевые повреждения. – Москва, – Медицина, 1985. – С. 203–214.
12. Боровская Т.Г., Фомина Т.И., Яременко К.В. Снижение токсического действия рубомицина на тонкую кишку мышей с перевиваемой опухолью с помощью экстракта родиолы // Антибиотики и химиотерапия. – 1988. – № 8. – С. 615–616.
13. Буторин И.Ю. Радиомодифицирующая активность экстракта корня солодки при радиотерапии экспериментальных злокачественных опухолей: Дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 2001. – 145 с.
14. Гольдберг Е.Д., Зуева Е.П. Препараты из лекарственных растений в комплексной терапии злокачественных новообразований. – Томск: Изд-во ТГУ, 2000. – 129 с.
15. Горяев М.И., Шарипова Ф.С. Растения, обладающие противоопухолевой активностью. – Алма-Ата, 1983. – 174 с.
16. Жданов В.В., Любавина П.А., Кириенкова Е.В., Дыгай А.М., Гольдберг Е.Д. О механизмах гемостимулирующего эффекта глицирама // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 1997. – Т.123. – № 5. – С.555–559.
17. Канн Д.В., Пронин В.И. Урологические осложнения при лечении онкозаболеваний органов таза. – М: Медицина, 1988. – С.111–140.
18. Киселева Е.С., Голдобенко Г.В., Канаев С.В. Руководство. Лучевая терапия злокачественных опухолей. – М: Медицина, 1996. – С. 439.
19. Марына Л.Л., Чехонадский В.Н., Нечушкин М.И., Киселева М.В. Рак шейки и тела матки (лучевая терапия). – Москва, –Издательский центр «Вентани-Граф», – 2004. – С. 240–241.
20. Павлов А.С, Костромина В.Н. Рак шейки матки (лучевая терапия). – М: Медицина, 1983. – С. 154.
21. Павлова СИ., Сергеев А.В., Утешев Б.С Антиоксидантные свойства экстракта корня солодки на фоне лечения цитостатиками экспериментальных опухолей // Российский биотерапевтический журнал. – 2004. – № 2. – С.29.
22. Разина Т.Г., Зуева Е.П., Амосова Е.Н. Роль биологически активных веществ лекарственных растений в повышении эффективности цитостатической терапии перевиваемых опухолей // Бюлл. эксперим. биол. и медицины, 2005. – Прил. 1. – С. 35–41.
23. Сергеев А.В., Кабацкая Г.И., Карасева Л.И. и др. Иммунофармакология препаратов «Каскарутол» и «Солодка» // Российский биотерапевтический журнал, 2004. – № 2. – С. 9.
24. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология (руководство для врачей). – М., 2000. – 970 с.
25. Яременко К.В. Природные средства против рака. – СПб, 2001. – 160 с.

Адрес автора

К.м.н. Корепанов С.В.
Алтайский краевой фитоцентр «Алфит»
656011, Барнаул, ул. Матросова, 13