

На правах рукописи

Абдулова Нуринисо Хамдуллоевна

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ПЕЧЕНОЧНОЙ И КОЖНОЙ
ТОКСИЧНОСТИ НА ФОНЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ
КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

14.01.12 - Онкология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт- Петербург – 2011

Работа выполнена на кафедре онкологии ГОУ ДПО « Санкт- Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор **Владимир Михайлович Моисеенко**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор **Михаил Айзерович Гершанович**

Доктор медицинских наук, профессор **Эскендер Гафурович Топузов**

Ведущее научное учреждение:

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита диссертации состоится «22 » ноября 2011г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.052.01 при ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздравсоцразвития России по адресу:197758, Санкт-Петербург, Песочный-2,ул. Ленинградская, д.68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздравсоцразвития России (197758, Санкт-Петербург, Песочный-2,ул. Ленинградская, д.68) и на сайте <http://www.niioncologii.ru> с 18 октября 2011 г.

Автореферат разослан «18 » октября 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Е.В. Бахидзе

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Системное лечение больных диссеминированными солидными опухолями является одним из приоритетных направлений онкологии. Общеизвестным считается, что паллиативное лекарственное лечение, уменьшая выраженность патологической симптоматики, обеспечивает отчетливое улучшение качества жизни и социальную реабилитацию неизлечимых пациентов.

К сожалению, это сопровождается широким спектром побочных реакций. Многие побочные эффекты существенно ухудшают качество жизни пациентов и имеют дозолимитирующий характер. В ряде случаев это требует модификации доз цитостатиков, изменения режима их введения и даже обсуждение целесообразности продолжения противоопухолевой терапии. Вместе с тем по данным V. De Vita (1993), редуцирование дозы на 20% сопровождается снижением частоты лечебных эффектов на 50%.

Учитывая тот факт, что все противоопухолевые препараты обладают токсичностью той или иной степени, чрезвычайно важной является проблема поддерживающего лечения онкологических больных, получающих цитостатическую терапию, за счет профилактики, своевременного распознавания и коррекции осложнений (Тюляндин С.А., 2001).

Печень участвует в метаболизме и выведении многих противоопухолевых средств, поэтому токсическое поражение печени может привести к нарушению клиренса и повышению внепеченочной токсичности (Богущ Т.А., 1985; Куценко С.А., 2002). Важным специфическим антидотом при дозозависимой гепатотоксичности является N-ацетилцистеин (и другие донаторы сульфгидрильной группы), который эффективен при купировании передозировки ацетоминофена (Гонский Я.И и соавт., 1995). В других случаях гепатотоксичности лечение откладывают или прекращают с назначением симптоматической терапии. Одним из способов снижения токсического воздействия цитостатиков на печень является использование лекарственных

средств с узконаправленным защитным действием на печеночные клетки - гепатопротекторов (Удинцев С.Н и соавт., 1992; Оковитый С.В., 2003). Среди многочисленной группы гепатопротекторов можно выделить относительно недавно появившийся на Российском фармацевтическом рынке препарат метроп ГП (РН₂ЛС-002655 от 29.12.2006). Препарат представляет собой 0,45% нативный раствор меда в воде, приготовленный по запатентованной технологии. Он обладает мембраностабилизирующим и антиоксидантным действием. Основным показанием для его применения является жировая дистрофия печени различной этиологии, хронический гепатит и токсическое поражение печени (Демиденко Т.П и др.,2011). Возможности использование этого препарата у онкологических больных не изучены.

Большинство достижений терапии солидных опухолей последних двух десятилетий связано с появлением таргетных агентов - препаратов, имеющих конкретную мишень в опухолевой клетке. Тем не менее, все известные на сегодняшний день мишени в той или иной степени представлены на нормальных клетках организма хозяина и следовательно, могут повреждаться в процессе лечения. Наиболее частым специфическим осложнением характерным для таргетных препаратов из класса ингибиторов рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) является кожная сыпь, проявляющаяся преимущественно на лице, шее, верхней части туловища. Вплоть до настоящего момента, этиология сыпи остается до конца неизученной. Показано, что EGFR высоко экспрессирован на нормальных клетках эпидермиса и фолликулярных кератиноцитах, а также эпителии сальных и потовых желез, антиген – презентующих дендритных клетках и различных клетках соединительной ткани. EGFR играет важную роль в физиологии клеток эпидермиса и верхних слоев волосяного фолликула, а его ингибирование приводит к подавлению роста и преждевременному созреванию базальных кератиноцитов, лейкоцитарной инфильтрации, апоптозу и гибели клеток и сопровождается уменьшением толщины эпидермиса (Amado RG. et

al., 2008). Стандартные методы профилактики и лечения кожной токсичности у больных, получающих терапию анти – EGFR препаратов, отсутствуют.

Все вышеизложенное подтверждает чрезвычайную актуальность проблемы печеночной и кожной токсичности при проведении лекарственной терапии у больных солидными опухолями и является безусловным основанием для проведения специальных исследований в этой области.

Цель исследования

Целью планируемого исследования является улучшение переносимости современной лекарственной терапии (путем снижения печеночной и кожной токсичности) у больных различными солидными опухолями.

Задачи исследования

1. Оценить активность препарата метропа ГП на острую токсичность и гепатотоксичность цитостатиков доксорубицина, паклитаксела и оценить его влияние на противоопухолевую активность химиотерапии в эксперименте.
2. Изучить эффективность метропа ГП для профилактики и лечения печеночной токсичности у больных различными солидными опухолями на фоне противоопухолевой терапии.
3. Оценить частоту и степень кожной токсичности при терапии ингибиторами EGFR (цетуксимаб, gefitinib и другие).
4. Провести сравнительную оценку эффективности местного применения крема с витамином К1 по сравнению со стандартной терапией (антибиотики тетрациклинового ряда и глюкокортикоиды) при кожной токсичности, связанной с использованием ингибиторов EGFR.
5. Провести оценку возможности профилактики кожной токсичности на фоне терапии ингибиторами EGFR.

Научная новизна полученных результатов

В настоящей работе впервые, на модели острого экспериментального токсического гепатита у крыс, вызванного цитостатиками, изучены гепатопротекторные свойства метропа ГП с помощью гематологических, биохимических, функциональных и гистологических методов исследования. Также впервые изучена потенциальная возможность использования метропа ГП в клинике для профилактики и лечения гепатотоксичности на фоне цитостатической терапии у больных различными солидными опухолями.

Впервые выполнена сравнительная оценка эффективности местного применения крема с витамином К1 по сравнению со стандартной терапией (антибиотики тетрациклинового ряда и глюкокортикоиды) при лечении кожной токсичности, обусловленной использованием ингибиторов EGFR.

Впервые показана эффективность профилактической терапии для снижения частоты кожной токсичности, вызванной ингибиторами EGFR.

Практическая значимость работы

Применение препарата метроп ГП позволяет улучшить переносимость системного лекарственного лечения больными различными солидными опухолями путем снижения печеночной токсичности.

Использованная нами схема лечения кожной токсичности, связанной с применением ингибиторами EGFR, может быть использована для лечения и профилактики этого осложнения у больных различными солидными опухолями.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Метроп ГП у больных, различными солидными опухолями, получающими противоопухолевую химиотерапию, обладает большим гепатопротекторным эффектом по сравнению с адеметионином ($p = 0,00005$).

2. Использование крема с высоким содержанием витамина К1 не имеет преимуществ перед стандартной терапией и требует большего времени ($p > 0,05$) для элиминации кожной сыпи.

Апробация работы

Результаты работы были доложены в 2010 году на объединенной научной конференции отделения биотерапии и трансплантации костного мозга, отделения детской онкологии, общей онкологии и гематологии, химиотерапевтического и торакального отделений ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздравсоцразвития России совместно с кафедрой онкологии Медицинской академии последипломного образования (СПб МАПО).

Основные результаты работы докладывались на заседании №476 Научного общества онкологов Санкт-Петербурга и Ленинградской области (Санкт-Петербург, 2010), конгрессе молодых ученых «Экспериментальная и клиническая онкология» (Киев, 2010), VI съезде онкологов и радиологов стран СНГ (Душанбе, 2010).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 107 страницах машинописного текста на русском языке и состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Библиографический указатель включает 53 отечественных и 67 иностранных источников и две ссылки на электронные ресурсы. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 15 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

В соответствии с задачами исследования работа была разделена на 2 части: экспериментальная и клиническая.

Экспериментальная часть: Состоит из 2 серий экспериментов, включающих изучение активности препарата метропа ГП при острой токсичности и гепатотоксичности на фоне введения противоопухолевых препаратов паклитаксела, доксорубицина у крыс, и его влияния на противоопухолевую активность доксорубицина у мышей с солидной опухолью Эрлиха.

Первая серия экспериментов осуществлялась на базе ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА РФ и включала 2 опыта.

В первом опыте проводилось моделирование острой токсичности путем однократного внутривенного введения 144 белым нелинейным крысам с массой 160-180г паклитаксела и доксорубицина в полулетальной дозе (LD_{50}), рассчитанной методом графического пробит – анализа (Finney D., 1978). В группах основного контроля животным через 5 минут после введения цитостатиков вводили препарат метроп ГП в дозе 0,5 мл /кг, ежедневно. Контрольные животные получали эквивалентное количество растворителя 0,9% раствора натрия хлорида. Длительность наблюдения составила 2 недели. При этом проводили регистрацию летальности животных.

Во втором опыте изучали гепатопротекторную активность препарата метроп ГП на фоне терапии цитостатиками.

Моделирование токсической гепатопатии (ТГП) вызывали путем введения 120 белым нелинейным крысам с массой 160 -180г в возрасте 13-14 недель цитостатиков паклитаксела и доксорубицина. Для удобства использовалась схема введения, при которой цитостатики вводились 5 раз в неделю внутривенно в боковую вену хвоста крыс. Соответственно за 2 недели суммарная доза паклитаксела оказалась равной 10 мг/кг, а доксорубицина 7,5 мг/кг. Одновременно с цитостатиками (через час после введения) применялся препарат метроп ГП в дозе 0,5 мл/кг ежедневно в течение 10 дней. Материал для оценки гепатопротекторного действия метропа ГП забирали на 10 сутки.

Вторая серия экспериментов включала 1 опыт и осуществлялась на базе лаборатории экспериментальной фармакологии ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздравсоцразвития России. В этом опыте мы изучали влияния препарата метропа ГП на противоопухолевую активность доксорубицина на мышах с солидной опухолью Эрлиха. Исследование было проведено в весенний период. Для изучения свойств солидной модели 73 мышам линии SHR была перевита в/м в наружный отдел бедра опухоль Эрлиха введением 5×10^6 клеток. После этого животные были рандомизированы на 6

групп. В работе исследовались различные параметры, характеризующие: а) кинетические особенности новообразований, б) эффективность используемых препаратов, в) токсичность различных режимов препаратов. К ним относятся: динамика объема опухоли, индекс роста опухоли (ИРО), торможение роста опухоли (ТРО), продолжительность жизни, динамика гибели и массы тела животных.

Клиническая часть: Нами проведено клиническое исследование II фазы оценка эффективности метропа ГП для профилактики и лечения печеночной токсичности у больных различными солидными опухолями на фоне противоопухолевой терапии.

В исследовании были включены данные о 52 больных, различными злокачественными опухолями с токсическим поражением печени на фоне противоопухолевой терапии, находившиеся на обследовании и лечении в ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздравсоцразвития России в период с ноября 2008 по декабрь 2010 года.

Критерии включения в исследование были следующие: мужчины и женщины в возрасте 18 лет и старше, гепатотоксичность на фоне химиотерапии, письменное информированное согласие.

Степень токсичности определялась согласно критериям оценки побочных явлений лечения NCTCAE v.3.0.

Дизайн исследования

Исследование было неконтролируемым проспективным. Критериями гепатотоксичности явилось увеличение активности АсАТ или АлАТ в сыворотке крови на фоне химиотерапии. Степень гепатотоксичности определялась по наибольшему уровню одной из трансаминаз по сравнению с верхней границей нормы у больных с наличием или отсутствием печеночных метастазов. Если активность трансаминаз превышала нормальные значения, перед началом последующего курса химиотерапии, то лечение откладывали до восстановления нормальных биохимических показателей и проводили корригирующую терапию. Выделены 2 группы больных:

— в первую группу вошли 29 больных, которые получали метроп ГП по 1,0 мл подкожно, ежедневно до нормализации активности печеночных трансаминаз.

— во вторую вошли 23 больных, которые получали адеметионин (гептрал) в дозе 1600 мг в сутки.

Эффективность гепатотропной терапии анализировали на основании времени нормализации печеночных ферментов, динамики активности трансаминаз еженедельно после начала лечения и при последующих циклах химиотерапии. В качестве суррогатного маркера оценивали ответ на лечение гепатопротекторами - снижение активности трансаминаз более чем на 30% по сравнению с исходными значениями. Для каждого больного с повышенной активностью АлАТ был высчитан коэффициент де Ритиса – отношение активности АсАТ к АлАТ. Другие печеночные маркеры нами рутинно не оценивались. Активность печеночных ферментов определяли в одной лаборатории.

Основные характеристики больных приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Клиническая характеристика больных с печеночной токсичностью, обусловленной противоопухолевой терапией

Характеристика больных	Число больных (n=52)/ (100%)	
	метроп ГП (n=29)/(55,8%)	адеметионин (n=23)/(44,2%)
Группы		
Пол:		
Мужской	8 (27, 6%)	8 (34, 8%)
Женский	21 (72, 4%)	15(65, 2%)
Возраст:		
До 50 лет	12 (41,4%)	10 (43,5%)
Старше 50 лет	17 (58,6%)	13(56,5%)
Диагноз:		
Колоректальный рак	12(41,4%)	12 (52,2%)
Саркомы костной ткани	7 (24,1%)	4 (17,4%)
Рак легкого	4 (13,8%)	2 (8,7%)
Герминогенные опухоли	3 (10,3%)	3 (13,0 %)
Рак молочной железы	1 (3,4%)	2 (8,7%)
Меланома	2 (6,9 %)	0
Наличие метастазов в печени:		
Есть	16 (55,2%)	17(73,9%)
Нет	13 (44,8%)	6 (26,1%)

Как видно из представленной таблицы, в исследовании в обеих группах принимали участие пациенты с различными злокачественными новообразованиями на разных клинических стадиях опухолевого процесса в возрасте от 18 до 78 лет (медиана возраста составила 60 лет). В нашем исследовании большую часть больных составили женщины (69,2% и 30,5% соответственно) ($p=0,5$). Распределение пациентов по полу в обеих группах было сопоставимо.

Основную массу пациентов, в которой изучали печеночную токсичность, составили больные КРР (46,2%). Большинство пациентов имели метастатическое поражение печени (55,2% и 73,9% соответственно) ($p > 0,5$).

Таким образом, обе группы были сопоставимы по важнейшим прогностическим признакам: возраст, локализации первичной опухоли, наличию метастазов в печени.

Распределение больных по степени гепатотоксичности, в обеих группах на момент включения в исследование представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение больных по степени выраженности печеночной токсичности в основной и контрольной группе

Гепатотоксичность NCI- СТСАЕ Степень	Частота (%)			
	метроп ГП		адеметионин	
	абс.,n	относ.,%	абс.,n	относ.,%
0	-	-	-	-
1	12	41,4	12	52,2
2	8	27,6	6	26,1
3	8	27,6	4	17,4
4	1	3,4	1	4,3
Всего 52	29	100	23	100

Как видно из представленной таблицы, обе группы сопоставимы по степени гепатотоксичности пред началом гепатотропной терапии. В исследуемых группах большую часть составляли пациенты с повышением уровня трансаминаз 1-й и 2-й степени. Уровень билирубина нами контролировался, но не оценивался, так как не является строгим критерием оценки и оставался незначительно повышенным (от 21 до 31 мкмоль/л) у 2

пациентов с множественными метастазами в печень. Уровень общего белка у всех пациентов был в пределах нормы (от 60 до 80 г/л).

Данные о линии терапии и применяемых схемах представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Распределение больных с признаками печеночной токсичности в зависимости от схемы и линии цитостатической терапии

Число больных в /(%)	метроп ГП (n=29)	адеметионин (n=23)
Линия проводимой терапии	20 (69,0%)	14 (60,0%)
1	9 (31,0%)	9 (40,0%)
2		
ВЕР	4 (13,8%)	2 (8,7%)
CAF	3 (10,3%)	1 (4,3%)
СуVADIC	2 (6,9%)	1 (4,3%)
FOLFIRI	5 (17,2%)	4 (17,4%)
FOLFOX 4	3(10,3%)	3(13,0%)
MTX в высоких дозах (8г/м ²)	3(10,3%)	3(13,0%)
Метронормальная терапия иринотеканом	1(3,4%)	1(4,3%)
Паклитаксел+карбоплатин	8 (27,6%)	8 (34,8%)
Всего (n=51)	29 (100,0%)	23 (100,0%)

Как видно из представленной таблицы 3, в нашем исследовании всем пациентам проводилась стандартная системная лекарственная терапия с использованием таких схем как: паклитаксел + карбоплатин, FOLFIRI, FOLFOX, ВЕР, FAC и.т.д.

Следует обратить внимание на то, что снижение дозы цитостатиков на 25% в связи с гепатотоксичностью потребовалось только трем больным, страдавшим HCV- инфекцией. Только у одного больного, получившего химиотерапию по схеме FOLFIRI, доза иринотекана изначально было редуцирована на 50% , что связано было с печеночной недостаточностью, обусловленной обширным метастатическим поражением печени, повышением уровня прямого билирубина в 3 раза выше нормы и высоким риском развития острой печеночной недостаточности.

Нами также проводилась оценка частоты кожной токсичности у больных, получавших терапию ингибиторами EGFR. В исследование были включены данные о 51 больном. Токсичность лечения оценивалась согласно

критериям СТСАЕ v.3.0 у всех больных на протяжении всего периода наблюдения.

Основные характеристики больных приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Клиническая характеристика больных, включенных в исследование оценки эффективности лечения кожной токсичности

Характеристика больных	Число больных (n=51)/ (100%)
Пол:	
Мужской	19 (37,3%)
Женский	32 (62,7%)
Возраст:	
До 50 лет	10 (19,6%)
Старше 50 лет	41 (80,4%)
Диагноз:	
Колоректальный рак	18 (35,3%)
НМРЛ	31 (60,8%)
Рак влагалища	1 (2,0%)
Рак кожи	1 (2,0%)
Количество пораженных метастазами органов:	
Нет метастазов	2 (3,9%)
Один орган	7 (13,7%)
Два органа	13 (25,5%)
Три и более	25 (56,9%)
Стадия заболевания:	
III	3 (5,9%)
IV	47 (94,1%)
Схема лечения:	
цетуксимаб	20 (39,2%)
гефитиниб	31 (60,8%)

Как видно из представленной таблицы, в исследовании принимали участие пациенты с диссеминированной формой различных солидных опухолей в возрасте от 36 до 81 года (медиана возраста составила 61 год). В исследовании преобладали женщины (62,7% и 37,3% мужчин соответственно) ($p=0,069$). Основную массу пациентов, у которых изучали кожную токсичность, составили больные с НМРЛ (60,8%) и КРР (35,3%). Больным в основном проводилась первая и вторая линии стандартной системной лекарственной терапии (52,9% и 37,3% соответственно).

Пациентам с развитием кожной токсичности 2-3 степени (n=26) проводилась корригирующая терапия. В соответствие с задачами исследования

больные были разделены на 2 группы. С лечебной целью первая группа (контрольная) получала стандартную терапию, включающую местное лечение (применение препаратов против обыкновенных или розовых угрей: бензоил пероксид (Базирон АС) 5% гель, адапален (Дифферин) 0,1% гель, лосьоны, мази с антибиотиками тетрациклинового ряда) и системное лечение: глюкокортикоиды, пероральные антибиотики и при необходимости антигистаминовые препараты. Во второй группе (основная) в качестве местного лечения применялись кремы с высоким содержанием 1% витамина К1 (Eldan крем). Следует отметить, что в случае первого эпизода токсичности 3 степени противоопухолевое лечение прерывалось до уменьшения токсичности 2 степени без редуции доз препарата. При возникновении второго эпизода кожной токсичности 3 степени лечение вновь приостанавливалось, и последующая доза редуцировалась.

Основные характеристики больных, получавших корригирующую терапию по поводу кожной токсичности, приведены в таблице 5.

Таблица 5 - Характеристика больных, получавших лечение по поводу кожной токсичности

Характеристика больных	Число больных (n=26)/ (100%)	
	Контрольная n = 13(55,8%)	Основная n=13 (44,2%)
Группы		
Пол:		
Мужской	6 (46, 2%)	5 (38, 5%)
Женский	7 (53, 8%)	8 (61, 5%)
Возраст:		
До 50 лет	1 (7,7%)	3 (23, 1%)
Старше 50 лет	12 (92,3%)	9 (69, 2%)
Диагноз:		
Колоректальный рак	7 (53,8 %)	6 (46,2%)
Рак влагалище	—	1 (7,7%)
НМРЛ	6 (46, 2%)	6 (46, 2%)
Рак кожи	—	—
Схема терапии:		
гефитиниб	7(53,8%)	8 (61,5%)
цетуксимаб	6(46,2%)	5 (38,5%)
Степень токсичности:		
II	10 (84,6%)	11(76,9%)
III	2(15,4%)	3(23,1%)

Как видно из представленной таблицы, в обеих группах принимали участие пациенты с различными злокачественными новообразованиями в возрасте от 38 до 81 лет (медиана возраста составила 60 лет). Основную массу пациентов, в которой изучали кожную токсичность, составили больные НМРЛ и КРР.

В целом обе группы сопоставимы по возрасту, локализации первичной опухоли, проводимой терапии и степени токсичности ($p > 0,05$).

Методы статистической обработки. Результаты клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования обрабатывались с использованием стандартного пакета программ «SPSS 17». С помощью методов описательной статистики проводилась оценка частот явлений в различных группах. С помощью непараметрических методов (хи-квадрат) проводилось сравнение различных групп. Также для анализа эффективности терапии были рассчитаны риски гепатотоксичности и доверительные интервалы (95% ДИ) для их значений. Оценка времени до купирования проявлений гепатотоксичности (ВКГ) и кожной токсичности проводилась с использованием метода Каплана-Майера. Многофакторный анализ влияния различных показателей на времени до купирования проявлений гепатотоксичности и кожной токсичности проводилась с помощью модели пропорциональных рисков Кокса. Достоверным считался уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

Изучение влияния метропа ГП на острую токсичность

паклитаксела и доксорубицина

Результаты проведенных исследований показали, что многократное применение метропа ГП после однократного введения цитостатиков в дозе вызывающих гибель $50 \pm 6\%$ животных от острых токсических реакций, снижает количество летальных исходов и увеличивает LD_{50} в 1,5 раза (табл.6,7).

Таблицы 6 - Оценка острой токсичности доксорубицина и доксорубицина + метроп ГП у крыс

Доза,мг/кг, внутривенно	2,5 (n=6)	5 (n=6)	7 (n=6)	5 (n=6)	10 (n=6)	12 (n=6)
Доксорубицин самцы / самки	ЛД ₅₀ = 7.53 ± 0.37 мг/кг / ЛД ₅₀ = 8.13 ± 0.31 мг/кг					
Число умерших самцы/самки	0/0	1/0	2/2	4/3	6/6	6/6
Сроки гибели (дни) самцы/самки	-/-	8/-	7/7	3-4/5	3-4/4	3/3-4
Доксорубицин + метроп ГП самцы/самки	ЛД ₅₀ = 11.49 ± 0.21 мг/кг / ЛД ₅₀ = 13.30 ± 0.31 мг/кг					
Число умерших самцы/самки	0/0	0/0	1/1	1/1	3/3	4/3
Сроки гибели (дни) самцы/самки	-/-	-/-	9/6	6-7/5	4-5/5-6	3-4/4

Таблица 7 - Оценка острой токсичности паклитаксела и паклитаксел + метроп ГП у крыс

Доза,мг/кг, внутривенно	8 (n=6)	12 (n=6)	16 (n=6)	18 (n=6)	20 (n=6)	22 (n=6)
Паклитаксел самцы / самки	ЛД ₅₀ = 15,1 ± 0,6 мг/кг / ЛД ₅₀ = 15,4 ± 0,8 мг/кг					
Число умерших самцы/самки	0/0	1/1	3/3	5/4	5/5	6/6
Сроки гибели (дни) самцы/самки	-/-	6/6	5-6/5-6	4-5/4-5	2-3/2-3	1/2
Паклитаксел+ метроп ГП самцы/самки	ЛД ₅₀ = 25 ± 1,5 мг/кг / ЛД ₅₀ = 28,0 ± 2,7 мг/кг					
Число умерших самцы/самки	0/0	0/0	1/1	2/1	3/2	3/3
Сроки гибели (дни) самцы/самки	-/-	-/-	8/8	6-8/7	5-6/6-7	5-6/5-6

Как видно из представленных данных в таблицах 6 и 7, количество умерших крыс в группе цитостатик в комбинации с метропом ГП было меньше ($p < 0,05$), по сравнению с группой получавших только цитостатик. Летальная доза препарата на фоне введения метропа ГП была в 1,5 раза больше как у самцов, так и у самок ($p < 0,05$).

Исследование гепатопротекторного действия препарата метроп ГП при введении паклитаксела и доксорубицин в эксперименте

Использование цитостатиков в токсических дозах сопровождалось существенным нарушением всех функций печени: синтетической,

антитоксической, липосинтезирующей. В крови повышалась активность трансаминаз, снижалось содержание общего белка, липидов, резерва сульфгидрильных групп, повышались уровни билирубина и церулоплазмينا. В печени уменьшались запасы гликогена, восстановленного глутатиона. Поражение печени сопровождалось снижением ее функциональной активности: значительно возрастала длительность гексеналового наркоза, замедлялась экскреция бромсульфалеина. Курсовое применение метропа ГП в дозе 0,1 мл на кг массы тела на фоне повреждающего действия доксорубина и паклитаксела оказывала выраженное защитное действие (табл. 8)

Таблица 8 - Оценка биохимических и функциональных показателей состояния печени экспериментальных животных получавших паклитаксел и паклитаксел + метроп ГП $M \pm m$

Показатели	Контрольная группа	Паклитаксел	Паклитаксел+ метроп ГП
Общий белок, сыворотка, г/л	64 ± 2	$31 \pm 4^*$	69 ± 6
АлАТ мкмоль/(с•л)	0.59 ± 0.04	$1,56 \pm 0,11^*$	$0,85 \pm 0,08^*$
АсАТ мкмоль/(с•л)	$0.35 \pm 0,04$	$0,80 \pm 0,07^*$	$0,32 \pm 0,04^*$
ЩФ нмоль/(с•л)	$852 \pm 30,7$	$1677 \pm 168,8^*$	$811 \pm 26,3^*$
Гексеналовый сон (мин)	$31,0 \pm 2,0$	$59,0 \pm 4,0^*$	$31,0 \pm 2,0^*$
Тимоловая проба, ед. помутнения	1.46 ± 0.03	$5,99 \pm 0,35^*$	$1,18 \pm 0,17$
SH-группы, сыворотка, мг%	1535 ± 64	$263 \pm 39^*$	1554 ± 72
Восстановленный глутатион, печень, мг%	165 ± 6	$60 \pm 10^*$	164 ± 10
Гликоген печени, мг%	2482 ± 99	$739 \pm 78^*$	2691 ± 191
Концентрация бромсульфалеина	$13,7 \pm 0,9$	$40,4 \pm 4,2^*$	$13,5 \pm 1,6$
Церулоплазмин, сыворотка, мг/л	417 ± 12	$989 \pm 81^*$	477 ± 44
Холестерин, сыворотка, ммоль/л	$1,77 \pm 0,24$	$1,32 \pm 0,20$	$1,70 \pm 0,19$
Билирубин общий, сыворотка, ммоль/л	$3,2 \pm 0,4$	$7,4 \pm 0,3^*$	$3,8 \pm 0,5$

*— достоверные отличия к контрольной и группы паклитаксел + метроп ГП при $p < 0.05$.

Как следует из представленных данных в таблице 7, у крыс, получавших монотерапию доксорубином, отмечался рост трансаминаз (АлАТ $1,76 \pm 0,12$ мкмоль/(с•л), АсАТ $0,96 \pm 0,06$ мкмоль/(с•л), щелочной фосфатазы ($1854 \pm 170,0$ мкмоль/(с•л) и увеличение времени гексеналового сна ($61,0 \pm 5,0$ минут) по

сравнению с группой крыс, получавших доксорубин + метроп ГП, где отмечено снижение уровней трансаминаз (АлАТ $0,96 \pm 0,06$ мкмоль/(с•л); АсАТ $0,40 \pm 0,03$ мкмоль/(с•л), уровня щелочной фосфатазы ($1065,0 \pm 78,4$ нмоль/(с•л) и снижение времени гексеналового сна ($37,0 \pm 3,0$ минут). В группе, получавшей исследуемый препарат, отмечено уменьшение синдрома цитолиза, что проявилось в нормализации активности АсАТ, АлАТ и ЩФ. При этом отклонение от группы интактных животных по этим показателям было достоверно ($p < 0.05$).

Об эффективности лечения также судили по клинической картине, динамике массы тела, относительной массе печени.

Таблица 9 - Масса тела и относительная масса печени у экспериментальных животных после применения паклитаксела и паклитаксел в комбинации с метропом ГП $M \pm m$

Показатели	Контрольная группа	Паклитаксел	Паклитаксел + метроп ГП
Масса тела, г	179 ± 7	$165 \pm 10^*$	174 ± 8
Относительная масса печени, г/кг	29.70 ± 1.46	$41.30 \pm 1.17^*$	27.87 ± 1.03

*— достоверные отличия от контрольной группы и группы крыс, получавших паклитаксел + метроп ГП при $p < 0.05$

Как видно на представленной таблице 9, на фоне введения паклитаксела у животных отмечался снижение массы тела и увеличение относительной массы печени ($p < 0.05$), а у животных, получавших паклитаксел в комбинации с метроп ГП, эти показатели не отличались от контрольной группы.

Влияния метропа ГП на противоопухолевую активность доксорубина у мышей с солидной опухолью Эрлиха

Принимая во внимание широкий спектр биологической активности метропа ГП, неизбежно встал вопрос о возможности негативного влияния

этого препарата на эффективность химиотерапии. С этой целью нами было проведено изучение влияния гепатопротектора метропа ГП на рост солидной опухоли Эрлиха, а также противоопухолевую активность доксорубина. Как показали проведенные исследования, ежедневные подкожные введения метропа ГП не влияли на рост солидной опухоли Эрлиха у мышей и не снижали противоопухолевый эффект доксорубина (таблица 10).

Таблица 10 - Влияние метропа ГП, доксорубина и их комбинаций на рост солидной опухоли Эрлиха у мышей

Группа (число мышей)	Средний объём опухоли, мм ³ ; Т%, р					
	<i>Дни после перевивки</i>					
	7-й	9-й	11-й	13-й	15-й	17-й
I группа (n=8) Контроль	750± 107	1275±90	2243±181	3003±165	3064±126	3398±188
II группа(n=11) метроп ГП 0,1 мл х 5	558±83 26% p>0,05	1059±147 17% p>0,1	1619±145 28% p<0,01	2057±222 32% p<0,01	2651±180 13% p>0,05	3128±166 8% p>0,1
III группа(n=11) Доксорубин 10 мг/кг х 1	506± 79 33% p>0,05	792±167 38% p<0,05	1077±136 52% p<0,001	1334±204 56% p<0,001	1640±244 46% p<0,001	1980±183 42% p<0,001
IV группа(n=11) Доксорубин 10 мг/кг х 1+ метроп ГП 0,1 мл х 5	433±78 42% p<0,05	853±93 34% p<0,01	1130±198 50% p<0,01	1341±178 55% p<0,001	1571±294 49% p<0,001	1770±197 48% p<0,001
V группа(n=11) Доксорубин 2 мг/кг х 5	349±68 53% p<0,05	588±111 53% p<0,02	897±220 60% p<0,001	1089±243 64% p<0,001	1258±236 59% p<0,001	1599±171 53% p<0,001
VI группа(n=11) Доксорубин 2 мг/кг х 5 + метроп ГП 0,1 мл х 5	419±70 44% p<0,05	670±54 47% p<0,01	976±140 56% p<0,01	1215±203 60% p<0,001	1587±156 48% p<0,001	1664±199 51% p<0,001

Как видно из представленных в таблице 10 данных, однократное введение доксорубина в дозе 10 мг/кг обусловило торможение роста опухоли на 33-56%. При комбинации с ежедневными в течение 5 дней введениями метропа ГП доксорубин в этой дозе обусловил торможение роста опухоли на 34-55%. При ежедневных введениях доксорубина в дозе 2 мг/кг торможение роста опухоли составило 53-64%, а при комбинации с ежедневными введениями

метропа ГП – 44-60%. Разница в объемах опухолей у мышей, получавших доксорубицин и доксорубицин в комбинации с метропом ГП, не является статистически достоверной. Отмечавшееся в различные сроки торможение роста опухолей на 17-32% в группе мышей, получавших метроп ГП, не может иметь практического значения.

Учитывая результаты всех проведенных предклинических исследований где нами было установлено, что препарат метроп ГП в эксперименте не влияет на рост солидной опухоли Эрлиха, не снижает противоопухолевую активность доксорубицина и обладает выраженным гепатопротективным эффектом, мы провели затем клиническое исследование II фазы по оценке эффективности метропа ГП для профилактики и лечения печеночной токсичности у больных различными солидными опухолями на фоне противоопухолевой.

Статистический анализ показал, что использование гепатопротектора метропа ГП достоверно ($p < 0,05$) повышает скорость снижения уровня трансаминаз по сравнению с адеметионином (рис.1).

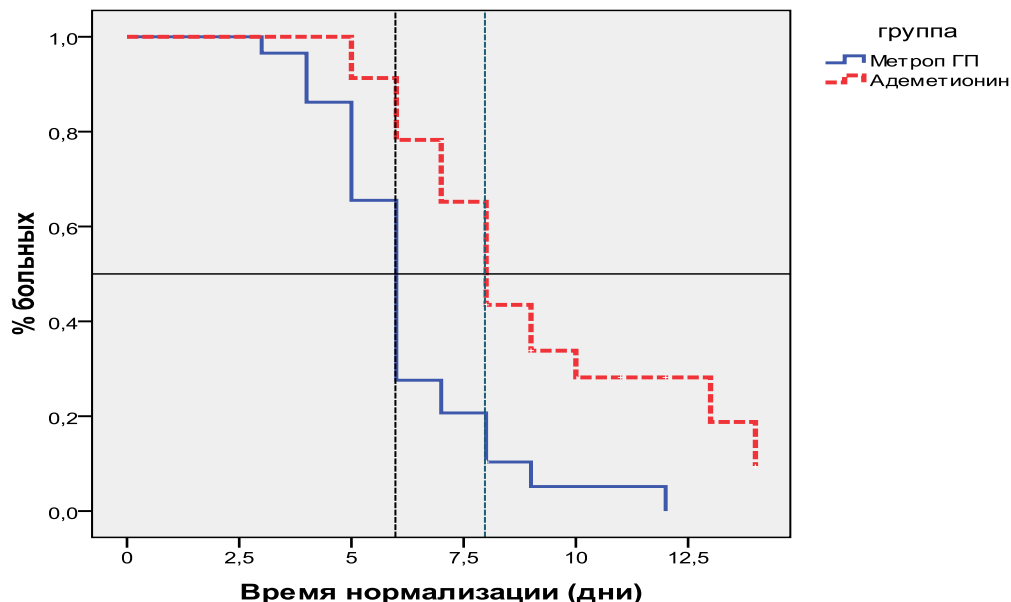


Рисунок 1 – Скорость снижения активности печеночных трансаминаз (все степени токсичности) на фоне терапии метропом ГП и адеметионином.

Как показано на рисунке 1, медиана времени нормализации трансаминаз для больных, получавших метроп ГП, составила 6 дней, а для больных, получавших адеметионин, 8 дней (95% ДИ 5-7, $p = 0,0005$).

Для больных, получавших гепатотропную терапию в профилактическом режиме, риск возникновения тяжелых степеней печеночной токсичности при последующих циклах химиотерапии на фоне терапии метропом ГП был ниже ($p < 0,05$), чем в группе больных, получавших адеметионин.

Таблица 11 - Частота гепатотоксичности у пациентов, получавших гепатотропную терапию в профилактическом режиме (число циклов 260)

Группы	Степень	Частота гепатотоксичности (%)				
		исходно	1 цикл	2 цикл	3 цикл	4 цикл
Химиотерапия + метроп ГП n=29 (55,8%)	0	0 (%)	27 (93,%)	22 (75,%)	19 (65,5%)	22 (62,%)
	1	3 (10,3%)	2 (6,9%)	5 (17,2%)	10 (34,5%)	7 (37,9%)
	2	21 (72,4%)	0 (0%)	2 (6,9%)	0 (0%)	0 (0%)
	3	4 (13,8%)	0 (0%)	0 (%)	0 (0%)	0 (0%)
	4	1 (3,4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	0	0 (0%)	15 (65,%)	12 (52,%)	12 (52,2%)	10 (43,%)
Химиотерапия + Адеметионин n=23 (44,2%)	1	3 (13,0%)	8 (34,8%)	7 (30,4%)	9 (39,1%)	7 (30,4%)
	2	15 (65,3%)	0 (0%)	3 (13,0%)	2 (8,7%)	6 (26,1%)
	3	4 (17,4%)	0 (0%)	1 (4,3%)	0 (0%)	0 (0%)
	4	1 (4,3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Уровень значимости		P=0,131	p=0,011	p=0,067	p=0,040	p= 0,021

Как видно на представленной таблице 11, риск возникновения гепатотоксичности в динамике на фоне гепатотропной терапии в обеих группах был значительно ниже ($p=0,05$), по сравнению с исходными значениями. Частота гепатотоксичности на первом цикле терапии в группе больных, получавших метроп ГП, составила 6,9%, а в группе больных, получавших адеметионин, 34,8% ($p=0,011$). На фоне второго цикла

токсичность составила 20,7% и 39,1% соответственно. ($p = 0,067$), а на фоне третьего цикла 34,5% и 43,5% соответственно ($p=0,040$), на фоне четвертого цикла 37,9% и 56,5 % соответственно ($p=0,021$). Следует отметить, что у больных, получавших химиотерапию на фоне метропа ГП, в основном отмечалось повышение уровня трансаминаз 1-й степени, в то время как в группе больных, получавших химиотерапию на фоне адеметионина, частота повышения трансаминаз 2 степени было значительно больше ($p < 0.05$).

Таким образом, резюмируя результаты клинического исследования можно полагать, что лечение метропом ГП создает новое направление терапии гепатотоксичности, индуцированной противоопухолевыми препаратами. Несмотря на необходимость дальнейших исследований по изучению механизмов органоспецифического влияния метропа ГП, уже сегодня можно убедиться в его высокой и достоверной клинической эффективности.

Оценка частоты кожной токсичности у больных, получавших терапию ингибиторами EGFR

В нашем исследовании проводилась оценка частоты кожной токсичности у больных, получавших терапию ингибиторами EGFR.

Кожная сыпь отмечена у 80,8% больных, получавших таргетную терапию.

Нами проводилась также сравнительная оценка эффективности местного применения крема с витамином К1 и стандартной терапии при кожной токсичности на фоне анти - EGFR терапии путем сопоставления сроков элиминации кожной сыпи.

Основанием для назначения крема с витамином К1 явились результаты экспериментальных исследований, в которых было показано, что местное применение витамина К3 приводит к реактивации сигнальной системы EGFR в коже после системного применения анти EGFR-противоопухолевых препаратов (Perez-Soler R et al., 2006).

Как показал статистический анализ, использование крема с высоким содержанием витамина К1 не имеет преимуществ перед

стандартной терапией и требует большего времени ($p > 0,05$) для элиминации кожной сыпи.

Анализ сроков купирования кожной сыпи представлены на рисунке 2.

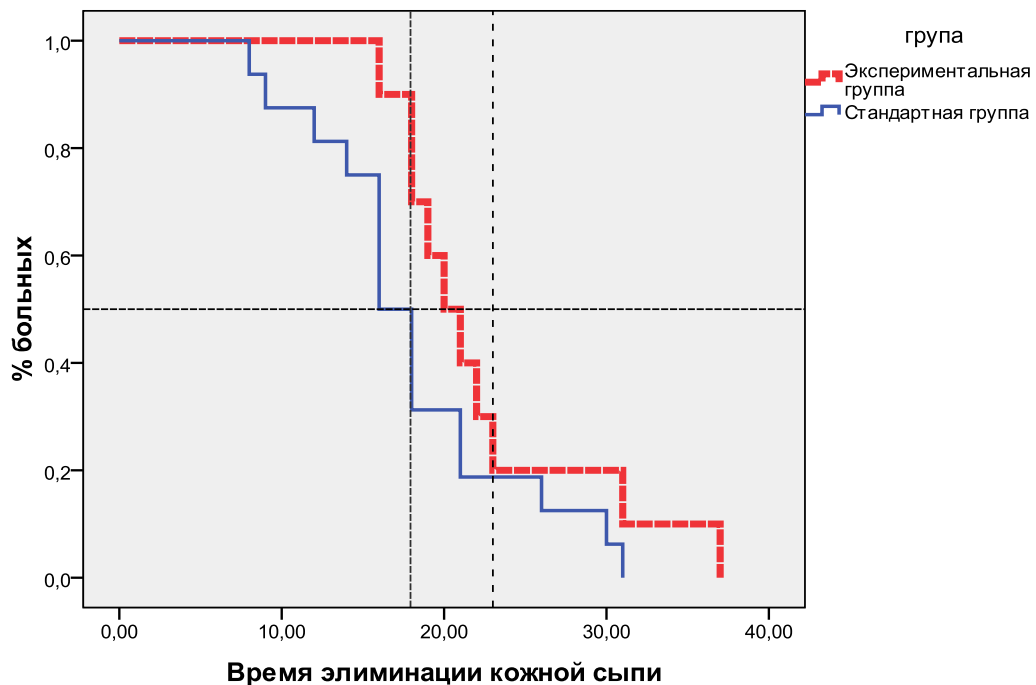


Рисунок 2 - Время элиминации симптомов кожной токсичности у больных на фоне различных видов коррегирующей терапии.

Как показано на рисунке 2, медиана времени снижения степени выраженности кожной сыпи в группе больных, применявших крем с высоким содержанием витамина К1 составила 23 дня, а в группе стандартной терапии 18 дней ($p=0,447$).

ВЫВОДЫ

1. Однократное и курсовое введение противоопухолевых препаратов паклитаксела и доксорубина в стандартных дозах вызывают в печени у всех экспериментальных животных структурно-метаболические нарушения соответствующие острому токсическому гепатиту.

2. Однократное внутривенное введение паклитаксела и доксорубина в дозе LD₅₀ вызывает острую токсичность у всех животных, применение метропа ГП снижает токсичность этих цитостатиков при этом увеличивается LD₅₀ в 1,5 раза (8.13 ± 0.3 мг/кг и 13.30 ± 0.31 мг/кг, p < 0, 05).

3. Курсовое использование цитостатиков на фоне метропа ГП не сопровождается значимым повышением уровня печеночных трансаминаз, глутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, концентрации бромсульфалеина, церулоплазмينا, билирубина глутатиона, снижением SH – группы, общего белка, липидов, гликогена в сыворотки крови и увеличением длительности гексеналового сна у животных (p < 0.05).

4. Препарат метроп ГП в эксперименте не влияет на индекс роста солидной опухоли Эрлиха (p>0,05) и не снижает противоопухолевой эффект доксорубина (p> 0,05).

5. Метроп ГП у больных, различными солидными опухолями получающих противоопухолевую химиотерапию, обладает большим гепатопротекторным эффектом по сравнению с адеметионином (p = 0,00005).

6. Кожная сыпь наблюдается у 80,8 % больных, получавших анти-EGFR терапию, при этом частота и степень выраженности этого осложнения зависит от возраста больных (у больных до 50 лет составила 100%, а у больных старше 50 лет – 78% p=0,005) и не зависит от количества метастатически пораженных органов, типа лекарственной терапии и пола больных.

7. Использование крема с высоким содержанием витамина К1 не имеет преимуществ перед стандартной терапией и требуется большего времени (p> 0,05) для элиминации кожной сыпи.

8. Проведение профилактической терапии на фоне лечения ингибиторами EGFR достоверно снижает частоту и степень выраженности кожной токсичности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем больным злокачественными новообразованиями целесообразно при планировании и проведении химиотерапии тщательно изучать функциональное состояние печени.

2. Всем больным со злокачественными новообразованиями целесообразно в комплексную терапию включать гепатопротекторы, позволяющие снизить риск печеночной токсичности.

3. Всем пациентам, получающим анти - EGFR терапию целесообразно проводить профилактику кожной токсичности.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Абдуллова Н.Х., Колбасов С.Е., Стуков А.Н., Моисеенко В.М** Изучение влияния гепатопротектора метропа ГП на рост опухоли Эрлиха и противоопухолевую активность доксорубина // **Вопросы онкологии.** – 2011. – Том.57.– №2. – С.213-215

2. **Абдуллова Н.Х., Колбасов С.Е., Стуков А.Н., Моисеенко В.М** Предклиническая оценка влияния препарата метроп ГП на острую токсичность и гепатотоксичность химиотерапии// **Вопросы онкологии.** – 2011. – Том.57.– №1. – С.71-74.

3. **Абдуллова Н.Х., Колбасов С.Е., Стуков А.Н., Моисеенко В.М** Экспериментальное изучение препарата метроп ГП на токсический и противоопухолевой эффект химиотерапии. Тезисы 6-го съезда онкологов и радиологов стран СНГ в Душанбе. –2010. – стр. 316.

4. **Абдуллова Н.Х., Моисеенко В.М.** Доклиническая оценка влияния препарата метроп ГП на токсический и противоопухолевой эффект химиотерапии Тезисы 5- го Всероссийского Национального конгресса лучевых

диагностиков и терапевтов «Радиология - 2011» // Диагностическая интервенционная радиология.- 2011.- Том.5.–№2.– С.9.

5. Абдулоева Н.Х., Колбасов С.Е., Стуков А.Н., Моисеенко В.М. Экспериментальная оценка влияния препарата метроп ГП на токсический и противоопухолевый эффект химиотерапии. Тезисы 7-й Российской конференции по фундаментальной онкологии //Вопросы онкологии. – 2011. – Том.57.– №2. – С.3.

6. **Моисеенко Ф.В., Имянитов Е.Н., Мацко Д.Е., Семенов И.И., Левченко Е.В., Моисеенко В.М., Проценко С.А., Чубенко В.А., Иванцов А.О., Брежнев Н.В., Ивлева А.Г., Абдулоева Н.Х. Роль гефитиниба в лечении больных немелкоклеточным раком легкого с мутацией в гене рецептора эпидермального фактора роста // Современная онкология. 2011, №3.– С.23-25.**

Благодарности

Выражаю искреннюю благодарность научному руководителю диссертационной работы доктору медицинских наук, профессору Владимиру Михайловичу Моисеенко, доктору медицинских наук, профессору Александру Николаевичу Стукову, кандидату медицинских наук Сергею Евгеньевичу Колбасову. Также выражаю глубокую признательность сотрудникам отделения химиотерапии и инновационных технологий, отделения экспериментальной онкологии лаборатории, ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздравсоцразвития России, сотрудникам ФМБА ФГУ НИИ токсикологии за неоценимую помощь в проведении работы.