
**НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИНЫ
НОВЫЙ КЛАСС
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ
ПРЕПАРАТОВ**



615.2
H 695

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ

НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИНЫ- НОВЫЙ КЛАСС ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

МОСКВА 1978

hmk

Нитрозоалкилмочевины — новый класс противоопухолевых препаратов. М., «Наука», 1978. 295 с Авт.: *Н. М. Эмануэль, Д. Б. Корман, Л. А. Островская и др.*

В монографии рассматриваются основные принципы химиотерапии опухолей, приводятся новейшие сведения о химических свойствах и превращениях нитрозоалкилмочевин, их токсикологических и фармакологических особенностях, противоопухолевой активности, обсуждаются перспективы применения нитрозоалкилмочевин при лечении опухолей различных типов, особенно в сочетании с противоопухолевыми препаратами других классов. Книга представляет интерес для онкологов, химиотерапевтов, химиков, биохимиков, фармакологов.

Авторы

**Н. М. ЭМАНУЭЛЬ, Д. Б. КОРМАН,
Л. А. ОСТРОВСКАЯ, Л. Б. ГОРБАЧЕВА,
Н. П. ДЕМЕНТЬЕВА**

Ответственный редактор

член-корреспондент АМН СССР

Н. П. НАПАЛКОВ

ВВЕДЕНИЕ

Борьба со злокачественными новообразованиями относится к числу тех волнующих человечество медицинских проблем, наиболее эффективное решение которых возможно лишь в результате объединения усилий основных естественных наук — медицины, биологии, химии, физики и математики.

В последние годы заметный прогресс в онкологии связан с достижениями химиотерапии, хотя хирургический и лучевой методы остаются пока основными средствами лечения больных с опухолями большинства внутренних органов.

Историю химиотерапии рака принято отсчитывать с момента обнаружения в 1945 г. противоопухолевых свойств в ряду хлорэтиламинов и этилениминов. В настоящее время клиническая онкология располагает препаратами, излечивающими примерно в половине случаев больных с такими опухолями как метастазирующая хорионэпителиома, лимфома Беркитта, опухоль Вилмса, некоторые формы острых лейкозов, лимфогранулематоз, семинома яичка.

Успехи химиотерапии рака находятся в зависимости от развития молекулярной биологии и использования в биологических исследованиях физических, физико-химических и математических методов. Знание молекулярных механизмов канцерогенеза и опухолевого роста, особенностей протекания основных биохимических процессов в нормальных и опухолевых клетках — необходимое условие рациональных поисков новых, еще более активных и избирательно действующих лекарственных средств для лечения больных злокачественными опухолями.

Особенно интенсивно развивается противоопухолевая химиотерапия с начала 60-х годов в результате организации массового скрининга потенциально активных противоопухолевых агентов, а также вследствие появления различных теоретических концепций, касающихся направленного поиска активных соединений. Примерно в этот же период времени появилось значительное число исследований по количественному описанию закономерностей опухолевого роста и разработке строго объективных критериев оценки эффективности различных про-

тивоопухолевых (в том числе химиотерапевтических) воздействий. Была также показана возможность значительного улучшения результатов лекарственного лечения многих опухолей путем совместного применения нескольких препаратов с различным механизмом действия (полихимиотерапия).

Вместе с тем при наиболее распространенных опухолях, таких как рак желудка, легкого, молочной железы и других, химиотерапия все еще малоэффективна. Поэтому задача отыскания и разработки новых активных препаратов полностью сохраняет свою актуальность.

В Секторе кинетики химических и биологических процессов Института химической физики АН СССР в течение последних полутора десятилетий ведутся экспериментальные и связанные с ними клинические исследования в области противоопухолевой химиотерапии, основанные на некоторых представлениях о роли свободнорадикальных процессов при канцерогенезе и опухолевом росте и широком применении кинетических методов при изучении развития злокачественных опухолей.

Кинетический подход к проблемам онкологии позволяет устанавливать общие закономерности развития опухолей и их регрессии в результате эффективного лечения и применять для анализа данных аппарат математической статистики и современную вычислительную технику.

Были предложены простые кинетические методы и критерии для строго количественного скрининга химических соединений с целью выявления эффективных противоопухолевых препаратов. В частности, наиболее простым и удобным критерием такого рода стал так называемый коэффициент торможения роста опухолей, показывающий, во сколько раз медленнее по сравнению с контролем растет опухоль при применении данного препарата.

В результате работ Сектора кинетики химических и биологических процессов была выявлена группа препаратов, принадлежащих к классу малотоксичных ингибиторов свободнорадикальных реакций — антиоксидантов. Изучение этих соединений было начато на основе выдвинутой в конце 50-х годов гипотезы о важной роли свободнорадикальных процессов в возникновении и развитии злокачественных опухолей. Ингибиторы-антиоксиданты в экспериментальных исследованиях показали значительную противоопухолевую активность. При клиническом изучении одного из них, а именно 2,6-ди-трет.бутил-4-метилфенола (инола), получившего впоследствии фармакологическое название дибунола, была показана его эффективность при лечении больных опухолями мочевого пузыря. В 1973 г. Фармакологический комитет МЗ СССР рекомендовал этот препарат для практического применения.

Дибунол оказался препаратом, обладающим весьма широким спектром биологических свойств, вследствие чего он нашел

применение при лечении лучевых и трофических поражений кожи и слизистых, патогенез которых также, по-видимому, связан с процессом свободнорадикального характера.

Практически все эффективные противоопухолевые препараты обладают более или менее выраженной разносторонней биологической активностью. Одним из основных путей реализации биологической, в том числе и противоопухолевой, активности этих соединений является их действие на биосинтез, структуру и функции нуклеиновых кислот. В выраженной степени такими свойствами должны обладать, в частности, химические мутагены.

Это обстоятельство послужило одним из оснований для начала систематических исследований противоопухолевой активности алкильных производных нитрозомочевины (1963 г.).

Уже первые кинетические исследования показали, что величины коэффициентов торможения для этих соединений значительно превосходят значения коэффициентов для многих известных к этому времени противоопухолевых препаратов.

В 1966 г. было начато также клиническое изучение одного из этих соединений — нитрозометилмочевины (НММ), которое проводилось в ряде клиник. Было установлено, что НММ эффективна при лечении больных лимфогранулематозом и недифференцированными формами рака легкого. В 1973 г. НММ рекомендована Фармакологическим комитетом МЗ СССР для практического применения.

В этот же период в США также развернулись интенсивные исследования противоопухолевых свойств производных нитрозомочевины. Однако основное внимание в этих исследованиях было направлено на изучение более сложных соединений — производных, содержащих хлорэтильные группы, являющиеся активными фрагментами наиболее широко изученных и распространенных алкилирующих противоопухолевых препаратов. Из синтезированных и изученных в США нескольких сотен хлорэтильных нитрозомочевин клиническое изучение прошли три препарата — 1,3-бис(2-хлорэтил)-1-нитрозомочевина (БХНМ, BCNU), 1-(2-хлорэтил)-3-циклогексил-1-нитрозомочевина (ЦГНМ, CCNU), 1-(2-хлорэтил)-3-(4-метил)-циклогексил-1-нитрозомочевина (MeЦГНМ, MeCCNU), а также антибиотик стрептозотоцин (глюкозид нитрозометилмочевины).

Производные нитрозомочевины, как разработанные в СССР, так и предложенные в США, относятся в настоящее время к группе наиболее перспективных противоопухолевых препаратов.

За последние несколько лет в литературе накоплен обширный фактический материал, содержащий информацию о свойствах нитрозоалкилмочевин, имеющих отношение к их противоопухолевой активности.

Поскольку масштабы экспериментального и клинического изучения этих соединений продолжают непрерывно расширяться, появилась необходимость обобщить имеющиеся в литературе данные для того, чтобы способствовать прогрессу дальнейших исследований. Этой цели, по мысли авторов, и должна послужить настоящая монография, в которой подводятся итоги разносторонних исследований противоопухолевых свойств нитроалкилмочевин в Секторе кинетики химических и биологических процессов Института химической физики АН СССР, а также рассматриваются результаты работ других исследователей, выполненных во многих странах мира и опубликованных в специальных периодических изданиях.

КИНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ, СВОЙСТВА И ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Широкая программа ведущихся во всем мире исследований, цель которых состоит в разработке более эффективных методов лекарственного лечения рака, включает в себя в качестве главных этапов поиски новых активных противоопухолевых препаратов и их комбинаций и установление оптимальных режимов терапии. Важную роль при этом имеет общая оценка противоопухолевой активности препаратов, изучение их влияния на кинетику клеточной пролиферации опухолевых и нормальных тканей, установление молекулярных механизмов действия и фармакокинетических закономерностей.

ОСНОВЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ НОВЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Современное развитие экспериментальной и клинической онкологии характеризуется широким использованием количественных методов при анализе результатов лабораторных опытов и оценке эффективности лечения больных в клинике.

При испытании потенциальных противоопухолевых агентов важнейшей задачей является применение объективных количественных критериев для оценки их эффективности, дающих представление о характере воздействия препаратов на различных стадиях развития опухолевого процесса.

В связи с этим весьма перспективным представляется использование в химиотерапии опухолей различных кинетических методов.

Кинетический подход к изучению эффективности химиотерапевтических воздействий дает возможность получать строго количественные характеристики противоопухолевого действия веществ, объективно оценивать эффекты торможения, описывать процессы регрессий, ремиссий, рецидивирования и метастазирования опухолей.

Исследование кинетики опухолевых процессов, установление количественных закономерностей их развития дает параметры,

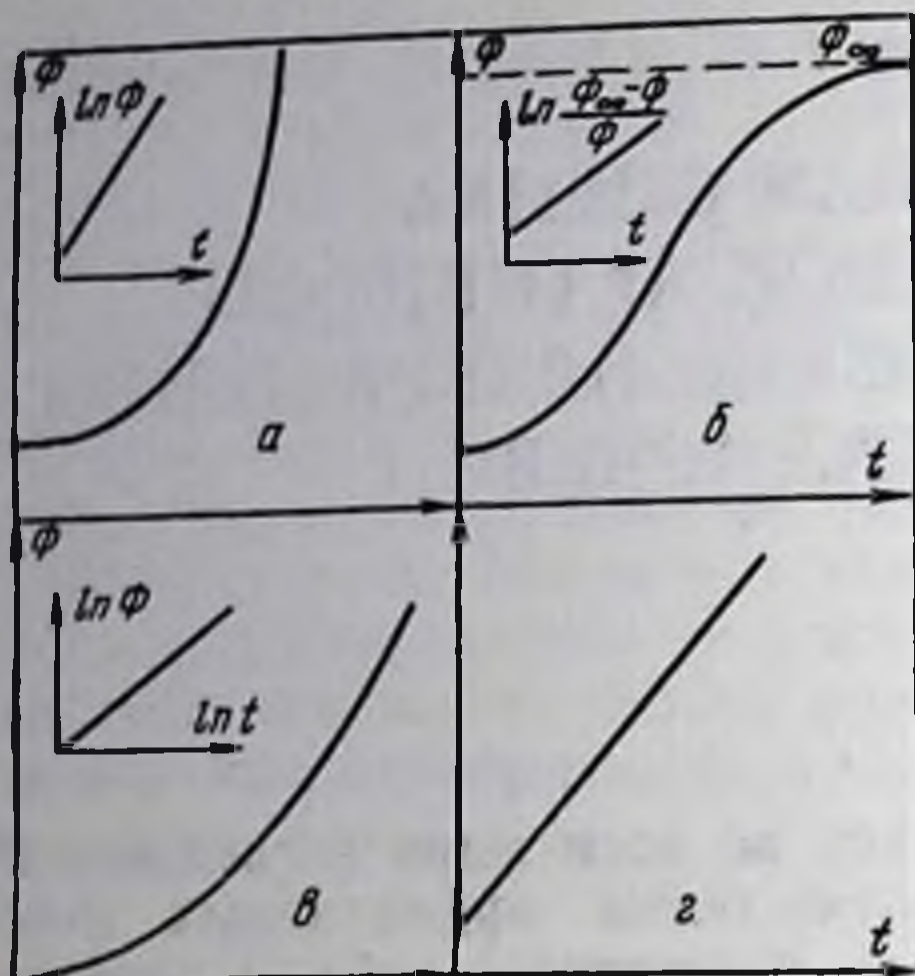


Рис. 1. Основные типы кинетических кривых роста опухолей

- а — экспоненциальный;
- б — S-образный;
- в — степенной;
- г — линейный

необходимые для разработки критериев эффективности различных видов терапии.

Начало интенсивного развития кинетического направления в экспериментальной и клинической онкологии относится примерно к концу 50-х — началу 60-х годов [1, 2]. В этот период были заложены количественные основы клинической онкологии [3] и предложены кинетические модели роста большинства используемых в экспериментальной онкологии опухолей [4].

Основной формой представления результатов кинетических исследований являются кинетические кривые, т. е. графическое изображение изменения во времени (t) некоторой величины Φ , характеризующей развитие процесса. В качестве величины Φ обычно рассматривают любую характеристику системы, которая может быть измерена и количественно выражена для каждого заданного момента времени. В частности, под величиной Φ можно понимать количество опухолевых клеток N , пропорциональные ему величины — объем (V) или вес (P) опухоли и т. п.

На рис. 1 представлены наиболее часто встречающиеся типы кинетических кривых роста опухолей: экспоненциальный, S-образный, степенной и линейный [5—11]. Развитие опухолевого процесса в каждый момент характеризуется значением скорости \mathcal{W} , величина которой также изменяется во времени

$$\mathcal{W}(t) = \frac{d\Phi(t)}{dt} \quad (1)$$

Отношение

$$\varphi = \frac{1}{\Phi} \frac{d\Phi}{dt} = \frac{d \ln \Phi}{dt} \quad (2)$$

представляет собой удельную скорость роста.

В различных исследованиях используется также величина эффективного времени удвоения

$$T_d = \frac{\ln 2}{\varphi} = \frac{0,693}{\varphi}, \quad (3)$$

равная времени, за которое значение Φ увеличится вдвое при постоянном значении удельной скорости φ .

Кинетические кривые рис. 1 могут быть описаны следующими функциональными зависимостями.

Экспоненциальный рост определяется аналитическим выражением вида

$$\Phi = \Phi_0 e^{\varphi t}, \quad (4)$$

где Φ_0 соответствует значению функции Φ в момент времени t_0 , принятый за начало отсчета.

Скорость роста опухоли

$$W = \frac{d\Phi}{dt} = \varphi \Phi_0 e^{\varphi t} = \varphi \Phi$$

также экспоненциально возрастает со временем.

Удельная скорость

$$\frac{1}{\Phi} \frac{d\Phi}{dt} = \varphi$$

и соответствующее ей время удвоения

$$T_d = 0,693/\varphi$$

для экспоненциального роста являются постоянными величинами.

Параметры φ и Φ_0 обычно вычисляются путем спрямления кинетических кривых в полулогарифмических координатах. Логарифмируя уравнение (4), получаем

$$\ln \Phi = \ln \Phi_0 + \varphi t,$$

т. е. уравнение прямой линии в координатах $(\ln \Phi, t)$. При этом φ определяется по наклону прямой по отношению к оси времени, а Φ_0 вычисляется из величины отрезка, отсекаемого прямой на оси значений Φ .

Практически все известные опухоли на начальной стадии растут по экспоненциальному закону [12—28].

В качестве примера можно назвать такие модели, как асцитная лейкемия L-1210 [12, 13], асцитная саркома 37 [14], асцитная опухоль Эрлиха [14, 16], асцитная опухоль Кребса [17—19], солидные саркомы 37 и 180 мышей [20], плазмоцитомы мышей [27], лимфосаркомы Плисса [28], Гарднера [22], лимфомы LSA

[21], Дальтона, НК/Лу [22], аденокарцинома Марш-Симпсон мышей [23], солидная саркома крыс ССК [24], карциносаркома Уокера [25], эритромиелоз Швеца крыс [26] и др.

Кинетика развития быстротекущих генерализованных опухолевых процессов, таких как, например, острый лейкоз La [2], гемоцитобластоз LZ [10], спонтанный лейкоз мышей линии АКР [29], хорошо описывается экспоненциальными зависимостями вплоть до гибели животных.

Влияние различных факторов (изменение кровоснабжения, питание опухоли, кислородная недостаточность и т. п.) приводит к отклонению от экспоненциальной зависимости. Во многих случаях скорость роста вначале возрастает, достигает максимального значения, после чего рост постепенно замедляется. Величина опухоли Φ при этом асимптотически приближается к некоторому предельному значению Φ_∞ . Подобным случаям соответствуют так называемые S-образные кинетические кривые. Максимальному значению скорости роста соответствует точка перегиба (Φ_\sim, t_\sim) на кинетической кривой S-образного типа.

Для характеристики S-образных кривых, симметричных относительно точки перегиба (т. е. в случаях, когда $\Phi_\sim = 1/2 \Phi_\infty$), хорошим приближением является кривая автокаталитических процессов первого порядка, которой соответствует зависимость

$$\Phi = \frac{\Phi_\infty}{1 + \frac{\Phi_\infty - \Phi_0}{\Phi_0} e^{-\frac{\Phi_\infty}{\Phi_\infty - \Phi_0} \Phi t}} \quad (5a)$$

Уравнению (5a) эквивалентно уравнение для так называемой логистической функции

$$\Phi = \frac{\Phi_\infty}{1 + a e^{-bt}}, \quad (5b)$$

где $a = \frac{\Phi_\infty - \Phi_0}{\Phi_0}$ и $b = \frac{\Phi_\infty}{\Phi_\infty - \Phi_0}$ — постоянные параметры.

Скорость процесса достигает максимального значения в точке с координатами

$$\Phi_\sim = \frac{1}{2} \Phi_\infty, \quad t_\sim = \frac{\ln a}{b}.$$

Удельная скорость

$$\varphi = \frac{b \Phi_\infty}{1 + \frac{1}{a} e^{bt}}$$

монотонно убывает, а время удвоения

$$T_d = \frac{0,693}{b\Phi_\infty} \left(1 + \frac{1}{a} e^{bt} \right)$$

увеличивается во времени.

Параметры a и b определяются путем спрямления кинетических кривых в координатах $\left(\ln \frac{\Phi_\infty - \Phi}{\Phi}; t \right)$, поскольку

$$\ln \frac{\Phi_\infty - \Phi}{\Phi} = \ln a - bt,$$

и, следовательно, величины a и b могут быть легко определены.

Уравнение автокатализа было использовано при анализе кинетических кривых развития ряда экспериментальных опухолей, таких как, например, асцистная лейкемия L-1210 мышей [12, 30], пигментная меланома Гардинг-Пасси мышей [31], рак Эрлиха в солидной форме [32], саркома 45 [33], карцинома Герена [30], эритромиелоз Швеца крыс [26, 34].

В качестве функции, описывающей S-образные кривые, несимметричные относительно точки перегиба, обычно применяется функция Гомпертца:

$$\Phi = \Phi_0 e^{\frac{A}{\alpha} (1 - e^{-\alpha t})} \quad (6a)$$

или в иной форме записи

$$\Phi = \Phi_\infty e^{-\frac{A}{\alpha} e^{-\alpha t}}, \quad (6b)$$

где Φ_0 , Φ_∞ , A и α — постоянные параметры.

Функция имеет точку перегиба с координатами

$$\Phi_{\sim} = \frac{\Phi_\infty}{e} = \frac{1}{2,72} \Phi_\infty; \quad t_{\sim} = \frac{\ln \frac{A}{\alpha}}{\alpha}.$$

Для удельной скорости и времени удвоения получаем

$$\varphi = Ae^{-\alpha t} \quad \text{и} \quad T_d = \frac{\ln 2}{\varphi} = \frac{0,693}{A} e^{\alpha t}.$$

Линеаризованная форма уравнения имеет вид

$$\ln \ln \frac{\Phi_\infty}{\Phi} = \ln \frac{A}{\alpha} - \alpha t.$$

Это уравнение применялось в работах [35—41] для характеристики роста спонтанных и индуцированных химическими кан-

церогенами опухолей молочных желез мышей, аденокарциномы 755, опухоли легких Льюис, саркомы 180, меланотической меланомы М-1, плазмоцитомы Фортнера I и некоторых других опухолей животных.

Степенная функция вида

$$\Phi = at^b, \quad (7)$$

где «a» и «b» — постоянные и $a > 0$, $b > 0$, применялась при анализе кинетики роста асцитной и солидной опухолей НК/Ly [42], саркомы 37, солидной саркомы 180 мышей, саркомы 45 крыс [20], карциносаркомы Уокера крыс [25] и ряда других опухолей.

Скорость роста при этом изменяется во времени в соответствии с уравнением

$$\frac{d\Phi}{dt} = abt^{b-1}.$$

Поскольку обычно величина $b > 1$, то скорость роста W также описывается степенной зависимостью.

При степенном росте удельная скорость уменьшается, а время удвоения увеличивается по мере развития опухоли:

$$\Phi = \frac{b}{t}; \quad T_d = \frac{0,693}{b} t.$$

Таким образом, степенная функция возрастает медленнее, чем экспоненциальная, для которой $\Phi = \text{const}$.

К линейному виду степенная функция приводится логарифмированием:

$$\ln \Phi = \ln a + b \ln t.$$

На практике часто приходится иметь дело также с линейной зависимостью

$$\Phi = a + bt \quad (8)$$

и так называемым уравнением корня кубического

$$\sqrt[3]{\Phi} = a + bt. \quad (9)$$

Время удвоения для этих функций определяется по следующим формулам:
для линейной зависимости

$$T_d = 0,693 \left(\frac{a}{b} + t \right), \quad (10)$$

для уравнения корня кубического

$$T_d = 0,23 \left(\frac{a}{b} + t \right). \quad (11)$$

Уравнение (8) применяли при анализе кинетики изменения среднего диаметра ($\Phi = D$) некоторых солидных опухолей — сарком Йенсена, R-39, карциномы Флекснер-Джоблинга, карциносаркомы Уокера крыс, аденокарциномы молочной железы мышей E0755, карциномы Браун-Пирс кроликов и др. [43—49].

Уравнение (9) использовали при описании кинетических кривых изменения веса солидных опухолей, при перевиваемом раке молочной железы мышей линии А и СЗН [50, 51], карциносаркоме Уокера крыс [52] и других опухолей, а также кинетики роста числа опухолевых клеток в асцитической жидкости у мышей в случаях рака Эрлиха, опухоли НК/Лу, саркомы 180, карциномы Кребса, лейкемии L-1210 [15, 53, 54, 13, 17] и др.

В табл. 1 приводятся формулы для описания наиболее типичных кинетических кривых опухолевого роста и вычисления значений удельных скоростей и времени удвоения.

Сопоставляя кинетику роста интактной и подвергавшейся лечебному воздействию опухоли можно количественно оценить эффективность терапии. В экспериментальной онкологии для этой цели используются различные критерии, основанные на знании кинетических параметров роста опухолей в опыте и контроле [4]. Для клинической практики также был предложен ряд кинетических критериев [3].

При экспоненциальном росте опухоли и в опыте, и в контроле имеем:

$$\Phi_e = \Phi_0 e^{\varphi_e t} \quad (\text{для опыта}); \quad \Phi_c = \Phi_0 e^{\varphi_c t} \quad (\text{для контроля}).$$

Удельные скорости при этом равны показателям соответствующих экспонент. То же относится и к случаю экспоненциальной регрессии опухоли $\Phi_c = \Phi_1 e^{-\varphi_c t}$, где значение Φ_1 представляет собой величину опухоли в момент устойчивого уменьшения ее размеров по экспоненциальному закону.

Величина так называемого коэффициента торможения

$$\kappa = \frac{\varphi_c}{\varphi_e} \quad (12)$$

является весьма удобной кинетической характеристикой противоопухолевой эффективности различных способов лечения [2].

Кинетический критерий κ есть для каждой пары сравниваемых кривых постоянная не зависящая от времени величина, показывающая, во сколько раз медленнее растет опухоль в эксперименте по сравнению с контролем. Этот критерий обладает высокой «чувствительностью», что позволяет устанавливать

Таблица 1
Уравнения типичных кинетических кривых опухлевого роста

Кинетическая кривая	Уравнение кривой	Удельная скорость	Время удвоения
Экспоненциальная	$\Phi = \Phi_0 e^{\Phi t}$	$\varphi = \text{const}$	$T_d = \frac{0,693}{\varphi}$
S-образная	$\Phi = \frac{\Phi_\infty}{1 + \frac{\Phi_\infty - \Phi_0}{\Phi_\infty} e^{-\frac{\Phi_\infty - \Phi_0}{\Phi_\infty} \Phi t}}$ <p>Уравнение автокатализа I порядка</p> $\Phi = \Phi_0 e^{\frac{A}{a}(1 - e^{-a t})}$ <p>Функция Гомпертца</p> $\Phi = a t^b$ $\Phi = a + b t$ $\sqrt[3]{\Phi} = a + b t$	$\varphi = \frac{b \Phi_\infty}{1 + \frac{1}{a} e^{b t}}$	$T_d = \frac{0,693}{b \Phi_\infty} \left(1 + \frac{1}{a} e^{b t} \right)$
Степенная		$\varphi = A e^{-a t}$	$T_d = \frac{0,693}{A} e^{a t}$
Линейная		$\varphi = \frac{b}{t}$	$T_d = \frac{0,693}{b} t$
		$\varphi = \frac{1}{\frac{a}{b} + t}$	$T_d = 0,693 \left(\frac{a}{b} + t \right)$
		$\varphi = \frac{3}{\frac{a}{b} + t}$	$T_d = 0,23 \left(\frac{a}{b} + t \right)$

Уравнение корня кубического

достоверные различия в активности препаратов, обладающих выраженным противоопухолевым действием.

Это можно видеть на примере оценки антилейкемической активности ряда нитрозоалкилмочевин (НАМ). В опыте изучали действие НММ, 1-нитрозо-1-этилмочевины (НЭМ), 1-нитрозо-1-пропилмочевины (НПМ) на экспериментальной модели лейкоза La [55]. Кинетические кривые изменения веса селезенки (S) и количества гемоцитобластов (H) при развитии лейкоза у контрольных и получавших препараты мышей представлены на рис. 2.

Коэффициенты торможения составляют соответственно для НММ $\kappa_S = 2,1$; для НЭМ $\kappa_S = 2,8$ и $\kappa_H = 2,3$; для НПМ $\kappa_S = 4,5$ $\kappa_H = 4,2$. Видно, что противоопухолевая активность соединений, оцениваемая по критерию κ , возрастает в ряду НММ \rightarrow НЭМ \rightarrow НПМ. Легко убедиться, что если бы оценка эффективности этих соединений проводилась по широко распространенному показателю — проценту торможения роста опухоли, то различия в активности нитрозопроизводных не были бы выявлены, так как они на 8—10-е сут тормозят рост опухоли на 90—100%.

При значениях φ_c , приближающихся к 0, величина κ стремится к ∞ , поэтому удобнее пользоваться критерием κ^* ,

$$\kappa^* = 1 - \frac{1}{\kappa} = \frac{\varphi_c - \varphi_e}{\varphi_c}. \quad (13)$$

Значения коэффициента активности $\kappa^* > 1$ соответствуют регрессии опухоли, $\kappa^* = 1$ в случае полного прекращения роста опухоли под влиянием химиотерапии, значения $0 < \kappa^* < 1$ характеризуют различную степень торможения роста опухоли, $\kappa^* = 0$ наблюдается при отсутствии эффекта и, наконец, отрицательные величины κ^* означают стимулирование роста.

В тех случаях, когда рост опухоли в контроле и особенно в результате химиотерапии характеризуется кинетическими кривыми произвольной формы, для оценок эффективности можно пользоваться методом эквивалентных экспонент. При этом средние значения величин φ_c и φ_e определяются по формуле

$$\bar{\varphi} = \frac{\ln \Phi(t_2) - \ln \Phi(t_1)}{t_2 - t_1} = \frac{\Delta \ln \Phi}{\Delta t}, \quad (14)$$

где t_1 — время начала терапевтического воздействия; t_2 — конечное время интервала усреднения, $\Phi(t_1)$ и $\Phi(t_2)$ — размеры опухоли, соответствующие моментам времени t_1 и t_2 . Временные интервалы, на которых производится усреднение, могут быть для контрольной и опытной кривой как различными, так и одинаковыми, в зависимости от конкретного вида сравниваемых кривых. Иными словами, выбор интервалов усреднения производится таким образом, чтобы сравнение проводилось в

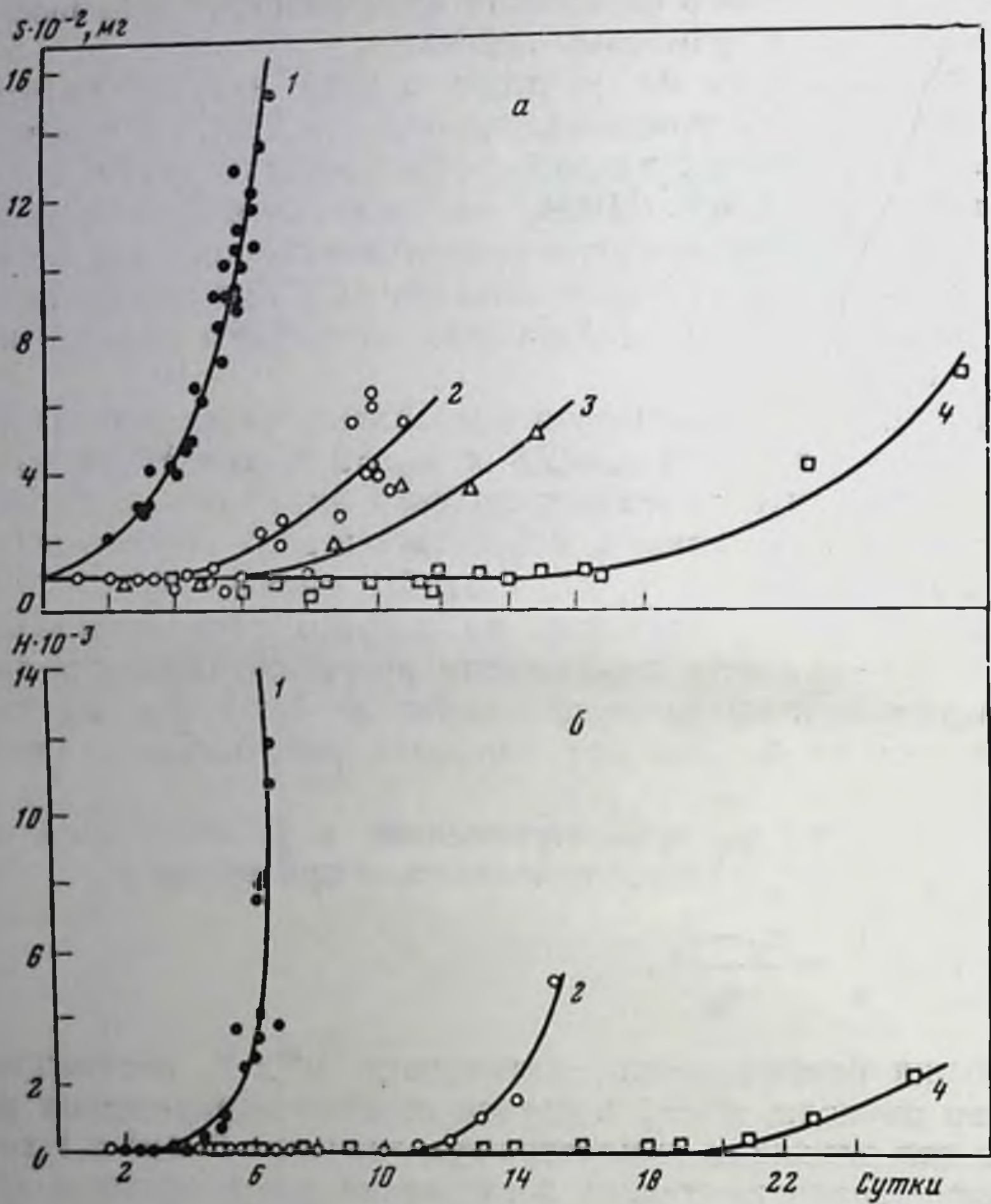


Рис. 2. Изменения веса селезенки (а) и количества гемцитобластов (б) при развитии лейкоза La при воздействии ряда НАМ

1 — контроль; 2 — НММ; 3 — НЭМ; 4 — НПМ

строго сопоставимых условиях, на типы же кинетических кривых не накладывается никаких ограничений.

При применении метода эквивалентных экспонент значения Φ_0 , Φ_1 , а следовательно, и κ^* существенно зависят от выбора интервалов усреднения. Поэтому при использовании метода в разных лабораториях могут быть сделаны различные выводы об эффективности препаратов, если не будет обращено должное внимание на стандартизацию условий эксперимента и обработки результатов.

Покажем на конкретном примере методику применения кинетического критерия κ^* для количественного сравнения процессов, описываемых кривыми сложной формы [13].

На рис. 3 приведены кинетические кривые изменения общего числа опухолевых клеток при развитии асцитной лейкемии L-1210 у контрольных и леченных НММ мышей. Из рис. 3 видно, что введение НММ сильно тормозит лейкозный процесс. При этом вид кинетических кривых в опыте существенно изменяется.

Средняя удельная скорость роста опухоли в контроле (кривая 1) составляет $\bar{\varphi}_c = 0,380 \text{ сут}^{-1}$ (интервал усреднения с 1 по 6 сут).

При введении НММ в дозе 10 мг/кг/сут (кривая 2) средняя удельная скорость развития лейкозного процесса $\bar{\varphi}_c = 0,254 \text{ сут}^{-1}$ (интервал усреднения с 1 по 8 сут).

Подставляя эти значения в формулу (13), находим, что $\kappa^* = 0,33$. Введение НММ в более высокой дозе 20 мг/кг/сут (кривая 3) снижает среднюю удельную скорость до $\bar{\varphi}_c = 0,037 \text{ сут}^{-1}$ (интервал усреднения с 1 по 9 сут).

В соответствии с этим величина коэффициента активности оказывается равной $\kappa^* = 0,90$.

Таким образом, при увеличении дозы НММ вдвое величина коэффициента κ^* увеличивается с 0,3 до 0,9, свидетельствуя о почти полном подавлении опухолевого роста.

Кинетический критерий активности κ^* позволяет количественно характеризовать связь между химическим строением и противоопухолевой активностью соединений исследуемого ряда, выявлять оптимальные режимы их применения, оценивать эффективность комбинированной химиотерапии.

В настоящее время кинетические исследования все еще рассматриваются как одно из направлений углубленного изучения свойств противоопухолевых соединений.

В большинстве же лабораторий, особенно для целей скрининга, в качестве критерия эффективности, по-прежнему используются значения процентов торможения роста опухоли и увеличения средней продолжительности жизни животных [56—70]. Между тем значительная противоопухолевая активность НАМ была обнаружена в Секторе кинетики химических и био-

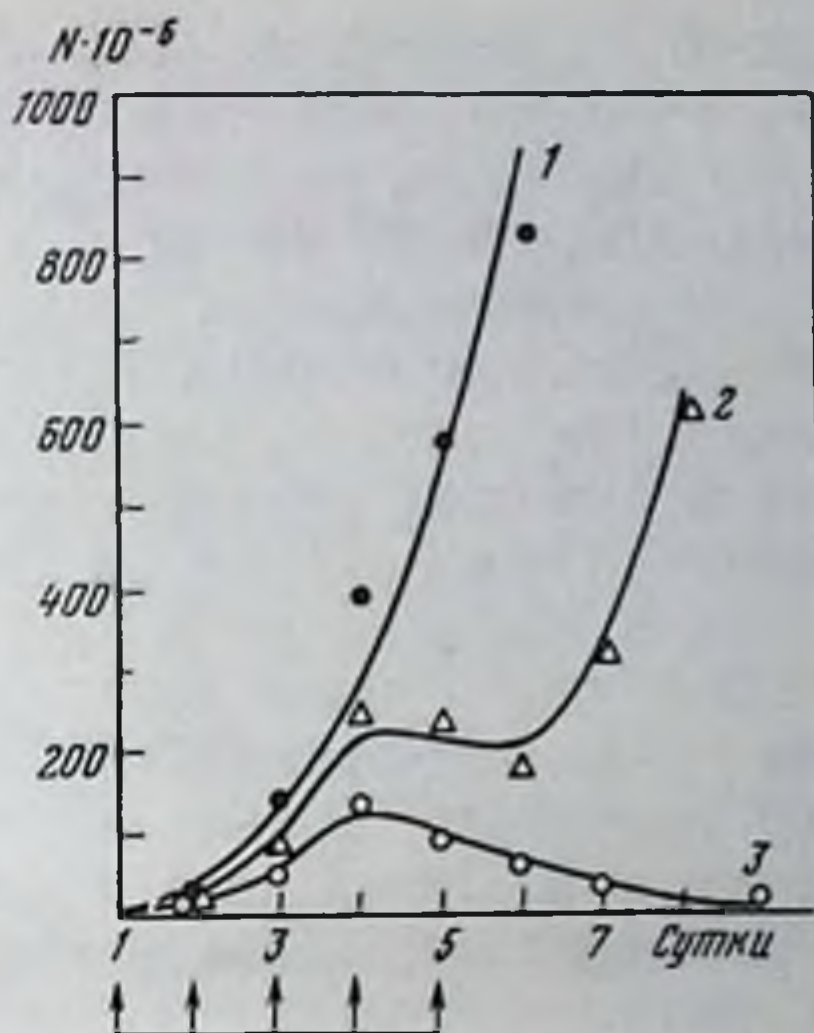


Рис. 3. Изменения числа опухолевых клеток при лейкозе L-1210 при воздействии НММ

- 1 — контроль;
- 2 — НММ (10 мг/кг/сут);
- 3 — НММ (20 мг/кг/сут)

БНЗ
№ 262431

логических процессов ИХФ АН СССР именно при кинетическом изучении действия этих соединений.

По-видимому, при реализации программ скрининга препаратов, масштабы которого с каждым годом все больше и больше увеличиваются, следует строже подходить к выбору оптимальных критериев эффективности. Это особенно существенно в тех случаях, когда скрининг является чисто эмпирическим и проверке подвергается огромное число химических соединений самых различных классов.

Так, в Национальном институте рака США объем скрининга в 1972 г. почти вдвое превысил объем испытаний предыдущего года (было проверено 30 800 соединений). В 1975 г. было испытано уже около 50 тыс. веществ, половину которых составляли продукты растительного и животного происхождения [71—74].

Ежегодно увеличивается также число веществ, проверяемых на противоопухолевую активность в СССР, где скрининг носит более рациональный характер, поскольку изучаются в основном препараты, полученные в результате направленного синтеза.

В результате эмпирического скрининга и изучения специально синтезированных веществ ежегодно в США и в СССР рекомендуется для клинического изучения примерно по 10 препаратов [67].

Материальные затраты на исследовательские работы, в результате которых выявляются перспективные для дальнейшего клинического изучения препараты, весьма значительны [75].

Все это делает чрезвычайно важной разработку оптимальной методики скрининга, ее стандартизацию, выбор критериев для оценки эффективности, выбор экспериментальных опухолевых моделей, установление направлений углубленного изучения противоопухолевых свойств и молекулярных механизмов действия препаратов.

В настоящее время для первичного отбора рекомендуется использовать быстро развивающуюся асцитную лейкемию L-1210. Эта опухоль чувствительна примерно к 70% клинически применяющихся препаратов. По рекомендации Международного совещания по методам отбора противоопухолевых препаратов, организованного ВОЗ (Женева, 1974 г.), модель признана в качестве стандартной системы для сравнения результатов, получаемых в лабораториях разных стран мира [67, 74, 76—78].

В США в дополнение к лейкемии L-1210 для более детального изучения препаратов применяются также относительно медленно растущие солидные опухоли: меланома В-16 и опухоль легких Льюис — незаменимая модель для исследования процессов метастазирования. Препараты растительного происхождения, в том числе антибиотики, испытываются в основном на лейкемии Р-388, более чувствительной, чем лейкемия

L-1210, к такого рода соединениям [64, 65, 66, 69—74, 76, 77, 79—82].

В Онкологическом научном центре АМН СССР первичный отбор противоопухолевых препаратов осуществляется на лейкемии L-1210, аденокарциноме 755 и раке легкого Льюис мышей [67].

Во многих лабораториях испытания проводятся на карциносаркоме Уокера крыс, высокочувствительной к алкирующим агентам, саркоме 180, асцитном раке Эрлиха мышей и др.

При углубленном изучении свойств препаратов спектр опухолей обычно существенно расширяется и включает, как правило, по крайней мере одну медленно растущую спонтанную или индуцированную опухоль или их первые генерации. Результаты экспериментов на спонтанных лейкозах или опухолях молочных желез мышей и крыс в известной мере моделируют действие препаратов в клинике [78, 83]. Большое внимание уделяется разработке новых моделей перевиваемых опухолей, которые можно было бы применить для поиска веществ, обладающих специфической активностью в отношении определенных форм солидных опухолей человека, в частности карциномы толстой кишки [84], почки [85] и др.

Для определения индивидуальной чувствительности к химиотерапевтическим препаратам используется гетеротрансплантация опухолей человека на безтимусных мышах [86, 87] или в диффузионных камерах [88].

Изучение эффективности препаратов на достаточно широком спектре опухолей включает, как правило, исследование эффектов действия препаратов в различных дозах при различных режимах и способах их введения и т. п.

Очевидно, что выявление препарата с высокой активностью в отношении какой-либо одной опухолевой модели представляется не менее важным, чем нахождение вещества с менее выраженным эффектом, но с более широким спектром действия. Естественно, что в исследовательской практике распространен дифференцированный подход к изучению веществ, относящихся к новым классам химических соединений с недостаточно выясненным механизмом действия и к препаратам, которые являются аналогами уже известных и применяющихся в клинике средств.

В большинстве случаев эффективные противоопухолевые препараты оказываются в значительной степени токсичными. Для получения хорошего терапевтического эффекта препараты зачастую применяются в максимально переносимых дозах. В связи с этим большое внимание уделяется предклиническим токсикологическим исследованиям с целью выявления возможных осложнений, установления оптимальных дозировок и режимов лечения, а также принципов переноса данных, полученных в эксперименте, в клиническую практику.

Переносимость препаратов и особенности их действия изучаются как на мелких лабораторных животных, так и на крупных [89].

Важное значение имеют не только фармакологические, но и фармакокинетические исследования. Весь этот огромный комплекс исследований хотя и реализуется в большинстве случаев, однако при организации соответствующих работ все еще лишь в малой степени используются современные возможности планирования и оптимизации эксперимента.

Завершающим этапом создания нового химиотерапевтического агента является, естественно, его клиническая апробация [90].

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Среди препаратов, предложенных в последние годы для лечения больных злокачественными новообразованиями, одними из наиболее перспективных оказались алкильные производные нитрозомочевины: 1-нитрозо-1-метилмочевина (НММ), 1,3-бис(2-хлорэтил)-1-нитрозомочевина (БХНМ), 1-(2-хлорэтил)-3-циклогексил-1-нитрозомочевина (ЦГНМ), 1-(2-хлорэтил)-3-(4-метил)-циклогексил-1-нитрозомочевина (MeЦГНМ) и стрептозотоцин.

Нитрозоалкилмочевины (НАМ) являются представителями нового класса химиотерапевтических агентов, ранее не применявшихся в онкологической практике. Для этих препаратов характерна широта терапевтического действия как в отношении солидных опухолей, так и гемобластозов, отсутствие перекрестной резистентности с другими цитостатиками, значительное усиление активности при сочетании с противоопухолевыми препаратами, относящимися к самым разнообразным группам соединений [91—104].

Одной из причин, по которой в Секторе кинетики химических и биологических процессов ИХФ АН СССР было начато систематическое изучение противоопухолевых свойств в ряду НАМ, явилось наличие у них исключительно высокой мутагенной активности [105]. Оказалось, что НММ, 1-нитрозо-1-этилмочевина (НЭМ) и 1-нитрозо-1-пропилмочевина (НПМ) вызывают 100% и больше наследственных изменений у растений и животных, причем возникает около 30% неизвестных раньше мутаций. У микроорганизмов частота прямых и обратных мутаций увеличивается под их влиянием на два, а иногда и на три порядка не только по сравнению с рентгеномутациями, но и с числом мутаций, вызываемых таким сильным химическим мутагеном, как этиленмин [106]. Было показано также мутагенное действие НММ на культуру фибробластоподобных эмбриональ-

ных клеток и лейкоцитов периферической крови человека [107, 108].

Исключительно высокая биологическая активность НАМ позволила предположить наличие у них также противоопухолевых свойств. При этом уместно вспомнить, что производные другого сильного химического мутагена — этиленимина — заняли, наряду с мощным физическим мутагенным фактором — облучением, — одно из важных мест в клинической терапии рака. Мутагенные свойства в той или иной мере присущи не только производным этиленимина [109], но и многим другим противоопухолевым агентам [110, 111]. Среди них — алкилирующие препараты (эмбихин, сарколизин, дегранол) [112—116] и антиметаболиты [117].

Большинство мутагенов обладают также канцерогенными свойствами [118]. Вместе с тем известно, что канцерогенная и канцеролитическая активности зачастую совмещаются в одном и том же соединении, на что еще в 1947 г. указывалось в работах Хэддоу [119, 120]. В качестве примера можно указать на канцерогенное действие β -хлорэтиламинов и других алкилирующих агентов [116, 121, 122], производных нитрофурана [123, 124], нитрозогуанидинов [125]. Описано канцерогенное трансплацентарное действие таких широкоизвестных противоопухолевых препаратов, как натулан, 5-фторурацил, винбластин, ТиоТЭФ и блеомицин, вызывающих опухоли молочных желез, центральной и периферической нервной системы [126]. Канцерогенное действие установлено для 5-(3,3-диметил-1-триазено)-имидазол-4-карбоксамида (ДТИК, ДТИС), известного химиотерапевтического агента, применяемого для лечения злокачественной меланомы, рака молочной железы и других опухолей. Это соединение вызывает в то же время развитие рака молочных желез и лимфосаркомы тимуса у крыс [127, 128]. Не являются исключением из общего числа противоопухолевых препаратов и НАМ. Многие из них, в частности, НММ, БХНМ и стрептозотоцин, обладают выраженным органотропным канцерогенным и тератогенным действием [129—149].

В настоящее время еще отсутствует достаточная информация для того, чтобы четко определить условия, в которых эти вещества проявляют преимущественно мутагенную, канцерогенную или противоопухолевую активность. Вместе с тем хорошо известно, что биологически активные вещества обычно вообще проявляют весьма разнообразные свойства [150]. Мутагенное действие следует, по-видимому, отнести к наиболее сильным проявлениям биологической активности. В связи с этим поиск эффективных противоопухолевых средств среди веществ, обладающих сильными мутагенными свойствами, следует считать весьма перспективным.

Наши эксперименты, начатые в 1963 г., позволили установить значительную противоопухолевую активность таких мута-

генов, как НММ, НЭМ, НПМ, 1,3-диметил-1-нитрозомочевина (ДМНМ), 1,3-диэтил-1-нитрозомочевина (ДЭНМ) и 1-нитрозо-1-метилбиурет (НМБ), для широкого спектра опухолей животных [151]. Клинические испытания, проводившиеся с 1966 г., подтвердили высокую эффективность НММ при лечении больных лимфогранулематозом и недифференцированными формами рака легкого [152].

В США внимание к производным нитрозомочевины было первоначально вызвано данными, полученными при изучении противоопухолевой активности аналогов 1-метил-3-нитро-1-нитрозогуанидина (МННГ) на асцитной лейкемии L-1210 [153—155].

Затем при проверке действия соединений, близких к нитрозогуанидинам, была обнаружена значительная эффективность алкильных производных нитрозомочевины. Из изученных в эксперименте соединений для клинических испытаний, начатых в 1963 г., была отобрана БХНМ [156—159].

Последующий направленный синтез 250 нитрозопроизводных позволил выявить ЦГНМ, препарат более активный, чем БХНМ, при лейкемии L-1210 [160] и MeЦГНМ, которая была рекомендована для клинического изучения благодаря исключительно высокой эффективности в отношении ряда солидных опухолей, особенно опухоли Льюис [161]. Эти препараты нашли применение при лечении больных лимфогранулематозом, злокачественной меланомой, опухолями желудочно-кишечного тракта, острым лейкозом, а также опухолями мозга и некоторыми другими новообразованиями [162].

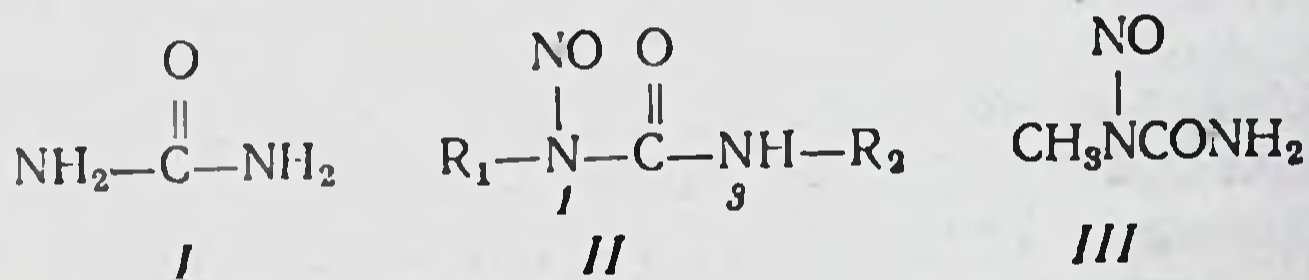
Особый интерес вызывает несомненная эффективность НАМ при лечении больных с первичными опухолями мозга и метастазами в мозг опухолей других локализаций [163—165]. Это действие нитрозопроизводных связано с уникальной для противоопухолевых препаратов способностью проникать через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ). Таким образом, открылись возможности применения химиотерапии в нейроонкологии, имевшей до этого в своем распоряжении главным образом хирургические методы лечения опухолей центральной нервной системы.

Антибиотик стрептозотоцин, представляющий собой производное НММ и 2-деокси-2-глюкозы, выделен в 1960 г. из *Streptomyces ascomogenes*; может быть получен также синтетическим путем [166—168].

Выраженная противоопухолевая эффективность препарата в отношении ряда экспериментальных опухолевых моделей и клеточных культур [111—114] и его специфическое диабетогенное действие [170] послужили основанием для применения стрептозотоцина в лечении больных метастазирующей инсуломой [171].

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И РЕАКЦИИ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Нитрозоалкилмочевины (НАМ) — производные мочевины (I), замещенной по одному или обоим атомам азота и нитрозированной по одному из них, т. е. соединения общей формулы (II). По современной номенклатуре два положения остатка мочевины в производных II обозначают номерами 1 и 3 соответственно (см. формулу).

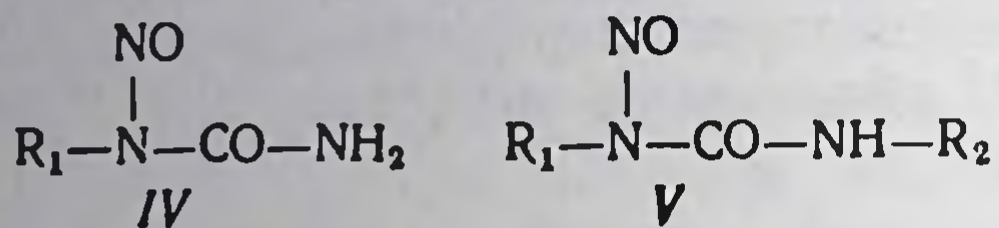


Первые представители класса НАМ были синтезированы около 100 лет назад [172]. Среди них наиболее известен первый член гомологического ряда — 1-метил-1-нитрозомочевина (III), часто для краткости называемая просто нитрозометилмочевинной (НММ). В течение многих лет НАМ не играли самостоятельной роли в органической химии и привлекали внимание главным образом как исходные соединения для синтеза диазометана и его гомологов и аналогов [173, 174]. Стимулом к расширению химического изучения НАМ и развитию методов их синтеза послужило открытие супермутагенной активности, канцерогенных и канцеролитических свойств этих соединений. К настоящему времени описано более ста представителей рассматриваемого класса производных, измерены их основные физико-химические характеристики и изучены важнейшие реакции. Однако, поскольку в большинстве случаев интерес к НАМ носил преимущественно прикладной характер, фундаментальные вопросы химии этого класса соединений, в частности вопросы реакционной способности, разработаны недостаточно, механизмы основных реакций выявлены не полностью.

В литературе отсутствуют сколько-нибудь полные обзоры по органической и физической химии нитрозоалкилмочевин, а существующая обобщающая литература [95] посвящена их биологическим свойствам и медицинскому применению и почти не затрагивает вопросов химии этих соединений. Поэтому в настоящей главе в сжатой форме дается характеристика НАМ как класса органических соединений, причем основное внимание уделяется тем физическим и химическим свойствам, которые представляются существенными для поведения этих веществ в живых системах.

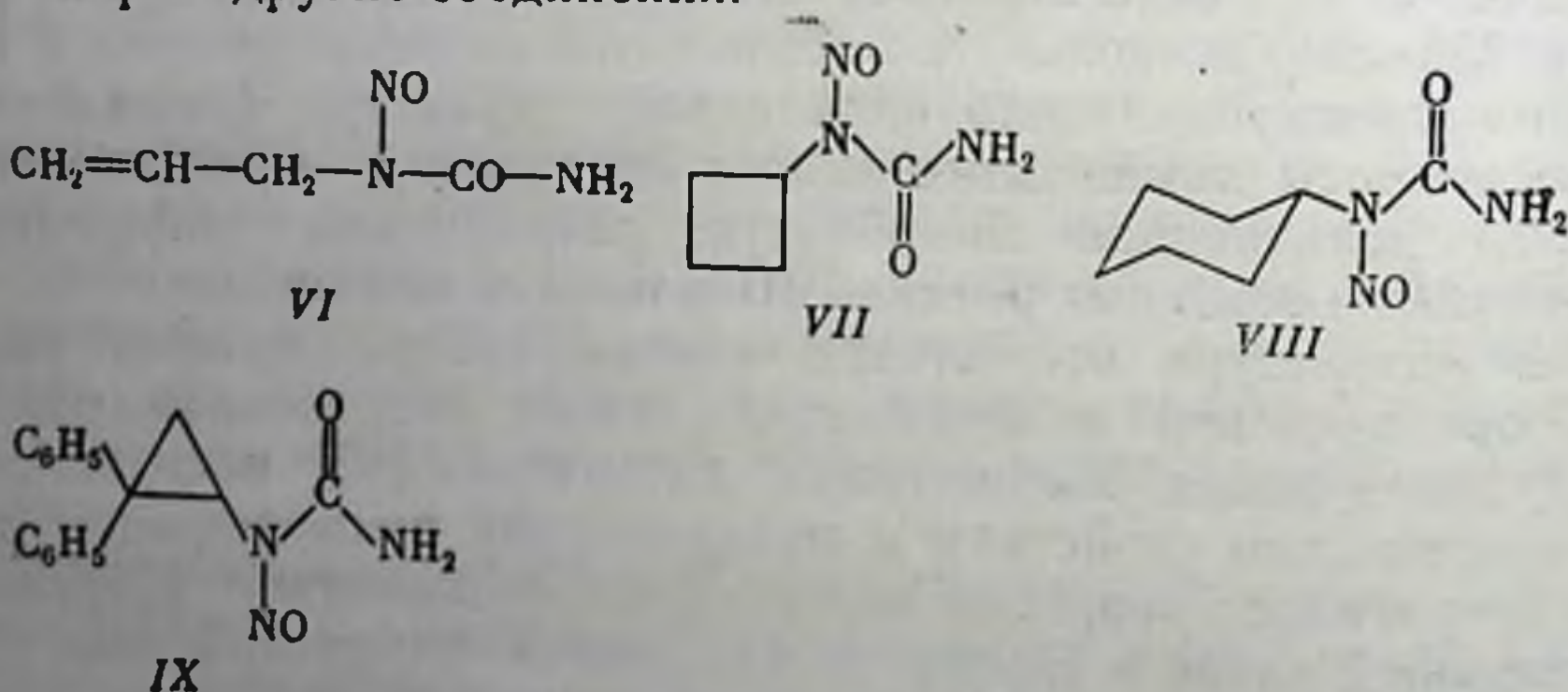
Структура известных нитрозоалкилмочевин

С точки зрения вопроса, которому посвящается настоящая монография, наиболее важны два структурных типа нитрозованных алкилмочевин: монозамещенные общей формулы IV и двузамещенные общей формулы V.



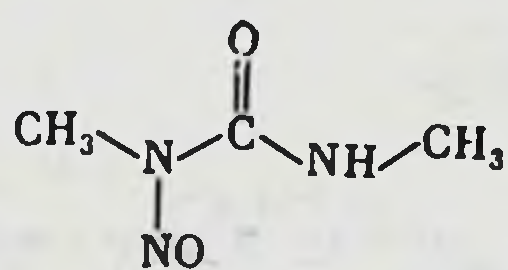
За последнее десятилетие была синтезирована серия таких производных, позволяющая вести систематический поиск соединений, оптимальных с точки зрения их биологического действия. Полученные вещества и основные направления изменений их структуры можно охарактеризовать следующим образом.

Монозамещенные НАМ (IV). Сюда входят простейший представитель — НММ (III) [175], ее гомологи и структурные аналоги. Диапазон структур уже известных соединений этого типа сравнительно невелик и ограничивается главным образом простыми углеводородными радикалами при атоме азота. Таковы простейшие гомологи родоначального соединения (например, IV, $\text{R}_1-\text{C}_2\text{H}_5$, $n\text{-C}_4\text{H}_9$ —, $n\text{-C}_8\text{H}_{17}$ —, 1-бензил-1-нитрозомочевина [176, 177], 1-аллил-1-нитрозомочевина (VI) [178], а также алициклические производные, такие как 1-циклобутил-1-нитрозомочевина (VII) [179], 1-циклогексил-1-нитрозомочевина (VIII) [180], 1-2,2-дифенилциклопропил-1-нитрозомочевина (IX) [181] и некоторые другие соединения.

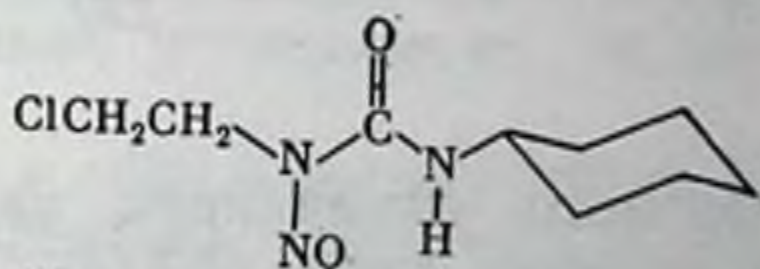


Двузамещенные НАМ (V). К этому типу относится основная часть известных к настоящему времени НАМ. Несмотря на большое разнообразие возможностей, заключенных в общей структуре (V), и большое число известных представителей, соединения этого типа характеризуются сравнительно простыми вариациями структуры. Среди них преобладают вещества, содержащие в различной комбинации простейшие углеводо-

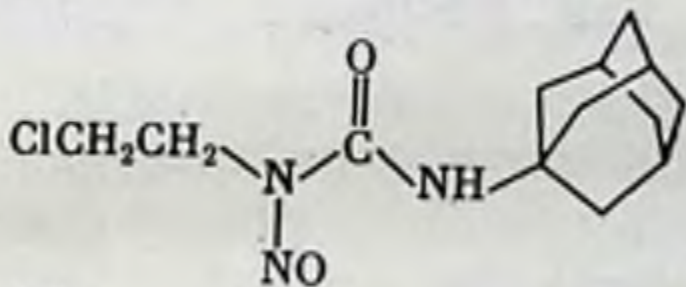
родные остатки (аналоги и гомологи 1,2-диметил-1-нитрозомочевины) (X) [182], производные НММ (III), алкилированные по N-3 [183], и особенно многочисленны соединения, в которых заместитель R₁ представлен 2-галогенэтильной группой (структурные аналоги азотистых ипритов). Большая серия таких соединений [183, 184] включает следующие основные структуры: 1-2-хлорэтил-3-циклогексил-1-нитрозомочевина (XI) и ее многочисленные производные, замещенные в циклогексильном остатке, такие как 4-метил-, 4-трет-бутил-, 4-хлор-, 2-хлор- и др.; другие алициклические производные с такими остатками в положении 3, как циклопентильный, норборнильный, адамантильный (например, XII) и т. п.; ароматические соединения, в том числе функционализированные, например, производное антраиловой кислоты (XIII), и, наконец, функционализированные алифатические, алициклические и гетероциклические производные, примерами которых могут служить соединения (XIV—XV) [183, 184] и (XVI) [185]. В рамках описываемой группы соединений варьировали также структуру 2-галогеналкильного остатка в положении 1 [183]. Так, были получены, например, 2-фторэтильные, 2-хлор-1,1-диметильные, 2-хлорпропильные и некоторые другие аналогичные производные.



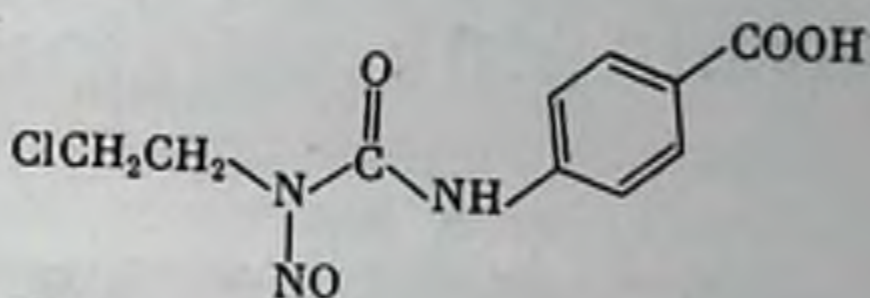
X



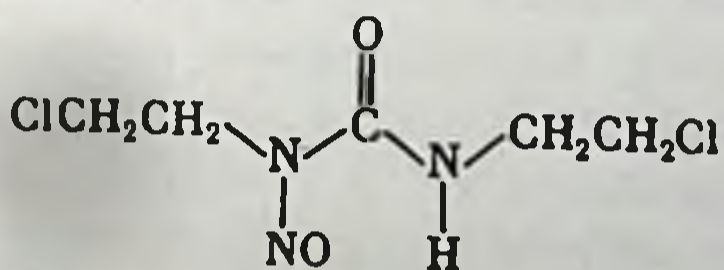
XI



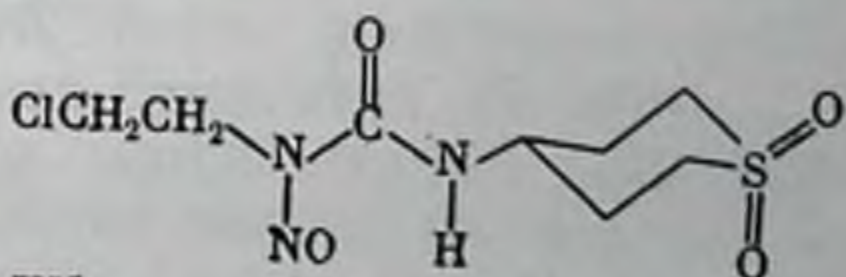
XII



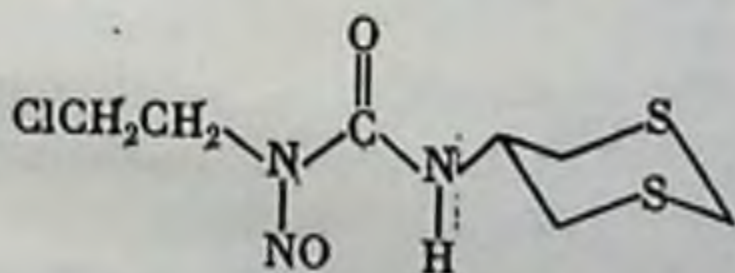
XIII



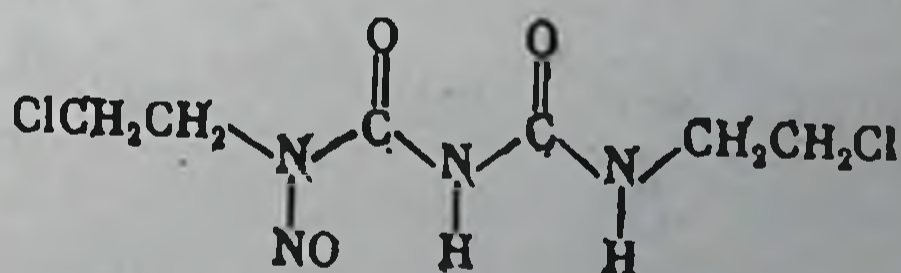
XIV



XV



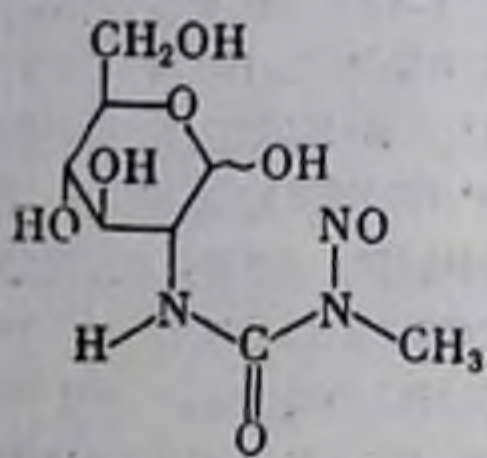
XVI



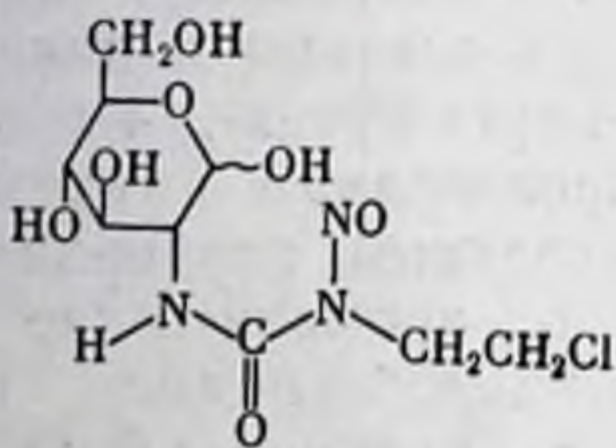
XVII

Особый класс двузамещенных НАМ открывается антибиотиком стрептозотоцином (XVIII) [168] и его синтетическим аналогом хлорозотоцином (XIX) [186, 187]. Эти соединения, вклю-

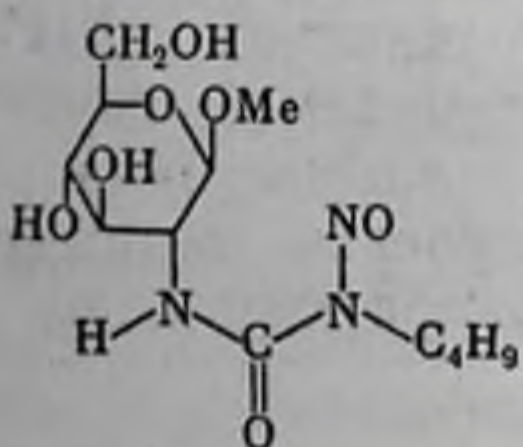
чающие фрагмент природного метаболита — Д-глюкозамина, — потенциально весьма перспективны и открывают большие возможности для синтеза аналогов. В качестве примера можно привести производные метилгликозида (XVIII) [188] и N-глюкозил-мочевины (XXI) [189].



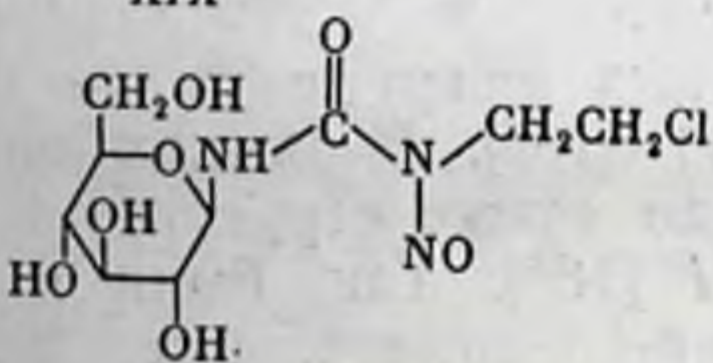
XVIII



XIX

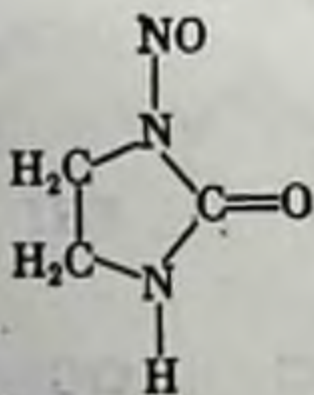


XX

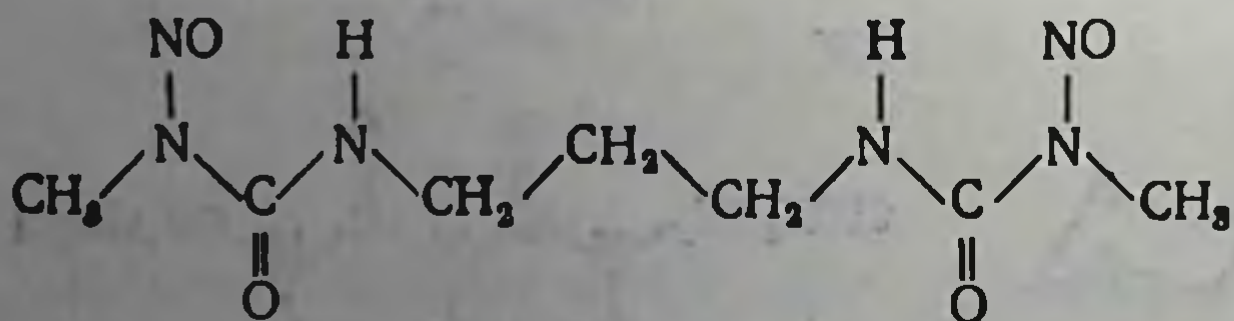


XXI

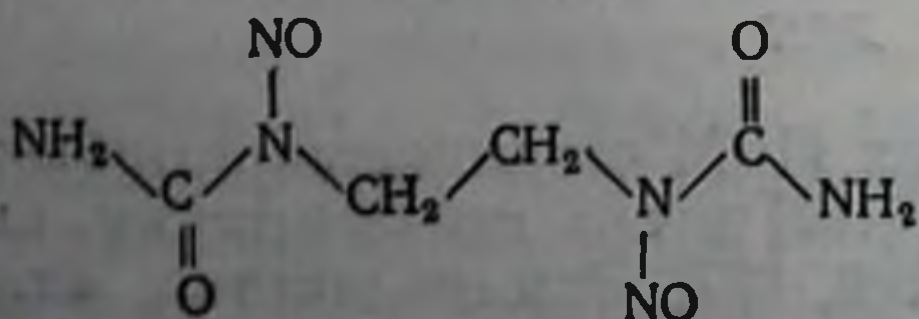
Отдельного упоминания заслуживают циклические производные мочевины типа (XXII) [190] и соединения, включающие два нитрозомочевинных фрагмента, как, например, производные (XXIII) [157] и (XXIV) [191].



XXII

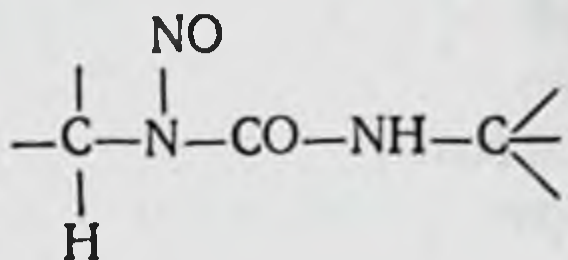


XXIII



XXIV

Наряду с соединениями, имеющими природный изотопный состав, описано несколько производных НАМ, меченных ^{14}C [192—195], ^3H [196] и ^{15}N [197] по различным положениям системы атомов



Физические свойства нитрозоалкилмочевин

Температуры плавления; агрегатное состояние. За исключением нескольких соединений, жидких при комнатной температуре (например, 1,3-диэтил-1-нитрозомочевина), чистые НАМ представляют собой сравнительно низкоплавкие кристаллические вещества. Из-за значительной термической нестабильности они, как правило, плавятся с разложением, вследствие чего их температуры плавления часто не являются истинными характеристиками фазового перехода. Поэтому эти константы вряд ли могут быть хорошо воспроизводимы и не могут рассматриваться в качестве надежного критерия идентичности или индивидуальности этих веществ. Кристаллографические исследования каких-либо представителей нитрозоалкилмочевин, по-видимому, не проводились.

Растворимость. Растворимость в воде и органических растворителях — весьма существенное свойство НАМ как биологически активных соединений, так как ею в значительной степени определяются возможность введения этих соединений в организм, их фармакокинетика и способность проникать в те или иные органы, ткани, клетки и различные внутриклеточные структуры.

Центральная группировка НАМ — остаток нитрозированной мочевины — хотя и обладает полярностью и может служить акцептором при образовании водородных связей, тем не менее недостаточно гидрофильна для того, чтобы обеспечить хорошую растворимость в воде даже низших гомологов. В связи с этим типичные НАМ с малополярными заместителями характеризуются малой (а для высших гомологов весьма малой) растворимостью в воде и хорошей растворимостью в большинстве органических растворителей. Положение существенно меняется, если заместители, входящие в состав НАМ, содержат полярные гидрофильные группировки. Наиболее четким примером в этом отношении может служить стрептозотоцин, обладающий высокой растворимостью в воде [198] и ограниченной — в малополярных органических растворителях. Что касается НАМ с простыми углеводородными радикалами в молекуле, то наилучшими растворителями для них могут служить ацетон, диметилформамид и диметилсульфоксид.

Было предложено [199] характеризовать относительную гидрофильность и липофильность НАМ логарифмом коэффициента распределения P этих соединений между n -октанолом и водой: $\lg P$, $P = C_o/C_w$, где C_o и C_w равновесные концентрации вещества соответственно в октанольной и водной фазах двухфазной системы.

Можно полагать, что эта величина достаточно близка и во всяком случае симбатна коэффициенту распределения между липидными и водными фазами клетки.

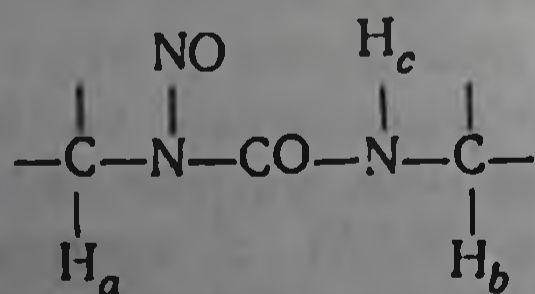
Спектры НАМ. Колебательные спектры. Наряду с обычными полосами поглощения, свойственными амидной аминогруппе и радикалам, входящим в состав той или иной НАМ, для соединений этого класса характерны две интенсивные полосы поглощения в ИК-спектрах. Это валентные колебания группы —NO, которые для большой группы соединений [184, 200] лежат в пределах $1480—1490 \text{ см}^{-1}$, так же как и для других N-нитрозосоединений [201]. Эта частота весьма устойчива и практически не зависит от структуры заместителей.

Другая полоса — валентные колебания амидного карбонила $[\text{—}\overset{\text{NO}}{\underset{|}{\text{N}}}\text{—CO—N—}]$, которая вследствие нитрозирования аминогруппы смещена приблизительно на 50 см^{-1} в сторону более высоких частот и попадает в область между 1700 и 1730 см^{-1} [157, 183, 184, 200, 202].

Электронные спектры. Основной максимум в электронном спектре типичных НАМ находится при $225—240 \text{ нм}$ ($\lg \epsilon = 3,74 \div 3,88$) и соответствует, по-видимому, $\pi \rightarrow k^*$ переходу в карбонильной группе [203, 204]. Второй максимум, отвечающий, вероятно, аналогичному переходу в нитрозогруппе, лежит на грани ультрафиолетовой и видимой областей ($\lambda_{\text{max}} 390 \div 400 \text{ нм}$ [$\lg \epsilon \approx 2$]) [205, 206]. Именно этим максимумом обусловлена желтая или красновато-желтая окраска всех известных НАМ.

ЯМР-спектры. Изучены только спектры ПМР нитрозоалкилмочевины. В них отмечено мало характерных особенностей, связанных собственно с функциональной группировкой

$\text{—}\overset{\text{NO}}{\underset{|}{\text{N}}}\text{—CO—N—}$. Определенная информация может быть получена лишь из сигналов протонов заместителей H_a и H_b (формула XXV)



XXV

Протон H_a (если он входит в состав углеводородного радикала) имеет химический сдвиг (в шкале σ) около 3,1 м. д. и не обнаруживает дополнительного спин-спинового взаимодействия

с протоном остатка нитрозированной мочевины [52, 183, 200]. Так, в случае НММ это характерный синглет в районе 3,10 м. д. Для протона Н_b появляется дополнительное расщепление за счет спин-спинового взаимодействия с протоном Н_c [52]. Эта особенность позволяет, в частности, различить изомеры положения нитрогруппы в несимметрично замещенных НАМ [13].

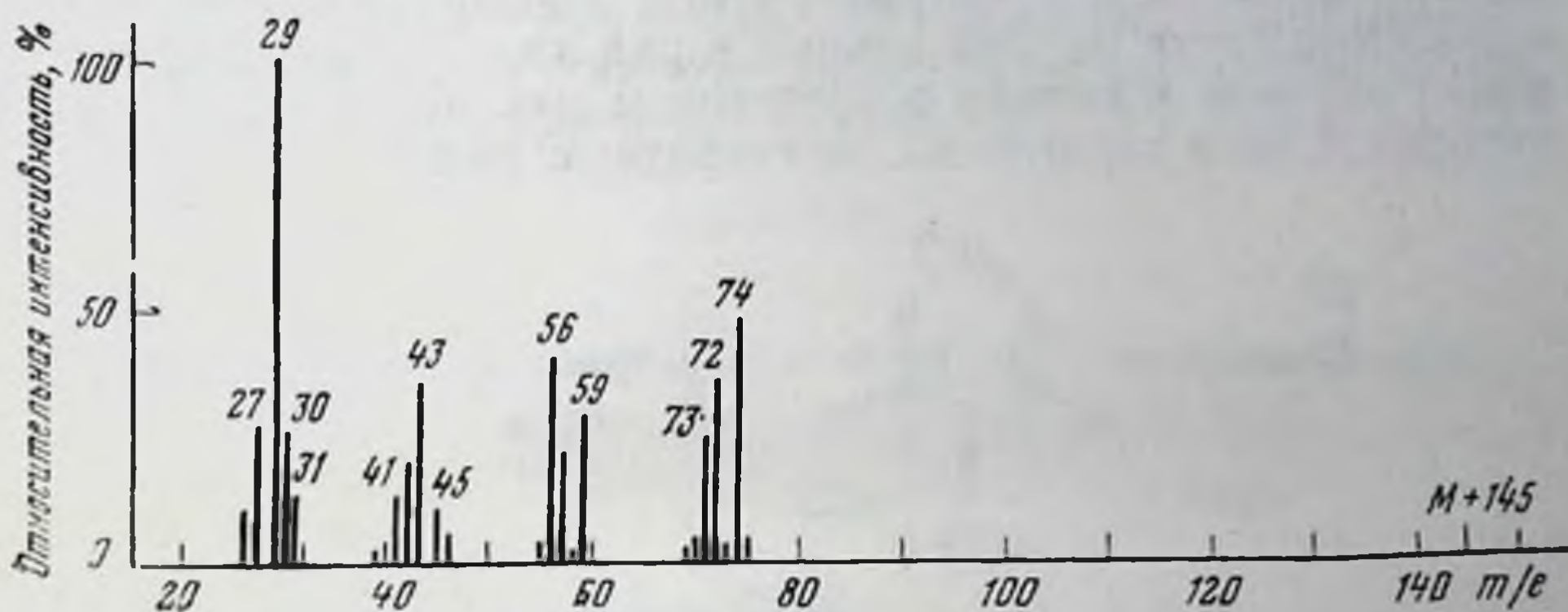


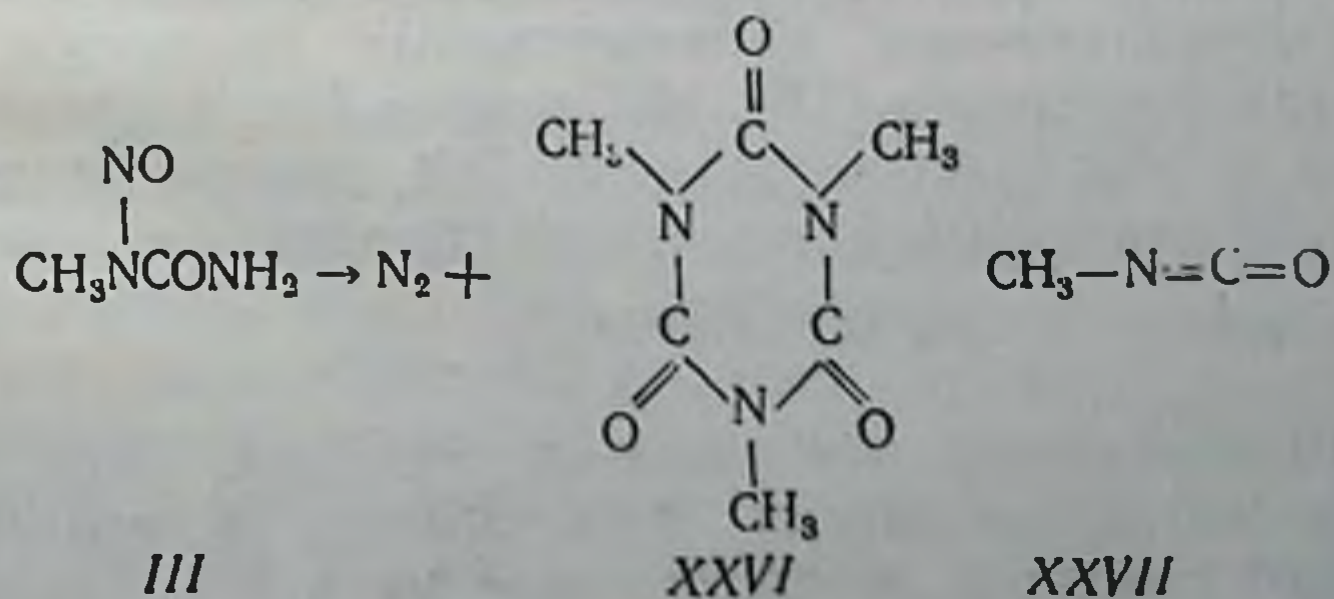
Рис. 4. Масс-спектр 1,3-диэтил-1-нитрозомочевины
Снят на приборе МХ-1303 при ионизирующем напряжении 30 В

Масс-спектры. В литературе данные о масс-спектрах НАМ отсутствуют. На рис. 4 приведены масс-спектры ДЭНМ, полученные в ИХФ АН СССР.

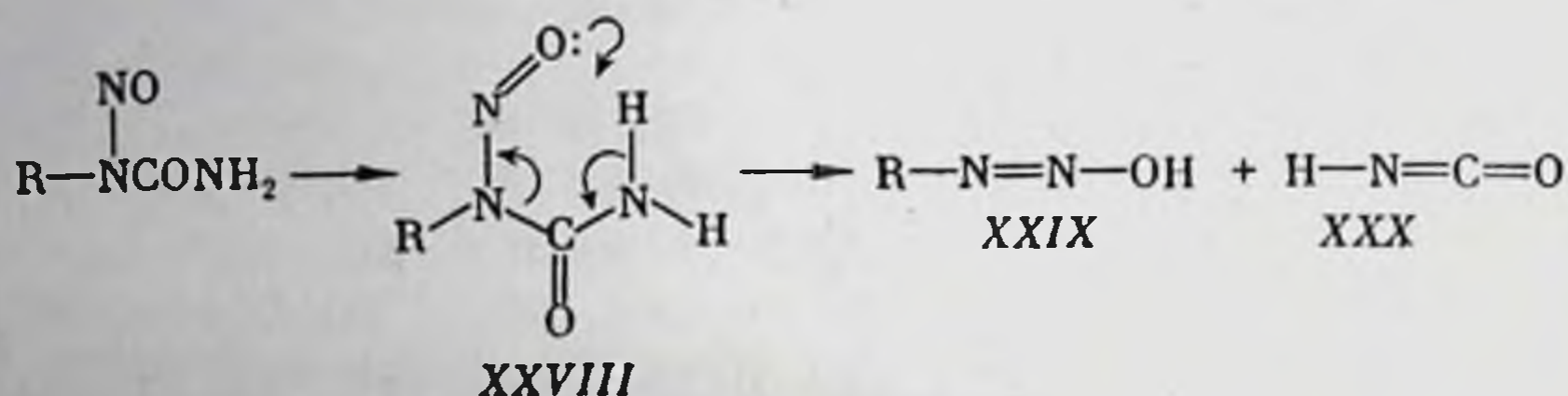
Химические свойства НАМ

НАМ представляют собой весьма реакционноспособные и нестойкие соединения. Наиболее характерны для них реакции, катализируемые щелочами, кислотный гидролиз и пиролиз. Другие нуклеофильные или электрофильные реакции НАМ, свободнорадикальные и фотохимические реакции этих соединений практически не изучены.

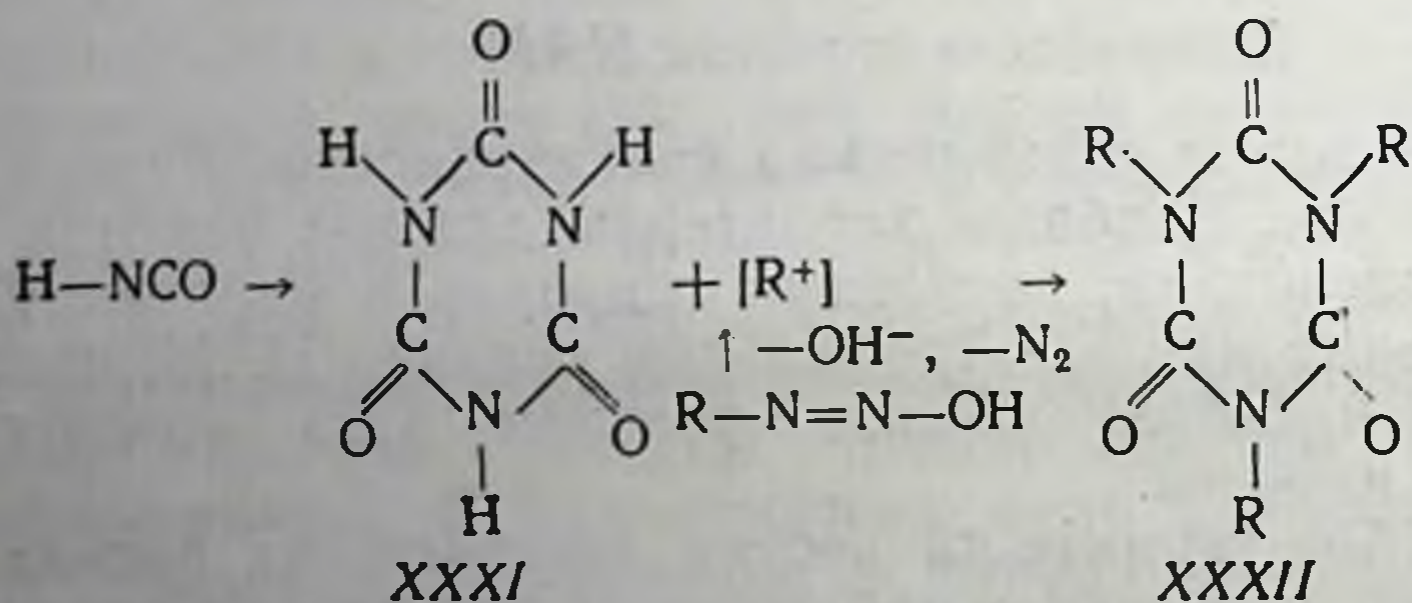
Пиролиз. НАМ термически весьма нестойки, их распад по пиролитическому пути может наблюдаться уже при их хранении и особенно характерен при нагревании в инертных растворителях типа бензола или толуола. Для НММ основными продуктами являются триметилцианурат (XXVI) и азот [197, 207].



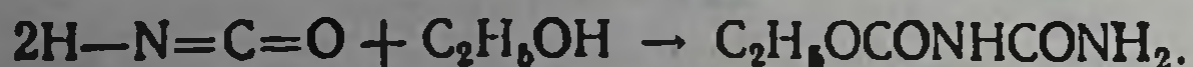
Можно было предполагать, что цианурат (XXVI) образуется в результате тримеризации метилизоцианата (XXVII), одного из продуктов распада соединений (III) (см. ниже). Однако оказалось, что в условиях такого пиролиза метилизоцианат неспособен к тримеризации [208]. Кроме того, показано [197], что в состав тримера (XXVI) входит только атом азота N-3, а те атомы, которые входили в N-нитрозо-группу, выделяются в виде элементарного азота N₂. Эти данные и ряд дополнительных соображений привели к выводу о следующем механизме термического распада НАМ в апротонных растворителях [208]:



В шестичленном переходном состоянии (XXVIII) происходят перенос протона от амино-группы к нитрозо-группе, сдвиг электронов и образование диазогидроксида (XXIX) и изоциановой кислоты (XXX). Тримеризация последней дает циануровую кислоту (XXXI), а ее алкилирование карбониевым ионом, образующимся при распаде соединения (XXIX), ведет к триэфиру (XXXII):



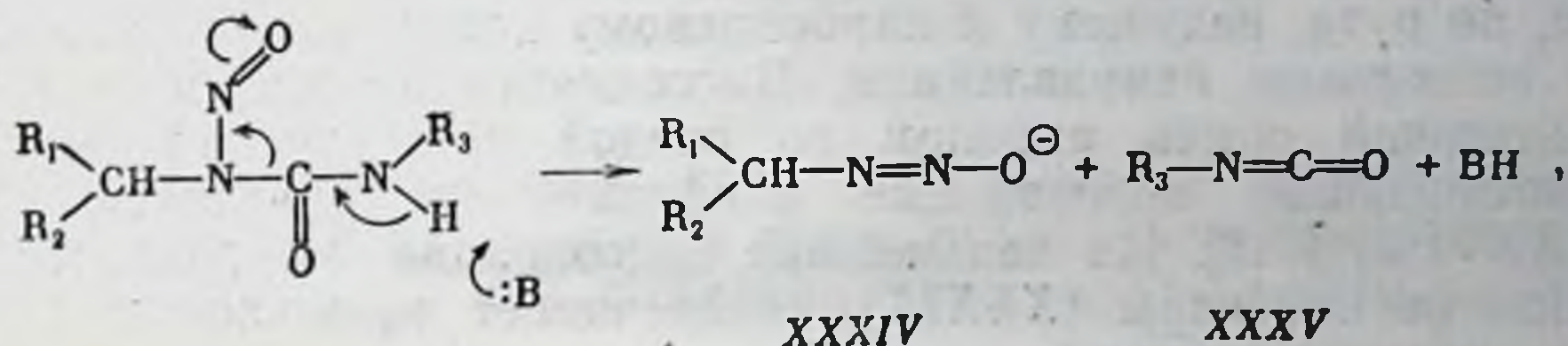
По-видимому, аналогичные процессы могут протекать при распаде НАМ в нейтральных спиртовых растворах. В этих случаях, однако, на состав продуктов значительное влияние оказывают реакции высокоактивных промежуточных продуктов со средой. Так, в этиловом спирте [176, 197] распад НММ приводит преимущественно к этилаллофанату (XXXIII), образуемому вследствие реакции изоциановой кислоты со спиртом:



Реакции, катализируемые основаниями. Реакции, катализируемые основаниями (сюда входят, по-видимому, и основные превращения НАМ в водных средах со значением рН, близким

к нейтральному), относятся к числу наиболее важных и в наибольшей степени изученных сторон реакционной способности НАМ. Механизм основных стадий, участвующих в этих процессах, в настоящее время представляется следующим [181, 186, 209—212].

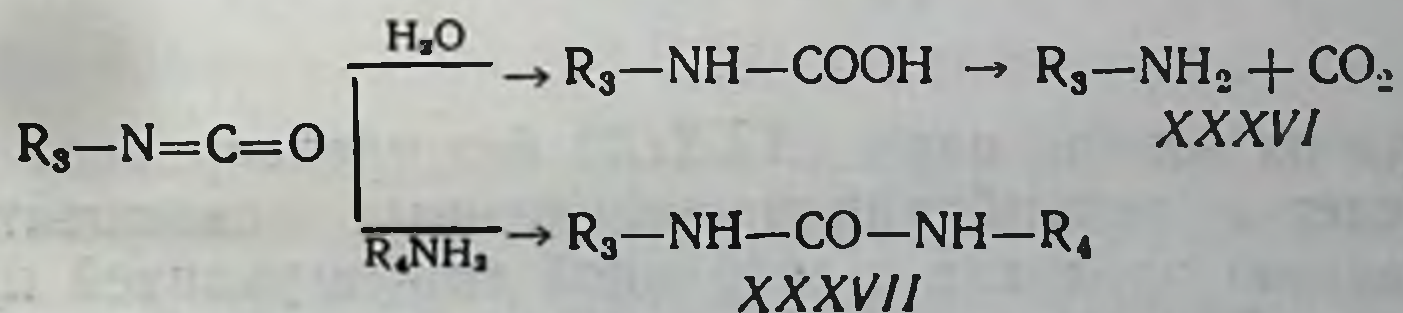
Первичным актом является ионизация амидной группы с последующим (по всей вероятности, синхронным) распадом образующегося аниона на diazotate (XXXIV) и изоцианат (XXXV) (либо изоциановую кислоту при $R_3 = H$):



где B — основание (например, OH).

На этой стадии образуются ключевые соединения, определяющие основной спектр продуктов, катализируемых основаниями реакций НАМ с нуклеофильными агентами и реакций сольволиза, в частности гидролиза. Конкретные направления дальнейших реакций diazotate и изоцианата существенным образом зависят от состава реакционной среды.

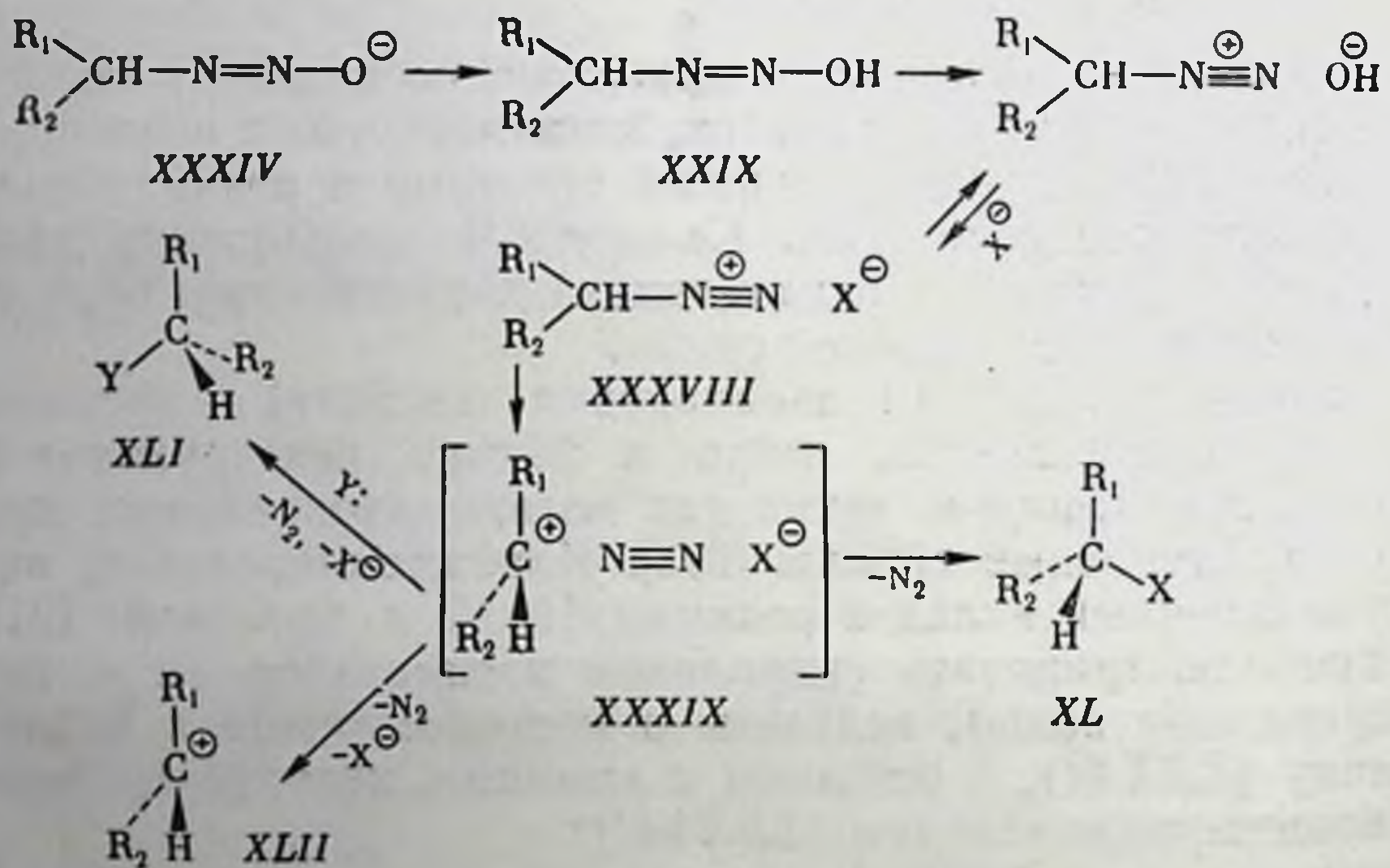
Изоцианаты (XXXV) (и изоциановая кислота) — активные карбамоилирующие агенты, легко и быстро реагирующие со множеством нуклеофилов, таких как вода, гидроксильные, аминс- и сульфгидрильные группы [213]. Карбамоилирование, вносящее существенный вклад в реакции НАМ в организме [214], можно проиллюстрировать гидролизом изоцианатов (т. е. карбамоилированием воды), ведущим в конечном итоге к первичному амину (XXXVI), и реакцией с аминами, которая приводит к двузамещенным мочевинам (XXXVII):



Алифатические diazotate типа (XXXIV) — промежуточные продукты в реакциях не только НАМ, но и ряда других родственных соединений, таких как нитрозоуретаны, нитрозоамины, нитрозамиды и др. [215]. В частности, эти соединения фигурируют как промежуточные продукты в такой важной реакции, как дезаминирование алифатических аминов. Поэтому реакции diazotate изучены довольно подробно и продолжают исследоваться до сих пор и в качестве модели для выяснения весьма тонких

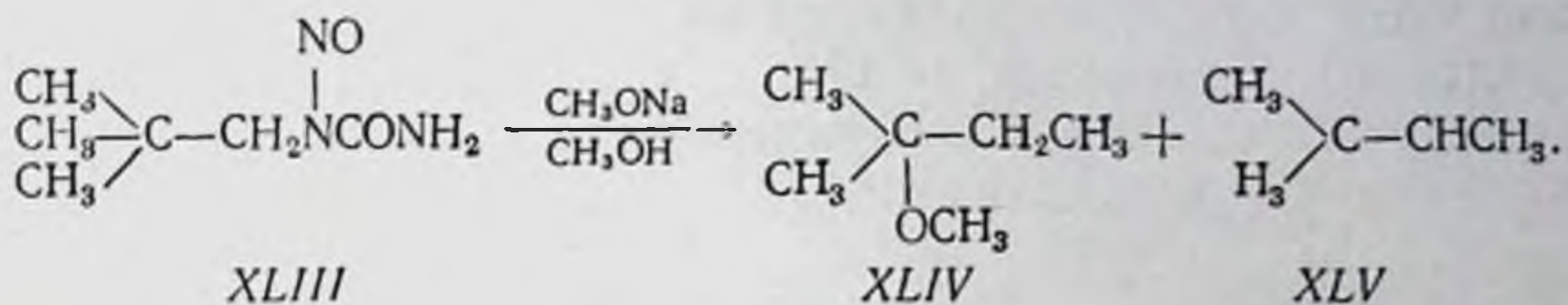
особенностей механизма ионных органических реакций, и в качестве объекта, представляющего самостоятельный интерес [216, 217]. Реакции диазотатов и возможные направления заключительных стадий катализируемых щелочью реакций НАМ рассматриваются не только в работах, непосредственно посвященных изучаемым нами соединениям, но и в работах по диазотатам [215].

В средах с умеренной или низкой основностью анион диазотата (XXXIV) подвергается протонированию, ведущему к образованию диазогидроксида (XXIX). Распад последнего (в частности, по пути, ведущему к карбониевому иону) может протекать по нескольким направлениям. Диссоциация до диазония и последующий обмен анионом со средой дают весьма реакционноспособные производные алифатических диазониев типа (XXXVIII) [218]. Их дальнейшая диссоциация до разделенной газом ионной пары (XXXIX) обеспечивает возможность серии последующих реакций.



Выброс азота из ионной пары (XXXIX) без предварительной диссоциации ведет к рекомбинации заряженных компонентов пары и образованию продукта с сохраненной конфигурацией при углеродном атоме (XL). Атака нуклеофила (в частности, растворителя) из среды на карбониево-ионный компонент пары (XXXIX) приводит к образованию продукта с обращенной конфигурацией (XLI). Наконец, диссоциация ионной пары приводит к образованию карбкатиона (XLII). Последний, будучи, как правило, короткоживущей и чрезвычайно реакционноспособной частицей, реагирует с ближайшим нуклеофилом (например, с растворителем — водой), либо подвергается изомеризации, столь характерной для карбониевых ионов, либо, наконец, элиминации

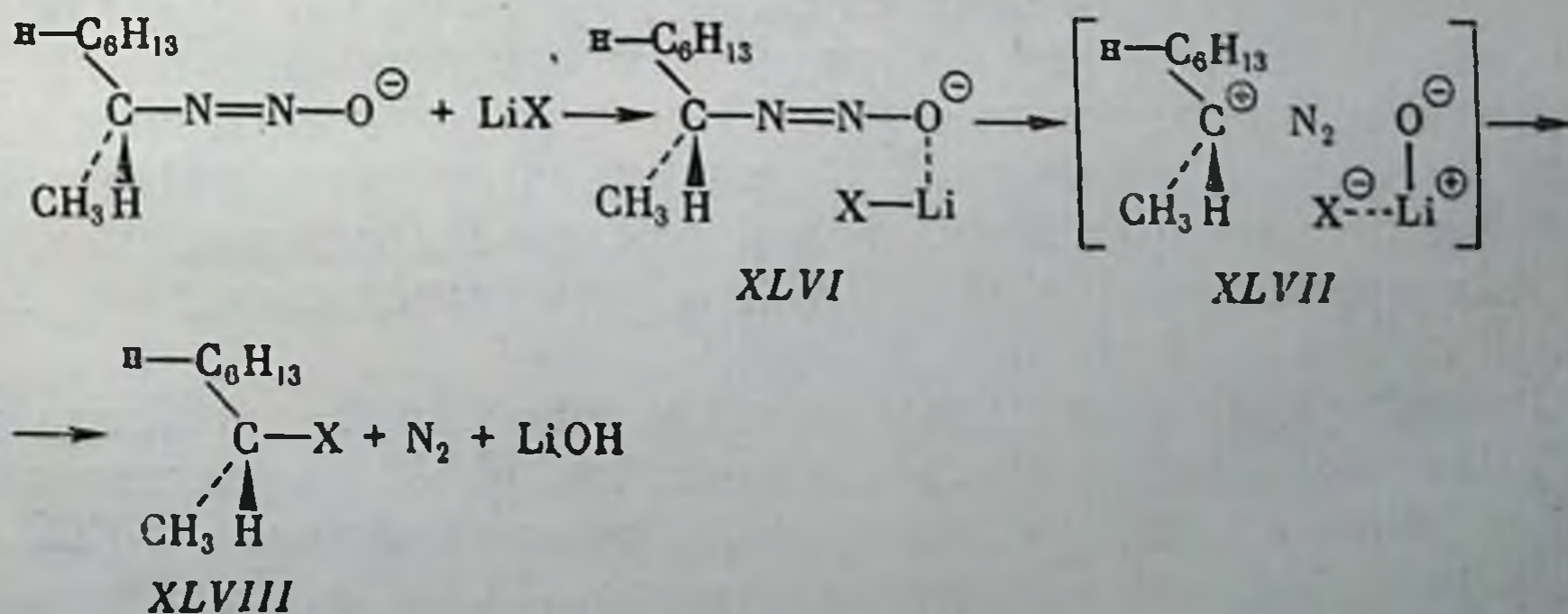
с образованием олефина (подробнее о химии карбониевых ионов см. [219—221]). Примером такого рода реакций может служить протекающий с изомеризацией метанолиз 1-неопентил-1-нитрозомочевины (XLIII), ведущий к образованию метилового эфира (XLIV) и сопровождающийся элиминацией с образованием олефина (XLV) по суммарной схеме [222]:



Основным результатом этого цикла реакций является алкилирование присутствующего в среде нуклеофила или растворителя с введением в него радикала, первоначально присоединен-

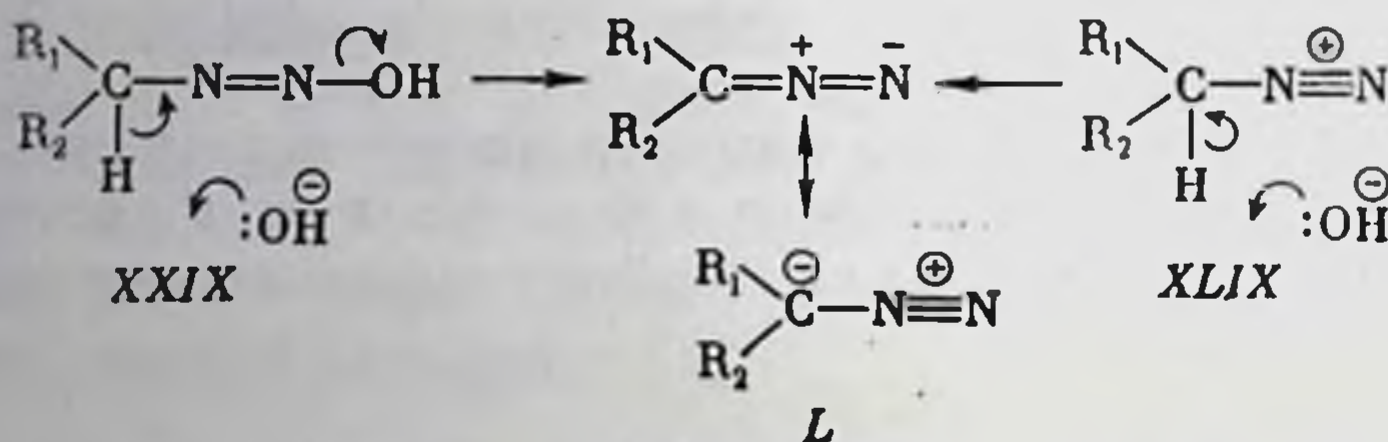
ного к группе —N—CO в исходной НАМ. Такое направление реакции играет важную роль в биологической активности НАМ. Необходимо также обратить внимание на возможность образования спиртов в результате алкилирования воды. Это существенно, так как некоторые из них, например, 2-хлорэтанол, являющийся нормальным продуктом распада 1-(2-хлорэтил)-1-нитрозомочевин в воде [210, 211], сами по себе обладают высокой биологической активностью.

Помимо указанных реакций, диазотаты типа (XXXIV) могут реагировать с нуклеофилами и более сложным механизмом с непосредственным вовлечением в переходное состояние добавленной к реакционной системе соли. Было, например, показано [217], что в среде гексаметанола соли лития способны образовывать с октан-2-диазотатом комплексы типа (XLVI), которые далее диссоциируют до разделенного газом ионного ассоциата (XLVII). Рекомбинация компонентов последнего ведет к продукту реакции карбониевого иона с анионом соли, но с сохранением конфигурации (XLVIII) и с выбросом азота:

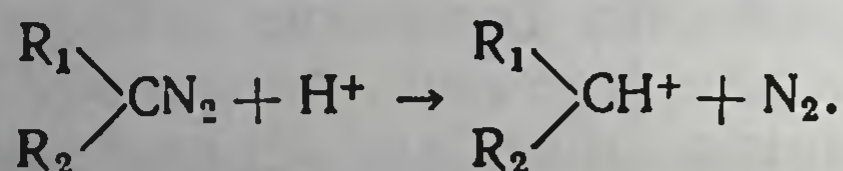


Возможность непосредственного участия соли в переходном состоянии реакции распада диазотата, протекающей в полярной среде, позволяет понять зависимость скорости распада НАМ в водных растворах от ионного состава примененного буфера при заданном рН [210, 223].

В сильно щелочных средах диазотаты подвергаются превращению иного типа. Атака аниона на атом водорода С—Н-связи нейтрального соединения (XXIX) либо диазония (XLIX) [177] приводит к продукту с сохранением обоих атомов азота — к диазоалкану (L) по схемам:



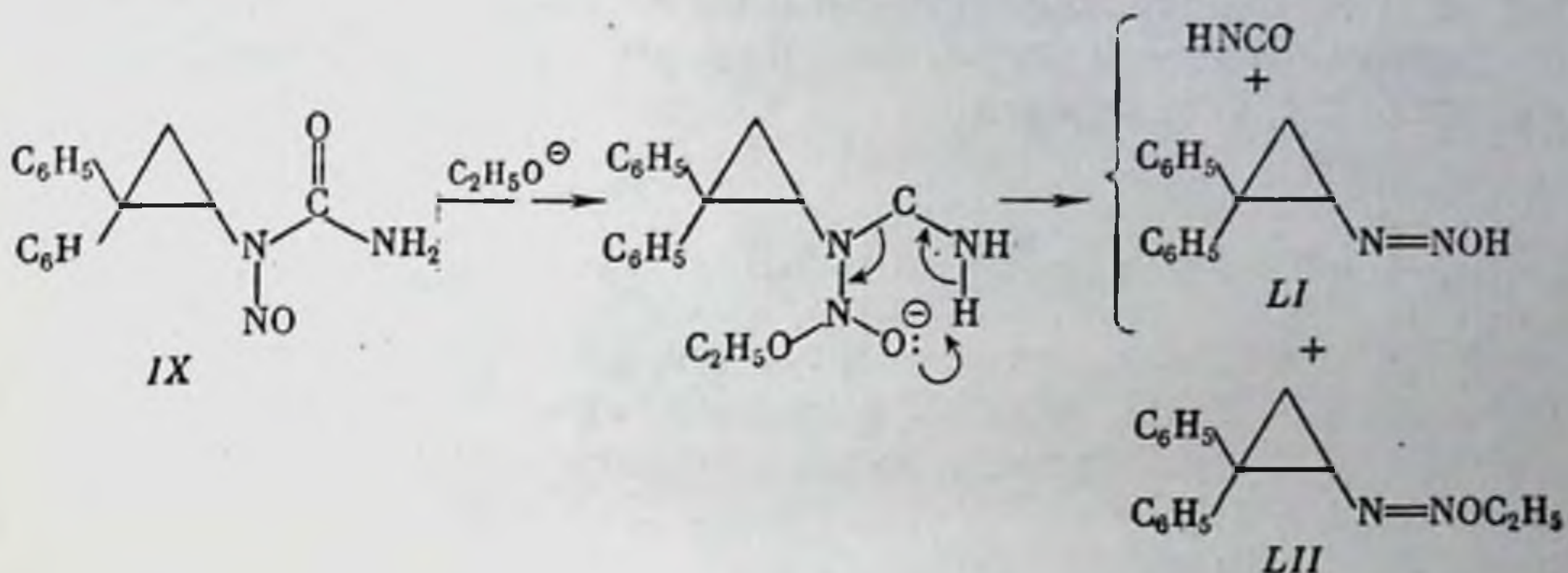
Эта реакция лежит в основе важнейших методов получения диазоалканов, в том числе диазометана [173, 174]. Соединения такого типа обладают высокой и чрезвычайно многообразной реакционной способностью и, в частности, являются сильными алкилирующими агентами. Однако в отличие от исходных диазотатов, диазоалканы способны алкилировать лишь при наличии кислотного катализатора, так как первой стадией такой реакции является присоединение протона с образованием карбониевого иона:



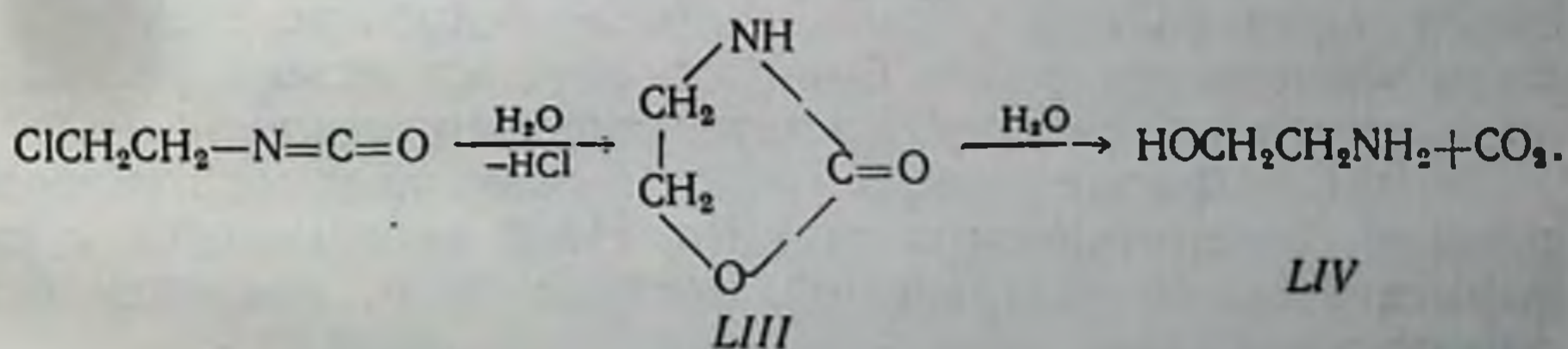
Такое различие в механизмах алкилирования позволяет различить экспериментально два пути алкилирования диазотатами с помощью соединений, меченных по водороду, так как в случае «диазоалканового» пути алкилирования один из атомов водорода, входящих в состав продукта, ведет свое происхождение из среды. Подобная возможность была, например, реализована при изучении путей алкилирования метанола и карбоновой кислоты продуктами, образующимися из 1-бензил-1-нитрозомочевины в среде протонных растворителей, меченных дейтерием [177]. Аналогичный подход был использован для доказательства того, что при алкилировании НММ ДНК *in vivo* «диазометановый» путь не играет заметной роли.

Следует указать на существование еще одной трактовки механизма образования диазоалканов из НАМ, предложенной, правда, лишь в одной работе применительно к реакции 1-(2,2-дифенил-циклопропил)-1-нитрозомочевины (IX) с этилатом лития в сухом эфире [181]. Авторы цитируемой работы пришли к за-

ключению, что ключевой стадией реакции является атака этилата на нитрозо-группу с последующим распадом интермедиа до изоциановой кислоты и нейтральных соединений (*LI*) и (*LII*), ведущих далее к образованию диазо-соединения по схемам, аналогичным рассматривавшимся выше:



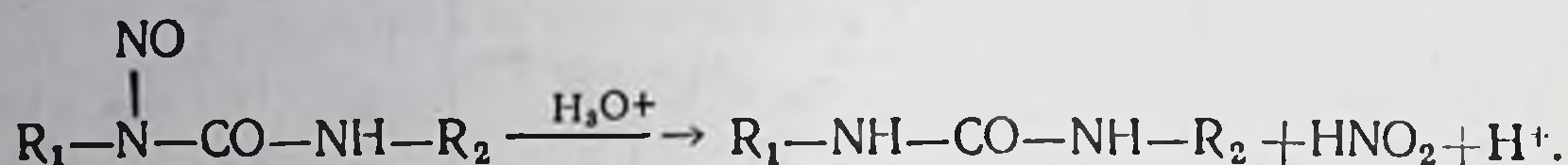
На основной спектр реакций НАМ в щелочных средах могут, естественно, накладываться специфические реакции радикалов, входящих в состав этих соединений, если они содержат те или иные функциональные группы. Из примеров такого рода заслуживает упоминания распад НАМ, содержащих 2-хлорэтильный остаток [210, 211]. В этом случае наряду с обычными продуктами, происхождение которых легко объяснить в рамках рассматривавшихся общих схем превращений НАМ (таких как 2-хлорэтанол, 2-хлорэтиламин, винилхлорид, дихлорэтан, ацетальдегид и др.), образуется и ряд других соединений связанных с реакциями собственно 2-хлорэтильной группировки. Щелочной гидролиз последней приводит к образованию соляной кислоты и закислению среды, что отражается на направлении основных реакций. 2-Хлорэтилизоцианат — один из нормальных продуктов реакции — может претерпевать гидролиз с циклизацией, ведущей к образованию оксазолидинона (*LIII*), а его последующий гидролиз дает этаноламин (*LIV*):



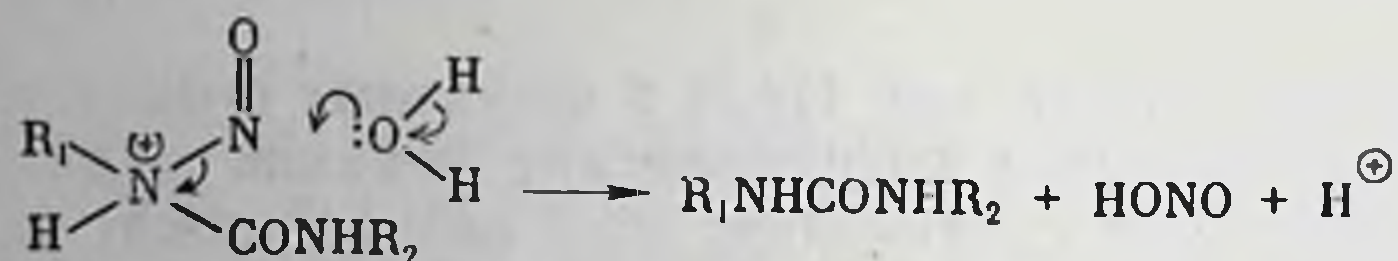
Необходимо заметить, что все перечисленные реакции НАМ (за исключением, может быть, образования диазоалканов) могут протекать в физиологических условиях — в водных растворах со значением рН, близким к 7, и температурах порядка 20—40°. Поэтому сложная и многогранная реакционная способность НАМ

имеет непосредственное отношение к их поведению в организме, а весь спектр продуктов, которые могут образовываться при их реакциях, необходимо учитывать при анализе биологической активности этих соединений.

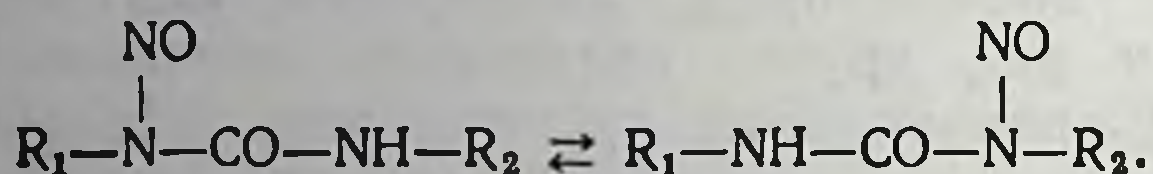
Кислотно-катализируемый гидролиз. В кислых средах (рН около 1–3) нитрозоалкилмочевины подвергаются кислотному гидролизу, приводящему к замещенным мочевинам и азотистой кислоте [224, 225] по схеме:



Можно полагать, что эта реакция, обратная основному пути образования НАМ, включает протонирование атома азота в положении 1 с последующей нуклеофильной атакой воды на нитрозо-группу по схеме:



Родственной кислотному гидролизу реакцией является изомеризация несимметричных НАМ, протекающая в среде безводной муравьиной кислоты и ведущая к равновесной смеси изомеров положения нитрозо-группы [212]:



К сожалению, имеющиеся данные о зависимости положения такого равновесия от структуры заместителей R_1 и R_2 [212] недостаточны.

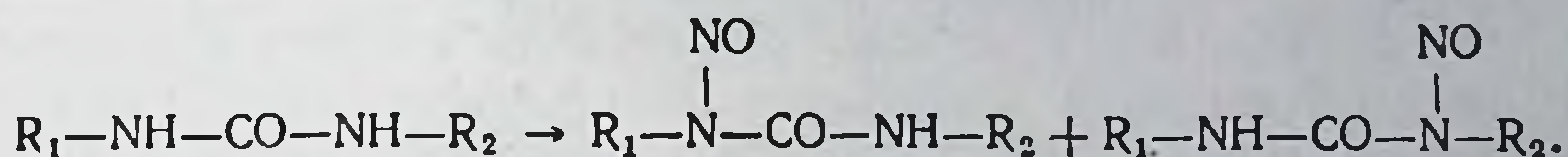
Фотолиз НАМ. Все НАМ светочувствительны и склонны к разложению при облучении видимым и особенно ультрафиолетовым светом [223]. К сожалению, более подробных сведений, нежели констатация факта быстрого фотолитического распада, о фотохимии этих соединений в литературе не имеется.

Ферментативные реакции НАМ. Помимо обычных химических реакций, осуществляемых *in vitro*, НАМ подвергаются и ряду ферментативных превращений, которые более подробно будут рассмотрены ниже.

Синтез НАМ

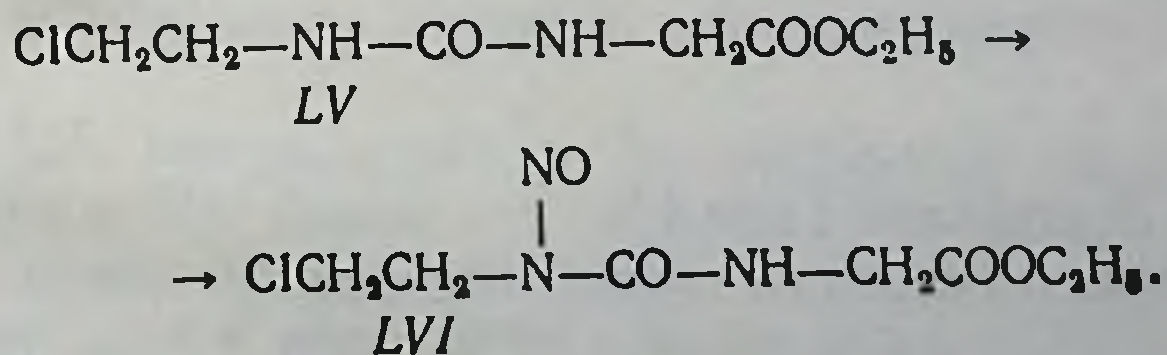
Как было видно из предыдущего раздела, группировка нитрозированной мочевины высоко реакционноспособна по отношению к основным типам химических воздействий. Поэтому логичные

схемы синтеза НАМ предполагают введение этой группировки в молекулу лишь на самой последней стадии. Во всех известных синтезах НАМ [157, 176, 178, 183—185, 187—189, 200] этой заключительной стадией является нитрозирование производного мочевины по схеме:



При таком нитрозировании применяют обычный набор нитрозирующих реагентов, таких как азотистая кислота, N_2O_3 , N_2O_4 , $NOCl$, амилнитрит и некоторые другие. Средой для проведения реакции может служить водная минеральная кислота (обычно H_2SO_4), применяемая для низших гомологов алкилмочевин, достаточно хорошо растворимых в воде. При этом образующаяся НАМ выпадает в осадок и тем самым предохраняется от кислотного гидролиза. Характерный пример такого способа нитрозирования — хорошо отработанный синтез НММ [175]. Если исходные мочевины мало растворимы в воде, реакцию можно проводить в высокопроцентных или безводных муравьиной и уксусной кислотах. Много примеров успешных синтезов в таких условиях содержится в работах [157, 183—185].

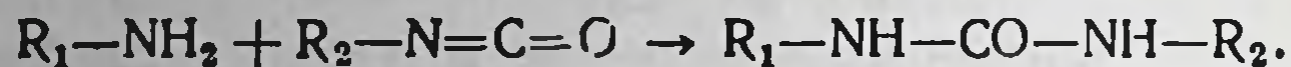
При нитрозировании симметричных двузамещенных мочевины, естественно, проблемы направления нитрозирования не возникает. Для несимметричных производных получается смесь изомеров положения нитрозо-группы, причем закономерности, управляющие направлением нитрозирования, изучены недостаточно систематично. По-видимому [157], направление атаки определяется в первую очередь нуклеофильностью атома азота. Так, например, в монозамещенных мочевинах нитрозированию подвергается практически исключительно алкилированный атом азота (электронодонорный эффект заместителя). В двузамещенных мочевинах при заместителях, резко различающихся по электронным свойствам, такое влияние также прослеживается весьма наглядно. Так, нитрозирование производного (LV) протекает региоспецифично и приводит к 1-(2-хлорэтил)-1-нитроизомеру (LVI) [157]:



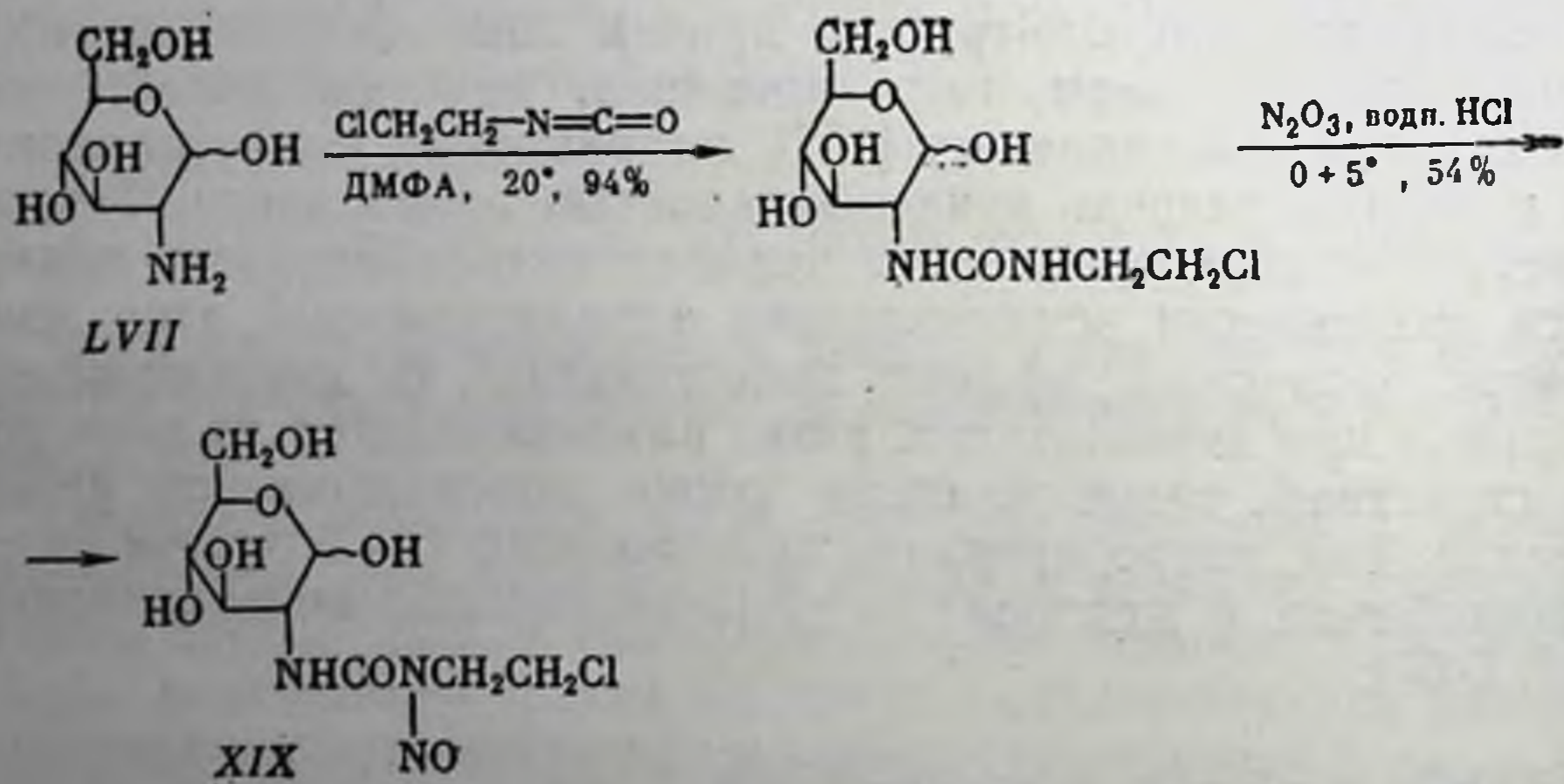
На направление нитрозирования существенное влияние оказывают также стерические препятствия [212]. Так, атом азота, к которому присоединен третичный углеродный атом, практически не нитрозируется в обычных условиях. Имеется ряд указаний на

то, что при прочих равных условиях нитрозирование в безводной муравьиной кислоте протекает значительно более избирательно, чем в водной муравьиной кислоте [183, 212]. Помимо направления нитрозирования, на состав изомеров в ряде случаев влияет изомеризация, которая может протекать в условиях синтеза.

В тех случаях, когда региоспецифичности нитрозирования несимметричных мочевинок достичь не удастся, возникает вопрос о препаративном разделении изомеров. Эффективное разделение нередко удается с помощью кристаллизации преобладающего изомера. В противном случае задача существенно осложняется из-за близости физических свойств изомеров положения и неустойчивости НАМ, сильно ограничивающей возможности применения многих современных методов разделения, вследствие чего удовлетворительного решения ее пока не найдено. Многочисленные методы синтеза исходных замещенных мочевинок подробно рассмотрены в обзорной литературе [226]. Можно указать лишь на весьма эффективный метод, особенно широко применяемый при синтезах НАМ, а именно конденсацию аминов с изоцианатами по схеме:



В качестве иллюстрации к сказанному приведем схему синтеза хлорозотоцина (XIX) [187], в которой в качестве исходного соединения используется Д-глюкозамин (LVII).



Устойчивость НАМ при хранении и скорости их разложения

С практической точки зрения необходимо располагать количественными характеристиками устойчивости НАМ и знанием скоростей их превращений в твердом состоянии и в растворах, особенно в тех растворителях, которые применяются при их ис-

пользовании как биологически активных веществ. К сожалению, строгих кинетических исследований в этом направлении выполнено мало, а основной объем имеющихся сведений носит полуколичественный характер. В большинстве случаев скорости превращений НАМ в тех или иных условиях определялись лишь по измерению убыли исходного соединения, а не по количественному анализу продуктов (см., однако, [211]). Поэтому такие данные нельзя непосредственно связывать с теми или иными возможными реакциями НАМ, хотя имеющиеся сведения об их химических свойствах [95, 174] позволяют делать на этот счет достаточно определенные предположения. Приводимый ниже материал об устойчивости и скоростях превращений НАМ можно рассматривать как сводку важных в практическом отношении данных, но не как кинетическую основу для выводов о механизмах реакций.

Превращения в твердой фазе. Твердые НАМ достаточно стабильны при хранении на холоду. Так, НММ при 0° разлагается очень медленно [59—61]. В одном случае, однако, при этой температуре наблюдали полное разложение соединения за 6 мес. [197]. При 20° измерены степени превращения НММ в различные отрезки времени [229]:

Время, часы	24	53	77	97	145	216	316
Превращение НММ, %	0	0,32	0,66	0,98	1,61	2,12	4,02

При хранении НММ при температурах 30° и выше наблюдались случаи бурного самопроизвольного разложения, иногда носящего взрывообразный характер [176, 228, 230—232]. При более чем 12-летнем опыте работы с большими количествами НММ (до 100 г и более) мы ни разу не наблюдали подобного самопроизвольного быстрого разложения. По нашим наблюдениям, стабильность НАМ в сильной степени зависит от их чистоты и состава микропримесей. В свете данных о химических свойствах указанных соединений [см. 3] это легко понять, так как и кислые, и основные примеси могут катализировать превращения НАМ.

НАМ, замещенные в положении 3 (т. е. соединения общей формулы II), более стабильны. Так, стрептозотцин (XVIII) не изменяется при 4° в течение более двух лет [233], а ЦГНМ не разлагается в течение 14 ч даже при 60° [160].

Превращения в водных растворах. Для серии НАМ показано, что их превращения в забуференных водных растворах и в воде подчиняются кинетике первого порядка [43, 204, 210, 211, 223, 234]. Наблюдаемая константа скорости в интервале рН 5,95—7,75 в фосфатном буфере при 30—40° пропорциональна концентрации гидроксильных ионов [204]. В табл. 2—5 приведены неко-

Таблица 2

Константы скорости k_1 и время полупревращения ($T_{1/2}$) некоторых НАМ в водных растворах при 37° [210, 211, 233]

Среда	$k_1 \cdot 10^3 \text{ мин}^{-1}$	$T_{1/2} \cdot \text{мин}$
НММ		
Водная HCl (pH 2,0)	1,7	408
То же (pH 2,6)	0,53	1320
Фосфатный буфер (pH 3)	—	2100
То же (pH 4)	—	>3600
» (pH 5)	—	1440
» (pH 7)	—	<60
БХНМ		
Вода	2,27	305
Ацетатный буфер (pH 7,2)	6,73	103
Трис-буфер (pH 7,2)	6,96	101
Фосфатный буфер (pH 7,2)	12,20	57
Сыворотка крови	15,3	45,4
Цельная кровь	11,2	61,9
0,01 н. NaOH	301	2,3
ЦГНМ		
Вода	1,84	376
Фосфатный буфер (pH 7,2)	10,80	64
0,1 М фосфатный буфер (pH 7,4)	—	48 ± 4

Таблица 3

Время полупревращения ($T_{1/2}$, часы) некоторых НАМ при 25° в буфере Бриттома-Робинсона в зависимости от pH [234]

Заместители в 1-нитрозомочевине	Величина pH					
	3	5	6	7	8	10
1-метил-1-нитрозомочевина	>300	150	37	1,6	0,2	—
1-этил-1-нитрозомочевина	200	120	33	—	0,2	—
1,3-диметил-1-нитрозомочевина	>200	>200	—	200	—	2,5

торые значения констант скорости первого порядка k_1 и время полупревращения ($T_{1/2}$) для НАМ в водных растворах¹.

Из приведенных в таблице данных видно, что скорости превращений НАМ в условиях, близких к физиологическим, относи-

¹ Для реакций первого порядка k_1 и $T_{1/2}$ связаны простым соотношением:

$$k_1 = \frac{\ln 2}{T_{1/2}} = \frac{0,693}{T_{1/2}}$$

Таблица 4

Константы скорости $k_1 \cdot 10^5$ (сек⁻¹) превращения некоторых 1-замещенных 1-нитрозомочевин при 35° в зависимости от рН в фосфатных буферах [204]

Препарат	Величина рН				
	5,95	6,49	6,82	7,18	7,75
Метил-1-нитрозомочевина	4,32	15,3	35,8	76,3	240
Этил-1-нитрозомочевина	4,17	16,7	31,5	65,7	238
n-Бутил-1-нитрозомочевина	4,85	15,7	32,5	67,9	252
изо-Бутил-1-нитрозомочевина	4,90	17,0	38,4	87,2	298
Бензил-1-нитрозомочевина	10,8	38,4	84,5	182	566
Циклогексил-1-нитрозомочевина	200	867	—	—	—

Таблица 5

Температурная зависимость констант скорости $k_1 \cdot 10^5$ (сек⁻¹) и Аррениусовские параметры * превращения некоторых 1-замещенных 1-нитрозомочевин в фосфатном буфере при рН 6,82 [204]

Препарат	Температура, °С				ΔH_a ккал/моль	lg P
	30,0	35,0	37,5	40,0		
Метил-1-нитрозомочевина	17,1	35,8	45,1	64,0	26,5	15,3
Этил-1-нитрозомочевина	15,3	31,5	47,4	64,2	26,6	15,4
n-Бутил-1-нитрозомочевина	16,0	32,5	49,6	73,2	27,0	15,7
изо-Бутил-1-нитрозомочевина	19,2	38,4	55,6	79,4	27,0	15,8
Бензил-1-нитрозомочевина	42,6	84,5	127	182	27,8	16,7

* Для уравнения $\lg k_1$ (сек⁻¹) = $-\Delta H_a / 2,303 RT + \lg P$.

тельно мало зависят от структуры заместителя (в пределах гомологических рядов) и существенно меняются в зависимости от состава буфера (особенно заметно ускорение превращений при переходе от ацетатного буфера к фосфатному). Аналогичным образом гидролитическое денитрозирование нитрозоэтилмочевин в небольшой степени ускоряется в присутствии тиоцианата [235]. Скорость превращения существенно возрастает с ростом концентрации фосфата при заданной температуре и рН [223] и, как уже указывалось выше, весьма сильно зависит от рН. Максимум стабильности для типичных НАМ лежит в интервале рН 4 (табл. 2). Так, например, стрептозотоцин при рН 4,3—4,7 и 25° стабилен в растворе в течение 2 сут, а при рН 6, и 35° его $T_{1/2}$ составляют около 1 ч [233].

Помимо сведений о водных растворах НАМ, в литературе имеются также разрозненные данные о скоростях их превращений в водном этиловом спирте и в некоторых органических растворителях [161, 233].

Методы анализа НАМ

Разработано несколько методов количественного определения НАМ в достаточно сложных смесях.

Физические методы. Как было показано в разделе об электронных спектрах НАМ, в них имеется коротковолновый максимум с достаточно большой экстинцией, который может быть использован для количественного определения соединений этого класса [204, 223]. При работе с биологическими объектами, однако, эта область спектра неудобна для анализа, так как поблизости находятся максимумы поглощения многих типичных компонентов биологических систем. В таких случаях можно пользоваться для определения НАМ вторым максимумом [206], который, однако, имеет малую экстинцию, в связи с чем такой анализ сравнительно мало чувствителен.

Достаточно эффективным и чувствительным методом анализа НАМ может служить полярография [229, 236, 237], позволяющая, например, успешно определять эти соединения в такой многокомпонентной системе, как плазма крови [236]. В этой системе потенциал полуволны для НММ составляет 0,75 В. Чувствительность этого метода — до 1 мкмоля [237].

Химические методы. Эта группа аналитических методов основана на расщеплении НАМ до тех или иных характерных продуктов и количественном определении последних. Из таких методов наиболее специфичен и чувствителен, по-видимому, анализ, заключающийся в кислотном гидролизе и последующем определении азотистой кислоты с реактивом Грисса (сульфаниловая кислота + 1-нафтиламин) [224, 225]. Чувствительность метода для НММ — 0,4 мкг [225].

Другой метод, малоспецифичный, но удобный для определения содержания основного вещества в препаратах НАМ, заключается в гидролизе НАМ избытком титрованного раствора щелочи с последующим определением количества неизрасходованной щелочи обратным титрованием [229].

Таким образом, в основе значительной и разносторонней биологической активности НАМ лежит высокая и многообразная реакционная способность этих органических веществ.

Возможности структурных модификаций соединений этого нового класса противоопухолевых препаратов далеко не исчерпаны. Дальнейший рациональный синтез производных нитрозомочевины можно рассматривать как одно из перспективных направлений исследования в химиотерапии злокачественных опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эмануэль Н. М., Липчина Л. П. Докл. АН СССР, 1958, 121, № 1, 141.
2. Эмануэль Н. М., Коновалова Н. П., Дронова Л. М. Докл. АН СССР, 1962, 143, № 3, 737.
3. Эмануэль Н. М., Евсеенко Л. С. Количественные основы клинической онкологии. М., «Медгиз», 1970.
4. Эмануэль Н. М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М., «Наука», 1977.
5. Эмануэль Н. М. В кн.: Актуальные вопросы современной онкологии. М., Изд. МГУ, 1968, с. 17.
6. Эмануэль Н. М. В сб.: Химическая кинетика и цепные реакции. М., «Наука», 1966, с. 531.
7. Эмануэль Н. М. В кн.: Пути синтеза и изыскания противоопухолевых препаратов. М., «Медицина», 1967, с. 15.
8. Emaniuel N. M. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1973, 222, 1.
9. Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1974, № 6, 773.
10. Ерохин В. Н. В кн.: Количественные аспекты роста организмов. М., «Наука», 1975, с. 93.
11. Ерохин В. Н., Коновалова Н. П., Островская Л. А. Известия АН СССР, серия биол., 1975, № 5, 747.
12. Эмануэль Н. М., Коновалова Н. П., Богданов Г. Н., Васильева Л. С. Докл. АН СССР, 1965, 160, № 6, 1421.
13. Кукушкина Г. В., Соколова И. С., Островская Л. А., Горбачева Л. Б. Известия АН СССР, серия биол., 1972, № 5, 731.
14. Миненкова Е. А., Ерохин В. Н., Кругляк С. А., Вермель Е. М., Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1967, № 4, 517.
15. Островская Л. А., Скибида И. П., Кругляк С. А., Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1966, № 5, 734.
16. Baserga R. Zeitschr. Zellforsch., 1964, 64, 1.
17. Patt N. N., Blackford M. E. Cancer Res., 1954, 14, 5.
18. Patt N. N., Blackford M. E., Dralimeier I. L. Proc. Soc. Exptl Biol. and Med., 1953, 83, 3.
19. Patt N. N., Strauble R. L. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1956, 63, 5.
20. Миненкова Е. А., Кругляк С. А., Вермель Е. М., Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1968, № 4, 475.
21. Maguuta I. Nature, 1963, 138, 1181.
22. Revesz L., Klein I. J. Nat. Cancer Inst., 1954, 15, 253.
23. Hoffman J. G., Goltz H. L., Reinhard M. C., Warner S. G. Cancer Res., 1973, 3, 237.
24. Садовникова И. П., Ерохин В. Н., Кругляк С. А., Вермель Е. М., Эмануэль Н. М. Вопросы онкологии, 1965, 11, № 11, 63.
25. Ерохин В. Н., Садовникова И. П., Кругляк С. А., Вермель Е. М., Эмануэль Н. М. Вопросы онкологии, 1966, 12, № 11, 58.
26. Дронова Л. М., Белич Е. И., Ерохин В. Н., Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1966, № 5, 743.
27. Wilcox W. S., Griswold D. P., Laster W. R., Schabel F. M., Skipper H. E. Cancer Chemotherapy Repts, 1965, 47, 27.
28. Приживойт Г. Н. Вопросы онкологии, 1969, 15, 3, 77.
29. Белич Е. И., Ерохин В. Н., Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1972, № 2, 204.
30. Эмануэль Н. М., Коновалова Н. П., Богданов Г. Н., Киселева Е. Г., Васильева Л. С., Дьячковская Р. Ф. В кн.: Экспериментальная и клиническая фармакотерапия. Рига, «Зинатне», 1970, с. 65.
31. Васильева Л. С., Богданов Г. Н., Коновалова Н. П., Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1969, № 6, 926.
32. Karczag L., Janu I. Z. Krebsforsch., 1931, 33, 470.
33. Киселева Е. Г., Богданов Г. Н., Коновалова Н. П., Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1969, № 1, 149.
34. Эмануэль Н. М., Дронова Л. М., Ерохин В. Н., Белич Е. И. Известия АН СССР, серия биол., 1968, № 2, 181.

35. Laird A. K. Brit. J. Cancer, 1964, 18, 490.
36. McCredie J. A., Inch W. R., Kruuv J., Watson T. A. Growth, 1965, 29, 331.
37. Frindel E., Malaise E. P., Alpen E., Tubtana M. Cancer Res., 1967, 27, 1122.
38. Lloyd H. H. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt. 1, 59, 267.
39. Simpson-Herren L., Lloyd H. H. Cancer Chemotherapy Repts, 1970, 54, 143.
40. Simpson-Herren L., Sanford A. H., Holmquist J. P. Cell Tissue Kinet., 1974, 7, 349.
41. Simpson-Herren L. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt. 2, 5, 83.
42. Пелевина И. И., Афанасьев Г. Г., Липчина Л. П., Андреев В. М., Эмануэль Н. М. Известия АН СССР, серия биол., 1966, № 6, 841.
43. Schreck K. Amer. J. Cancer, 1936, 28, 345.
44. Mauneord W. V. Amer. J. Cancer, 1932, 16, 841.
45. Schrek R. Amer. J. Cancer, 1935, 24, 807.
46. Suit H. D., Schalek R. J. J. Nat. Cancer Inst., 1963, 31, 479.
47. Shimkin M. B., Polissar M. J. J. Nat. Cancer Inst., 1958, 21, 595.
48. Chevallier P. C. r. Soc. biol, 1964, 158, 2207.
49. Skipper H. E., Schabel F. M., Wilcox W. S. Cancer Chemotherapy Repts, 1964, 35, 3.
50. Островская Л. А., Вермель Е. М. Вопросы онкологии, 1975, 21, № 10, 77.
51. Dethlefsen L. A., Prewitt J. M. S., Mendelsohn M. L. J. Nat. Cancer Inst., 1968, 40, 389.
52. Островская Л. А., Серебряный А. М., Рапопорт И. А. Известия АН СССР, серия биол., 1977, № 2, 264.
53. Klein G., Revesz L. J. Nat. Cancer Inst., 1953, 14, 229.
54. Островская Л. А. В кн.: Экспериментальное и математическое моделирование искусственных и природных экосистем. Красноярск, 1973, с. 125.
55. Эмануэль Н. М., Вермель Е. М., Рапопорт И. А., Кругляк С. А., Дронова Л. М., Островская Л. М. Докл. АН СССР, 1965, 163, № 2, 483.
56. Холланд Д. Журн. Всес. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева, 1973, 18, № 6, 602.
57. Ларионов Л. Ф. Химиотерапия злокачественных опухолей. М., «Медицина», 1962.
58. Goldin A. In: Cancer chemotherapy. Tokyo. Maruzen Co, 1967, p. 303.
59. Вермель Е. М. Вопросы онкологии, 1964, 10, № 11, 117.
60. Schabel F. M. Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 2, 3, 309.
61. Skipper H. E. Cancer Res., 1961, 21, 1100.
62. Johnson R. K., Goldin A. Cancer Treatment Revs, 1975, 2, 1.
63. Чернов В. А. В кн.: Методы экспериментальной химиотерапии. М., «Медицина», 1971, с. 357.
64. Goldin A., Carter S. K. In: Cancer Medicine. J. F. Holland, E. Frei (Eds). Philadelphia, Lea and Febiger, 1973, p. 605.
65. Goldin A., Serpick A. A., Mantel N. Cancer Chemotherapy Repts, 1966, 50, 173.
66. Goldin A., Johnson R. K., Venditti J. M. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 2, 5, 21.
67. Софьина З. П. Вопросы онкологии, 1976, 22, № 4, 82.
68. Schepartz S. A. Cancer Chemotherapy Repts 1971, pt 3, 2, 3.
69. Venditti J. M. In: Pharmacological basis of cancer chemotherapy. Baltimore, Williams and Wilkins Co, 1975, p. 245.
70. Wood H. B. Jr. Cancer Chemotherapy Repts, 1971, pt. 3, 2, 9.
71. Carter S. K. Nat. Cancer Inst., Monogr., 1974, 40, 31.
72. Carter S. K., Slavik M. In: Annual Rev. Farmacology. California, Polo Alto, 1974, 14, 157.
73. Gordon M. H. Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 3, 5, 65.
74. Geran R. I., Greenberg N. H., Macdonald M. M., Abbott B. J. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 2, 5, 15.
75. Переводчикова Н. И. Клиническая химиотерапия опухолевых заболеваний. М., «Медицина», 1976.
76. Geran R. I., Greenberg N. H., Macdonald M. M., Schumacher A. M., Abbott B. J. Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 2, 3, 1.

77. *Carter S. K.* Europ. J. Cancer, 1973, 9, 833.
78. *Martin D. S., Fugman R. A., Stolji R. L., Hayworth P. E.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 2, 5, 89
79. *Goldin A., Carter S. K., Mantel N.* In: Handbook of experimental pharmacology. New Series. A. C. Sartorelli, D. G. Johns, A. D. Welch (Eds). Berlin, Springer Verl New York, Heidelberg, 1974, p. 12.
80. *Griswold D. P. Jr.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt. 2, 3, 315.
81. *Mayo J. G.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, p. 2, 3, 325.
82. *Karrer K., Humphreys S. R., Goldin A.* Intern. J. Cancer, 1967, 2, 213.
83. *Schabel F. M. Jr., Skipper H. E., Trader M. W., Laster W. R., Simpson-Herren L.* Cancer Chemotherapy Repts, 1969, 53, 329.
84. *Corbett T. H., Griswold D. P., Roberts B. J., Peckham J., Schabel F. M. Jr.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 2, 5, 169.
85. *Shefner A. M., Marlow W.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 2, 5, 145.
86. *Detre S. I., Davies A. J. S., Connors T. A.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 2, 15, 133.
87. *Poulsen C. O., Jacobson G. K.* Cancer Res., 1975, 35, 2790.
88. *Cain B. F., Calveley S. B., Boreham B. A., West C.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, 58, 189.
89. *Goldsmith M., Slavik M., Carter S. K.* Cancer Res., 1975, 35, 1354.
90. *Астрахан В. И.* Вестник АМН СССР, 1966, № 4, 85.
91. *Emanuel N. M., Vermel E. M., Ostrouskaya L. A., Korman N. P.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, 58, 135.
92. *Ostrouskaya L. A.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, 746.
93. *Переводчикова Н. И., Корман Н. П., Бычков М. Б.* Вопросы онкологии, 1975, 21, № 8, 21.
94. *Blokchin N. N.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr. Florence, 1974, 1, 76.
95. *Carter S. K., Schabel F. M.* Advances Cancer Res., 1972, 16, 273.
96. *Carter S. K., Broder L.* In: Advances in antimicrobial and antineoplastic chemotherapy. Prague, Avicenum, 1972, p. 789.
97. *Carter S. K., Schabel F. M., Broder L. E., Johnston T. P.* Advances Cancer Res., 1972, 16, 273.
98. *Carter S. K.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 35.
99. *Carter S. K., Slavik M.* Abstrs 8th Intern. Congr. Chemotherapy, Athens, 1973. N. Y. Bloomfield, 1973, C, N B VII-2.
100. *Carter S. K., Slavik M.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 1, 71.
101. *Yardumian H. J.* Amer. Osteopathic. Assoc., 1974, N 4, 299/74.
102. *Carbone P. P.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 1, 72.
103. *Wasserman T. H., Slavik M., Carter S. K.* Cancer, 1975, 36, 1258.
104. *Chabner B. A., Myers Ch. F., Coleman C. N., Johns D. G.* New England J. Med., 1975, 292, 1159.
105. *Рапопорт И. А.* Докл. АН СССР, 1962, 146, № 6, 1418.
106. *Рапопорт И. А.* В кн.: Супермутагены. М., «Наука», 1966, с. 9.
107. *Селезнев Ю. В.* Цитология, 1968, 10, № 6, 722.
108. *Селезнев Ю. В.* Цитология, 1968, 10, № 7, 873.
109. *Сидоров Б. Н., Соколов Н. Н., Андреев В. С.* Генетика, 1965, № 1, 112.
110. *Чернов В. А.* Цитостатические вещества в химиотерапии злокачественных новообразований. М., «Медицина», 1964.
111. *Bauer K. H.* Klin. Wochenschr., 1949, 27, 159.
112. *Boyland E.* Pontif. Acad. Scient. Scripta varia, 1949, 7, 79.
113. *Jensen K., Kirk J., Westergaard M.* Nature, 1950, 166, 1020.
114. *Stevens C., Mylroic A.* Nature, 1950, 116, 1019.
115. *Курлов О. В., Голосов О. С., Койфман Э. К.* В кн.: Биологическое действие цитостатических препаратов. Изд-во Томок. ун-та, 1968, с. 118.
116. *Koller P. C.* Mutation Res., 1969, 8, 199.
117. *Ляквичус Р. К.* Генетика, 1966, № 3, 123.
118. *Sugimura T.* Bull. Cancer, 1974, 12, 1.
119. *Haddow A.* Brit. Med. Bull., 1947, 4, 417.
120. *Haddow A.* Brit. Med. J., 1950, II, 1271.

121. *Frei J. V.* Chem.-Biol. Interactions, 1971, 3, 117.
122. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man, Lyon, J. A. R. C., 1975, 9.
123. *Matsushima T., Bryan G. T.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 2, 39.
124. *Nagao M., Sugimura T., Yahagi T., Hara K., Matsushima T., Bryan G. T.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 2, 39.
125. *So B. T., Magadia N. E., Wynder E. L.* J. Nat. Cancer Inst., 1973, 50, 927.
126. *Llombart A., Marcos A. I.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 2, 45.
127. *Skibba Y. L., Croft W. A., Beal D. D., Bryan G. T.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 2, 38.
128. *Cohen S. M., Esch A. M von, Crouetti A. J., Bryan G. T.* J. Natl., Cancer Inst., 1973, 51, 403.
129. *Druckrey H., Ivankovic S., Preussmann R.* Naturwissenschaften, 1964, 51, 144.
130. *Arison R. N., Feudale E. L.* Nature, 1967, 214, 1254.
131. *Ivankovic S.* Krebsforschung und Krebsbekämpfung. Bd. 6. München, Berlin, Wien, 1967, S. 97.
132. *Островская Л. А.* В кн.: «Итоги науки». Сравнительная онкология. М., ВИНТИ АН СССР, 1967, с. 5.
133. *Thomas C., Sierra J. L., Kersting G.* Naturwissenschaften, 1968, 55, 183.
134. *Kelly M. G., O'Gara R. W., Yancey S. T.* J. Nat. Cancer Inst., 1968, 41, 619.
135. *Rakielen N., Gordon B. S., Cooney D. A., Davis R. D., Schein P. S.* Cancer Chemotherapy Repts, 1968, 52, 563.
136. *Leaver D. D., Swann P. F., Magee P. N.* Brit. J. Cancer, 1969, 23, 177.
137. *Schmidek H. H., Nielsen S. L., Schiller A. L., Messer J. J.* Neurosurg., 1971, 34, 335.
138. *Rakielen N., Gordon B. S., Beaty A., Cooney D. A., Davis R. D., Schein P. S.* Proc. Soc. Exptl Biol. (N. Y.), 1971, 137, 280.
139. *Wechsler W. J.* Neuropathol. Exptl Neurol., 1971, № 30, 120.
140. *Scheider J., Warzok R. Z.* ges. innere Med., 1972, 27, 580.
141. *Bosch D. A., Gerrits P. O., Ebels E. J. Z.* Krebsforsch., 1972, 77, 308.
142. *Rice J. M.* Teratology, 1973, 8, 113.
143. *Weiss E. de C.* J. Nat. Cancer Inst., 1973, 51, 1363.
144. *Berman L. D., Hayes J. A., Sibay T. M.* J. Nat. Cancer Inst., 1973, 51, 4, 1287.
145. *Александров В. А.* Вопросы онкологии, 1974, 20, № 12, 76.
146. *Fukunishi R., Terashi S., Wang H. H., Joshida A., Hirota N., Yoshida H.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, 675.
147. *Maekawa A., Odashima S.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, 667.
148. *Odashima S., Ogiu T.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, 673.
149. *Thompson D. J., Molello J. M., Strebing R. J., Dyke I. L., Robinson V. B.* Toxicol. and Appl. Pharmacol., 1974, 30, 422.
150. *Вермель Е. М.* Современные проблемы онкологии, 1952, 8, серия А, 3.
151. *Ostrowskaya L. A., Emanuel N. M.* Abstrs 9th Intern. Congr. Chemotherapy. London, 1975, C-62.
152. *Корман Н. П.* Клиническое изучение противоопухолевых свойств N-нитрозометилмочевины. Канд. диссертация. М., 1971.
153. *Greene M. O., Greenberg J.* Cancer Res., 1960, 20, 1166.
154. *Skinner W. A., Gram H. F., Greene M. O., Greenberg J., Baker B. R.* J. Med. and Pharmac. Chem., 1960, 2, 299.
155. *Hyde K. A., Acton E., Skipper W. A., Goodman L., Greenberg J., Baker B. R.* J. Med. and Pharmac. Chem., 1962, 5, 1.
156. *Skipper H. E., Schabel F. M., Jr., Trader M. W., Thompson R. J.* Cancer Res., 1961, 21, 1154.
157. *Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A.* J. Med. Chem., 1963, 6, 669.

158. Skipper H. E., Schabel F. M., Wilcox W. S. Cancer Chemotherapy Repts, 1964, 35, 1.
159. Schabel F. M., Jr., Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A., Laster W. R., Skipper H. E. Cancer Res., 1963, pt 1, 23, 725.
160. Broder L. E., Carter S. K. CCNU, Clinical Brochure, Bethesda, Md, NCI., 1971.
161. Comis R. L., Broder L. E., Carter S. K. MeCCNU, Clinical Brochure, Bethesda, Md, NCI., 1972.
162. Schabel F. M., Jr. In: Proc. Chemotherapy Conf. Chemotherapy Solid Tumors — Appraisal 5-FU and BCNU, S. K. Carter (Ed.). Bethesda, Md, NCI, 1970, p. 159.
163. Hansen H. H., Muggia F. M., Walker M. D., Rosenblum M. L. Cancer Chemotherapy Repts, 1971, 55, 99.
164. Walker M. D. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 21.
165. Shapiro W. R. Cancer, 1975, 35, 965.
166. Vavra I. J., De Boer C., Dietz A., Hanka L. J., Sokolski W. T. In: Antibiotics Annual, v. 7. H. Welch, F. Marti-Jbanez (Eds). New York, Medical Encyclopedia, 1960, p. 230.
167. Lewis C., Barbiers A. R. In: Antibiotics Annual, v. 7. H. Welch, F. Marti-Jbanez (Eds). New York, Medical Encyclopedia, 1960, p. 247.
168. Herr R. R., Janke H. K., Argoudelis A. D. J. Amer. Chem. Soc., 1967, 89, 4808.
169. White F. R. Cancer Chemotherapy Repts, 1963, 30, 49.
170. Junod A., Lambert A. E., Orci L., Pictet R., Gonet A. E., Renold A. E. Proc. Soc. Exptl Biol. Med., 1967, 126, 201.
171. Murray-Lyon I. M., Eddleston A. L., Williams R., Brown M., Hogbin B. M., Bennet A., Edwards J. C., Taylor K. W. Lancet, 1968, 2, 895.
172. Fischer E. Liebigs Ann. Chem., 1878, 190, 175.
173. Дьяконов И. А. Алифатические diazosоединения. Изд-во Ленинградск. ун-та, 1958.
174. Zollinger H. Azo and diazo chemistry. N. Y., Interscience, 1961.
175. Арндт Ф. В кн.: Синтезы органических препаратов, 2, Изд-во Ин. лит-ры, 1949, с. 373.
176. Werner E. A. J. Chem. Soc., 1919, 115, 1093.
177. Kirmse W., Wachtershäuser G. Liebigs Ann. Chem., 1967, 707, 44.
178. Marx J., Marx-Holl L. Chem. Ber., 1954, 87, 1499.
179. Applequist D. E., McGreen D. E. J. Amer. Chem. Soc., 1960, 82, 1965.
180. Hayns K., Heins A. Liebigs Ann. Chem., 1957, 604, 147.
181. Jones W. M., Muck D. D., Tandy T. K., Jr. J. Amer. Chem. Soc., 1966, 88, 68.
182. Vogelesang C. Rec. trav. chim., 1943, 62, 9.
183. Johnston T. P., McCaleb G. S., Opliger P. S., Montgomery J. A. J. Med. Chem., 1966, 9, 892.
184. Johnston T. P., McCaleb G. S., Opliger P. S., Laster W. R., Montgomery J. A. J. Med. Chem., 1971, 14, 600.
185. Johnston T. P., Opliger P. S. J. Med. Chem., 1967, 10, 675.
186. Anderson T., McMenamin M. G., Shein P. S. Cancer Res., 1975, 35, 781.
187. Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A. J. Med. Chem., 1975, 18, 104.
188. Mashinami T., Kobayash K., Hayakawa Y., Suami T. Bull. Chem. Soc. Japan, 1975, 48, 3761.
189. Machinami T., Nishiyama S., Kikuchi K., Suami T. Bull. Chem. Soc. Japan, 1975, 48, 3763.
190. Argyle C. S., Vero E. Brit. pat., 1959, 807405; C. A., 53, 16588a (1959).
191. Liester T., Beck G. Chem. Ber., 1950, 83, 137.
192. Jones A. R., Skraba W. J. Science, 1953, 117, 252.
193. Semenow D. A., Cox E. F., Roberts J. D. J. Amer. Chem. Soc., 1956, 78, 3221.
194. Connors T. A., Hare J. R. Brit. J. Cancer, 1974, 30, 477.

195. Серебряный А. М., Смотряева М. А., Круглякова К. Е., Костяновский Р. Г. Докл. АН СССР, 1969, 185, 847.
196. Lawley P. D., Shah S. A. Chem. Biol. Interactions, 1973, 7, 115.
197. Clusius K., Endtinger F. Helv. chim. acta, 1960, 43, 2063.
198. Karunanayake E. R., Hearse D. J., Mellows G. Biochem. J., 1974, 142, 673.
199. Hansch C., Smith N., Engle R., Wood H. Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 443.
200. Fujiwara A. N., Acton E. M., Henry D. W. J. Med. Chem., 1972, 17, 392.
201. Кросс А. Введение в практическую инфракрасную спектроскопию. М., ИЛ, 1967.
202. Cook A. F., Moffatt J. G. J. Amer. Chem. Soc., 1968, 90, 740.
203. Druckrey H., Preussmann R., Ivancovic S., Schmähl D., Afkham J., Blum G., Mennel H. D., Muller M., Petropulos P., Schneider H. Z. Krebsforsch., 1967, 69, 103.
204. Garret E. R., Goto S., Stubbins J. F. J. Pharmac. Sci., 1965, 54, 119.
205. Зыбина Д. Л., Смотряева М. А., Круглякова К. Е., Эмануэль Н. М. В кн.: Специфичность химического мутагенеза. М., «Наука», 1968, с. 5.
206. Mirvish S. S., Chu C. Nat. Cancer. Inst., 1973, 50, 745.
207. Huisgen R., Reimlinger H. Liebigs Ann. Chem., 1956, 599, 183.
208. Muck D. L., Jones W. M. J. Amer. Chem. Soc., 1966, 88, 74.
209. Hecht S. M., Kozarich J. W. Tetrahedron Letters, 1972, 5157.
210. Montgomery A., James R., McCaleb G. S., Johnston T. P. J. Med. Chem., 1967, 10, 668.
211. Reed D. J., May H. E., Boose R. B., Gregory K. M., Beilstein M. A. Cancer Res., 1975, 35, 568.
212. Montgomery J. A. Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 651.
213. Satchell D. P. N., Satchell R. S. Chem. Soc. Revs, 1975, 4, 231.
214. Wheeler G. P., Bowdon B. J., Struck R. F. Cancer Res., 1975, 35, 2974.
215. Moss R. A. Accounts Chem. Rev., 1974, 7, 421.
216. Müller E., Haiss H., Rundel W. Chem. Ber., 1960, 93, 1541.
217. Moss R. A., Schueler P. E. J. Amer. Chem. Soc., 1974, 96, 5792.
218. White E. H., McGirk R. H., Aufdermarsh C. A., Jr., Tiwari H. P., Todd M. J. J. Amer. Chem. Soc., 1973, 95, 8107.
219. Бетел Д., Голд В. Карбониевые ионы. М., «Мир», 1970.
220. Современные проблемы химии карбониевых ионов. Под ред. Коптюг В. А. Новосибирск, «Наука», 1975.
221. Карбониевые ионы. Пер. с англ. под ред. Ю. Г. Бунделя. М., «Мир», 1976.
222. Rinkler H. A. Dissertation Univ. Marburg, 1964.
223. McCalla D. R., Reuvers A., Kitai R. Canad. J. Biochem., 1968, 46, 807.
224. Loo T. L., Dion R. J. Pharmac. Sci., 1965, 54, 809.
225. Feigl F., Heto C. C., Oesper R. E. Analyt. Chem., 1956, 28, 1311.
226. Methoden der organischen Chemie, Bd b/III. Stuttgart, Georg Thieme Verl., 1952, S. 149.
227. Arndt F., Loewe L., Hvan S. Ber., 1940, 73, 606.
228. Lijinsky W. Science, 1974, 183, 368.
229. Yancik F., Kakac B., Vanicek V., Vrublouská M. Chem. Listy., 1958, 52, 909.
230. Lipp P., Buckhremmer J., Seeles H. Liebigs Ann. Chem., 1932, 499, 23.
231. Arndt F., Schoz H. Angew. Chem., 1933, 46, 47.
232. Sparrow A. H. Science, 1973, 181, 700.
233. Livingston R. B., Carter S. K. Chemotherapy fact sheet, streptozotocin. Bethesda, Md., NCI, 1969.
234. Veleminsky J., Gichner I. Mutat. Res., 1970, 10, 43.
235. Boyland E., Woolf A. S. In: Environmental N-nitroso compounds analysis and formation. Lyon, I. A. R. C. Scient. Publ., 1976, N 14, p. 161.
236. Swann P. F. Biochem. J., 1968, 110, 49.
237. Garrett E. R., Cusimano A. G. J. Pharmac. Sci., 1966, 55, 702.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

В тех случаях, когда доминирующим направлением в механизме действия противоопухолевого препарата является разрушение опухолевых клеток, весьма важно, чтобы при этом лишь в минимальной степени повреждались нормальные ткани. При оптимальном решении этой задачи следует исходить из знания главных различий между опухолевыми и нормальными клетками. Необходимо также изыскание способов транспорта препарата в достаточных концентрациях ко всем злокачественным клеткам, присутствующим в организме, независимо от их локализации. В настоящее время такая постановка вопроса все еще может рассматриваться как одно из стратегических направлений развития химиотерапии рака. К сожалению, все используемые в современной практике противоопухолевые агенты поражают не только клетки опухоли, но и оказывают более или менее выраженное токсическое действие на организм-опухоленоситель. Естественно, что для клинической онкологии наибольший интерес представляют соединения, токсичные преимущественно для опухолевых клеток, т. е. обладающие относительной избирательностью действия.

Селективность химиотерапии определяется некоторыми факторами. Важную роль играют количественные различия в чувствительности опухолевых и нормальных клеток, в скоростях восстановления и освобождения от повреждений, вызываемых препаратом и т. п. Существенное влияние оказывают фармакологические особенности распределения вещества по органам и тканям, природа и скорость метаболических процессов, длительность депонирования и циркуляции активного действующего вещества в организме, пути его выведения. Поэтому вопросы, связанные с проблемой взаимодействия потенциального противоопухолевого вещества и организма-опухоленосителя обычно изучаются в токсикологическом и фармакологическом аспектах. В опытах на животных устанавливаются токсические дозы препарата, его кумулятивные свойства, временные зависимости между окончанием курса лечения и появлением токсических реакций. Гематологическими, биохимическими, патогистологическими методами исследуют влияние вещества на жизненно важные

органы, системы организма и их функции. Применение различных физико-химических методов позволяет изучить фармакокинетику лекарственного препарата *in vivo* [1, 2].

Этот комплекс исследований имеет своей целью обеспечить максимально безопасное для больного применение противоопухолевого агента при наибольшей терапевтической эффективности.

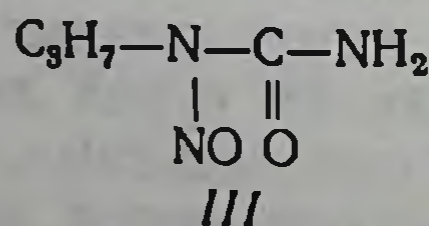
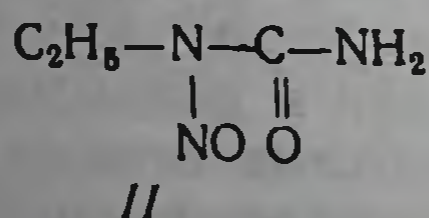
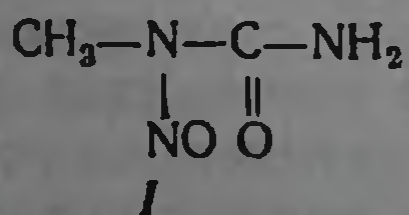
ТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И КУМУЛЯТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ

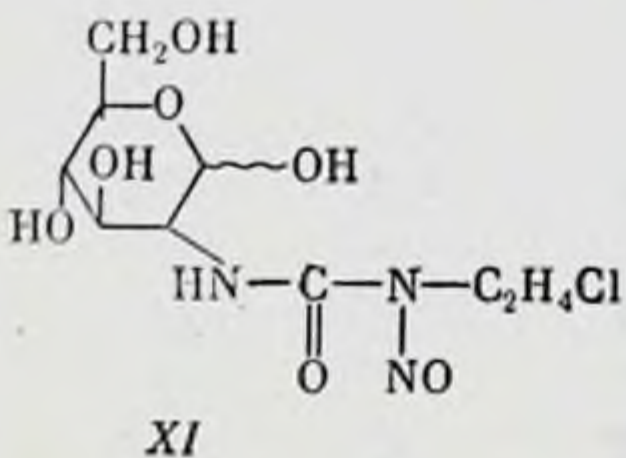
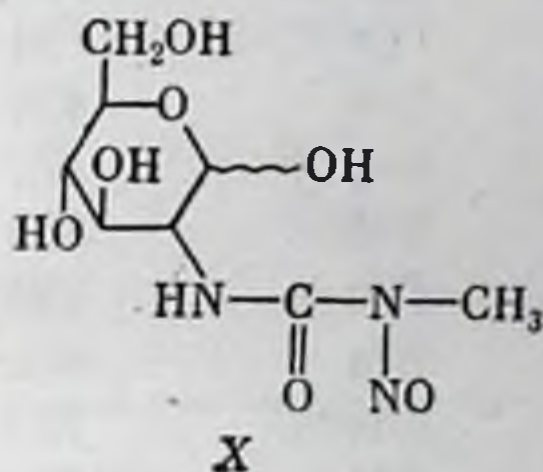
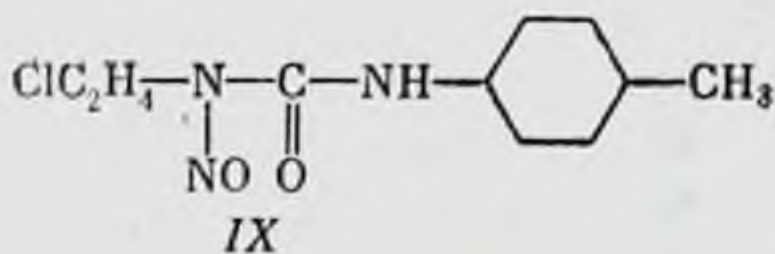
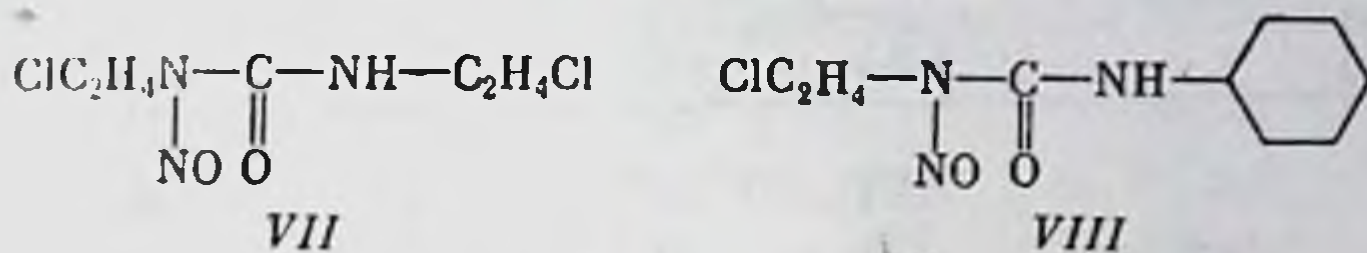
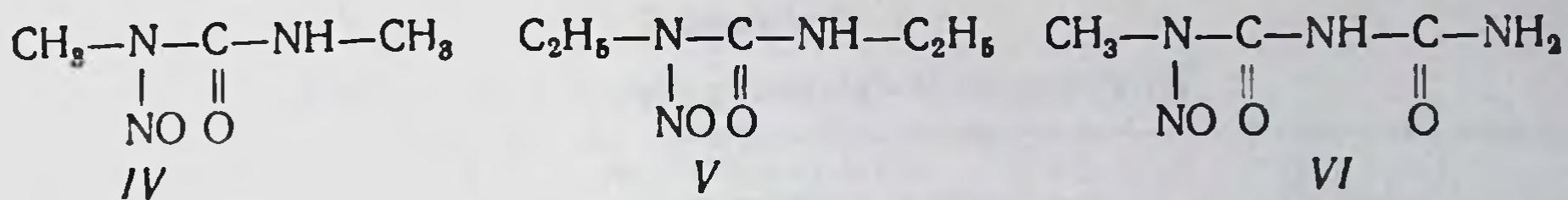
Токсические свойства противоопухолевых препаратов характеризуются величинами доз, вызывающих в органах животных патологические изменения различной тяжести. При исследовании токсичности на мелких лабораторных животных, как правило, ограничиваются установлением летальных доз (LD_{100} , LD_{50} , LD_{10}), вызывающих гибель 100, 50 и 10% животных соответственно, а также максимально переносимой дозы (МПД), применение которой не вызывает гибели животных и не приводит к уменьшению их веса более чем на 10% от исходного.

В опытах на крупных животных (собаки, обезьяны) уровень токсичности препарата принято характеризовать четырьмя дозами: летальная (LD) — низшая доза, приводящая к гибели хотя бы отдельных животных; высшая токсическая (TD_{max}) — вызывающая патологические изменения в гематологических, биохимических, клинических или морфологических показателях при условии, что удвоение этой дозы приводит к гибели животных; низшая токсическая (TD_{min}) — минимальная доза, способная вызвать упомянутые выше изменения, но при ее удвоении не приводящая к гибели животных, и, наконец, высшая нетоксическая или максимально переносимая (МПД) — предельная доза, применение которой не вызывает патологических сдвигов [3].

Чтобы определить дозы препаратов для применения их при лечении больных, используются значения доз, полученных в опытах на животных, пересчитанные на квадратный метр поверхности тела [4, 5].

В опытах на мышах и крысах подробно изучены токсические свойства простых моно- и двузамещенных аналогов НММ (I): НЭМ (II), НПМ (III), ДМНМ (IV), ДЭНМ (V), НМБ (VI), хлорэтилзамещенных НАМ: БХНМ (VII), ЦГНМ (VIII), МеЦГНМ (IX), антибиотиков — стрептозотоцина (X) и хлорозотоцина (XI).





Значения LD_{50} и МПД для НММ и ряда ее производных (I—VI), найденные в остром (однократное применение) и хроническом (многократное применение) опытах при различных способах введения интактным беспородным мышам, приведены в табл. 6 [6, 7].

Данные об острой токсичности других, более сложных НАМ для мышей сведены в табл. 7 в виде значения LD_{10} . В табл. 8 представлены токсические дозы и МПД для БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ у крупных лабораторных животных (собаки и обезьяны) при однократном введении препаратов per os.

Из табл. 6 видно, что токсичность гомологов уменьшается в ряду НММ → НЭМ → НПМ.

Введение метильной группы в положение N-3 молекулы НММ, что имеет место в случае ДМНМ (IV), практически не изменяет уровень токсичности по сравнению с НММ (за исключением перорального применения). Однако, как будет показано ниже, подобная модификация обеспечивает отсутствие эффекта угнетения гемопоэза.

Наличие дополнительного этильного радикала в структуре (V) приводит к резкому усилению токсичности ДЭНМ по сравнению с НЭМ (II).

БХНМ (VII), структурно отличающаяся от ДЭНМ (V) по содержанию атомов хлора в галогенэтильных группах, в 3—5 раз более токсична, чем ДЭНМ.

Присутствие фрагмента D-глюкозамина в положении N-3 структуры (X) приводит к уменьшению токсичности стрептозо-

Таблица 6

Токсичность и кумулятивные свойства НАМ

Препарат	Способ введения	Доза (в мг/кг/сут) и режим ведения				Индекс кумуляции, %
		n = 1		n = 5		
		LD ₅₀	МПД ₁	LD ₅₀	МПД ₅	
НММ	В/в	180	100	30	20	100
	Внутрь	220	100	80	50	25
	В/б	150	100	30	20	100
	П/к	220	150	80	50	50
НЭМ	В/в	410	350	150	100	62
	Внутрь	270	250	150	100	37
	В/б	380	300	200	100	50
	П/к	430	400	200	150	42
НПМ	В/в	500	250	150	100	37
	Внутрь	750	500	150	100	100
	В/б	1375	750	238	100	162
	П/к	1500	750	250	200	69
ДМНМ	В/в	150	100	40	25	75
	Внутрь	220	150	80	50	50
	В/б	150	100	40	25	75
	П/к	220	150	80	50	50
ДЭНМ	В/в	125	100	50	25	75
	Внутрь	200	150	50	25	125
	В/б	250	200	60	30	142
	П/к	250	200	60	30	142
НМБ	В/в	125	100	50	25	75
	Внутрь	250	150	75	50	50
	В/б	125	100	50	25	75
	П/к	250	150	75	50	50

Примечание. В этой и последующих таблицах: В/в — внутривенное введение; В/б — внутрибрюшинное введение; п/к — подкожное.

тоцина почти в два раза по сравнению с НММ (см. табл. 6 и 7).

Токсичность гомологов НММ и ДМНМ, а также НМБ меняется в зависимости от способа их введения (см. табл. 6). Так, НММ, ДМНМ и НМБ более токсичны при внутривенном и внутрибрюшинном введении, чем при пероральном и подкожном введении. НЭМ, НПМ и ДЭНМ наиболее токсичны при внутривенном и пероральном введении.

Хлорэтилзамещенные НАМ — БХНМ, ЦГНМ и MeЦГНМ обладают одинаковой токсичностью при внутрибрюшинном и пероральном введении (см. табл. 7) [8].

Следует отметить, что для собак MeЦГНМ в 2—4 раза менее токсична, чем ЦГНМ и БХНМ (см. табл. 8).

Таблица 7
Значения LD₁₀ для ряда НАМ при n=1

Препарат	Способ введения	LD ₁₀ , мг/кг	Источник
БХНМ	В/б	41	[8,10]
То же	Внутрь	41	[8,10]
ЦГНМ	В/б	48	[8,13]
То же	Внутрь	46	[8,13]
MeЦГНМ	В/б	42	[8,11]
То же	Внутрь	42	[8,11]
Стрептозотоцин	В/б	275*	[9]
Хлорозотоцин	В/б	20	[12]

* Указано значение LD₅₀.

Таблица 8

Токсичность НАМ для крупных лабораторных животных (введение внутрь, n=1) [11]

Токсичность	БХНМ		ЦГНМ				MeЦГНМ			
	мг/кг	мг/м ³	мг/кг	мг/м ³	мг/кг	мг/м ³	мг/кг	мг/м ³	мг/кг	мг/м ³
	Собаки		Обезьяны				Собаки			
ЛД	5,00	100	10	200	—	—	100,0	1200	25,00	500
ТД _{max}	—	—	—	—	—	—	50,0	600	12,50	250
ТД _{min}	1,25	25	3	40	3	36	25,0	300	6,25	125
МПД	—	—	<3	—	—	—	12,5	150	—	—

Для практического использования препаратов, оптимизации методики их применения важное значение имеет изучение явлений кумуляции и обратимости токсического действия соединений. Степень накопления токсического (побочного) влияния химиотерапевтических веществ при повторных введениях характеризуется величиной индекса кумуляции, вычисляемой по формуле:

$$\text{Индекс кумуляции} = \frac{(\text{МПД})_1 - (\text{МПД})_n}{(n - 1) \cdot (\text{МПД})_n} \cdot 100\%$$

где (МПД)₁ и (МПД)_n — максимально переносимые дозы при однократном и n-кратном введениях соответственно [14].

Кумулятивная способность у разных НАМ, как видно из табл. 6, неодинакова. Слабая кумуляция токсического эффекта и даже его частичная обратимость свойственны НЭМ, ДМНМ и НМБ. Кумулятивные свойства других препаратов — НММ, НПМ и ДЭНМ — в значительной мере зависят от способа применения.

Так, например, побочное действие НММ сильнее кумулируется при внутривенном и внутрибрюшинном введении (индекс кумуляции равен 100%) и в меньшей степени при подкожном и тем более при пероральном применении, когда ее токсичность почти полностью обратима (индекс кумуляции составляет 25%). В рассматриваемой группе алкилированных нитрозомочевин кумулятивный эффект наиболее выражен у НПМ при внутрибрюшинном введении и у ДЭНМ при введении внутрь, подкожно и внутрибрюшинно. В этих случаях индекс кумуляции превышает 100%, что свидетельствует о сенсибилизации животных к токсическому действию препаратов при указанных способах их применения.

Таблица 9

Зависимость кумулятивного эффекта от схемы введения ЦГНМ (мыши) [13]

Схема введения	Доза, мг/кг/сут	Летальность, %	Интервалы гибели, сут.
Однократно			
1 раз в сут	128	75,0	7—13
8 раз в сут	128	37,5	2—19
Ежедневно с 1 по 5 сут			
1 раз в сут	32	87,5	12—19
8 раз в сут	32	87,5	11—24
Ежедневно с 1 по 9 сут	32	100,0	10—15
Каждые 4 дня (1,5 и 9 сут)			
1 раз в сут	32	50,0	15—35
8 раз в сут	32	75,0	13—30

Кумуляция токсического действия существенным образом зависит не только от способа, но и от режима применения препарата. Такого рода зависимость может быть проиллюстрирована на примере ЦГНМ (табл. 9) [13].

Восьмикратное на протяжении суток введение ЦГНМ обуславливает меньшую гибель животных; нежели однократное введение препарата в той же суммарной дозе, т. е. вещество не имеет заметной тенденции к накоплению. При ежедневном, восьмикратном в течение суток введении препарата на протяжении 5 сут эффект накопления становится более существенным. При этом наблюдается гибель такого же количества животных, как и при пятикратном введении препарата по одному разу в сут. Наиболее выражена кумуляция ЦГНМ при введении ее восьмикратно в течение суток с интервалами в 4 сут при трехкратном повторении этого воздействия. Такая схема применения вызывает в 1,5 раза большую гибель животных, нежели введение той же суммарной дозы за три инъекции (на 1,5 и 9 сут).

Существенные сведения об особенностях действия препарата дает наблюдение за сроками гибели животных.

Так, для хлорэтилзамещенных НАМ характерна гибель животных в отдаленные сроки, не на 3—7 сут после введения, как для большинства противоопухолевых агентов, а через 10—40 сут [10, 15—19].

Подобная тенденция, хотя и несколько слабее выраженная, имеет место также для НММ и ее аналогов. При применении этих веществ гибель животных наблюдается обычно с 1 по 15 сут, однако нередко при введении сублетальных доз токсические свойства могут проявляться и в более поздние сроки, вплоть до 30 сут [6, 18, 20, 21].

Стрептозотоцин и хлорозотоцин в летальных дозах приводят к гибели животных на 4—6 сут после введения препаратов [19].

ПРЕДКЛИНИЧЕСКИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основная задача предклинических исследований — выявление общего спектра органной токсичности препарата на нескольких видах животных (мыши, крысы, кролики, морские свинки, кошки, а в последнее время также собаки и обезьяны). Анализ полученных данных позволяет обоснованно решить вопрос о возможности клинического изучения нового потенциально активного лекарственного средства.

Рассмотрим данные о токсикологии и фармакологии НАМ, как апробированных клинически (НММ, БХНМ, ЦГНМ, стрептозотоцин) или проходящих клинические испытания (ДМНМ, МеЦГНМ), так и изученных лишь экспериментально, но перспективных для дальнейшего изучения в клинике (хлорозотоцин).

Токсическое действие цитостатиков и их фармакокинетическое поведение в организме в значительной мере зависит от вида лекарственной формы. Нахождение оптимальной лекарственной формы может существенно улучшить результаты лечения и уменьшить токсичность препарата.

Для растворимых в воде НАМ наилучшим путем введения следует считать внутривенные инъекции. Поскольку водные растворы НАМ нестабильны, в качестве лекарственной формы для этих препаратов применяется стерильный порошок, приготовляемый методом низкотемпературной вакуумной лиофилизации. Непосредственно перед употреблением порошок растворяется в дистиллированной воде или физиологическом растворе (НММ, ДМНМ, стрептозотоцин), либо предварительно в абсолютном спирте с последующим разбавлением этого раствора дистиллированной водой (БХНМ) [9, 22].

Лекарственной формой нерастворимых в воде НАМ (ЦГНМ, МеЦГНМ), применяемых per os, является порошок, расфасованный в желатиновые капсулы.

Для парентерального введения ЦГНМ и МеЦГНМ делаются попытки использовать различные системы растворителей. В частности, применяют смесь абсолютного этилового спирта и 10%-ной жировой эмульсии (в соотношении 3:100) или смесь, состоящую из равных частей поверхностноактивного вещества (полиэтокселированное растительное масло с 7% эмульгатора) и абсолютного спирта, с добавлением физиологического раствора или декстрозы для доведения концентрации растворителя до 10%. Растворимость ЦГНМ в таком растворителе составляет 1,5 мг/мл, а МеЦГНМ — 3 мг/мл [22, 23].

Экспериментально изучали также возможность подкожного применения препаратов — ЦГНМ в силиконовом имплантате [24], а МеЦГНМ в диметилполисилоксановых капсулах [25]. Большая продолжительность воздействия препарата при подкожной имплантации (время полувыведения для ЦГНМ, например, увеличивается более чем в два раза) может привести к усилению противоопухолевого эффекта [24, 26].

Естественно, что предклиническое исследование токсических, фармакологических и противоопухолевых свойств препаратов проводится с той лекарственной формой, которую предполагается использовать в клинике.

НММ. Фармакологическое изучение НММ показало, что побочное действие препарата заключается главным образом в угнетении гемопоэза [24]. Степень угнетения и его длительность зависят от дозы и способа введения вещества.

При десятикратном введении НММ внутрь в дозах 50—25 мг/кг/сут большинство животных (крысы) погибает с явлениями глубокой лейкопении, тромбоцитопении и ретикулоцитопении. У погибших животных и у забитых на 20 сутки после последнего введения препарата наблюдаются апластические процессы, развивающиеся в лимфоидной, миелоидной и, в меньшей степени, в эритробластической тканях кроветворной системы. Отмечается атрофия герминативных элементов в семенных канальцах.

Подкожное введение тех же доз переносится лучше — наблюдаемые при этой лейкопении и аплазия вилочковой железы и гипоплазия клеток селезенки и костного мозга носят обратимый характер.

Десятикратное внутривенное и внутрибрюшинное введение препарата в дозе 20 мг/кг/сут вызывает обратимую лейкопению и гипоплазию вилочковой железы и костного мозга.

При всех способах введения десятикратное применение НММ в дозе 10 мг/кг и шестикратное по 20 мг/кг/сут не угнетает кроветворения. Патоморфологические изменения выражаются в незначительной временной гипоплазии клеток вилочковой железы.

Подкожное введение 0,3—0,7%-ного раствора НММ может вызывать в месте введения раздражение тканей вплоть до их некроза.

Таким образом, в дозах до 10 мг/кг/сут при всех изученных способах многократного применения НММ не обладает свойствами, которые могли бы препятствовать ее клиническому изучению в качестве противоопухолевого средства [27].

ДМНМ. Как уже указывалось, ДМНМ в максимально и хорошо переносимых дозах не угнетает гемопоэз [28]. При хроническом введении животным (крысы) внутривентриально на протяжении месяца в различных дозах препарат не действует на состав периферической крови (табл. 10).

При длительном применении препарата в дозах 20 мг/кг/сут и более наблюдается развитие энтерита.

Изменений в электрокардиограммах экспериментальных животных (кролики) НММ и ДМНМ не вызывают. Препараты обладают незначительным седативным и гипотензивным действием [27, 28].

Хлорэтилзамещенные НАМ. Высокие дозы препаратов (см. ЛД и ТД_{max}, табл. 8) оказывают повреждающее действие на костный мозг, сердечно-легочную систему, желудочно-кишечный тракт, печень, почки и лимфатические ткани животных [11, 13, 16, 29—36].

Представление о токсическом влиянии БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ на различные органы и системы организма животных (собаки) при однократном введении внутрь дают данные табл. 11, в которой показано также общее летальное действие токсических доз препаратов в виде отношения числа погибших животных к общему числу подопытных собак, получавших НАМ.

Из табл. 11 следует, что токсические реакции на введение препаратов сходны. Можно лишь отметить, что при применении БХНМ отсутствуют осложнения со стороны сердечно-легочной системы, а токсические поражения почек наблюдаются только при введении ЦГНМ.

Характер токсических поражений, развивающихся у животных, получивших летальные (ЛД) и сублетальные (ТД_{max}) дозы хлорэтилзамещенных НАМ, сводится к следующему.

Препараты в летальных дозах вызывают гипоплазию костного мозга у собак и обезьян. У выживших животных отмечаются обратимые лейкопения, тромбоцитопения и анемия. Особенность действия хлорэтилзамещенных НАМ — отсроченный характер угнетения гемопоэза. Признаки миелодепрессии появляются не сразу после введения препаратов, а спустя некоторое, обычно длительное время после воздействия (от 1 до 3 мес) [8, 11, 13, 23].

Осложнения со стороны сердечно-легочной системы заключаются в развитии отека легких, инфаркта миокарда, субэндокардиальных и перикардиальных кровоизлияниях (в основном у собак, редко — у обезьян) [33].

Таблица 10. Влияние ДМНМ на состав периферической крови животных (крысы) при внутривенном введении * [28]

Суточная доза, мг/кг	До введения препарата				После 11 инъекций				После 21 инъекции				После 30 инъекций	
	Эритроциты, млн	Лейкоциты	Гемоглобин, %	Эритроциты, млн	Лейкоциты	Гемоглобин, %	Эритроциты, млн	Лейкоциты	Гемоглобин, %	Эритроциты, млн	Лейкоциты	Гемоглобин, %	Лейкоциты	Гемоглобин, %
10	7,834	10 120	82,8	8,354	11 905	86,0	8,464	11 885	86,6	8,708	10 400	86,7		
20	8,086	8 900	78,7	7,763	9 890	81,1	8,426	10 560	84,4	7,847	9 030	86,2		

* Представлены средние значения для 10 животных на каждую дозу препарата.

Таблица 11. Токсичность хлорэтилзамещенных НАМ для отдельных органов и систем организма животных (собаки, введение внутрь, n=1) [35]

Доза, мг/кг	Летальность*	Число животных с умеренным и сильным поражением органов**			
		кровотворение	сердце, легкие	желудочно-кишечный тракт	печень
1,25 (ТД _{min}) 5,00 (LD)	0/2	0/2	0/2	1/2	0/2
	1/2				
2,00 (ТД _{min}) 10,00 (LD) 30,00 (LD)	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2
	1/2				
	2/2				
6,25 (ТД _{min}) 12,50 (ТД _{max}) 25,0 (LD)	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
	0/5				
	3/4				

* В числителе — число погибших животных, в знаменателе — общее число подопытных животных;

** В числителе — число животных с умеренным и сильным поражением органов, в знаменателе — общее число подопытных животных.

В токсических дозах ($TД_{max}$ и $TД_{min}$) препараты вызывают рвоту, повреждение слизистой оболочки кишечника и кровоизлияния в желудочно-кишечном тракте.

Нарушение функции почек приводит у обезьян к прогрессирующей уремии, которая при применении высоких доз ($TД_{max}$ и $LД$) становится необратимой.

Наблюдаются атрофические и геморрагические изменения в лимфоузлах (собаки и обезьяны).

Токсические реакции со стороны печени развиваются в отдаленные сроки даже при применении минимально токсических доз ($TД_{min}$).

Таблица 12

Токсичность однократной инфузии ЦГНМ для собак и обезьян [16]

Токсичность	Собаки		Обезьяны	
	мг/кг	мг/м ²	мг/кг	мг/м ²
LД	5,0	100	10,0	120
$TД_{max}$	2,5	50	5,0	60
$TД_{min}$	1,25	25	2,5	30
МПД	0,625	12,5	1,25	15

Гепатотоксичность наиболее характерна для ЦГНМ. Самым ранним ее проявлением служит уменьшение содержания гликогена и повышение содержания щелочной фосфатазы в ткани печени спустя 1—2 нед после приема препарата внутрь (собаки). Через 3—4 нед отмечается появление перипортального фиброза, гиперплазия купферовских клеток. Эти изменения держатся в течение длительного времени (до 30 мес). В сыворотке крови спустя 2—3 нед после приема препарата наблюдается обратимое повышение активности аланинаминотрансферазы, сывороточной щелочной фосфатазы и изменение в спектре изоэнзимов лактатдегидрогеназы [17].

Исследование последствий однократной длительной (50—103 мин) внутривенной инфузии ЦГНМ показало, что возникающие при этом токсические явления в основном такие же, как и при пероральном применении препарата, за исключением появления патологических реакций со стороны ЦНС и снижения неблагоприятного действия на желудочно-кишечный тракт [16, 36].

Уровень токсических доз ЦГНМ при однократной инфузии для собак и обезьян показан в табл. 12, а значения $TД_{min}$ для отдельных органов и систем организма этих животных приведены в табл. 13.

Сопоставление токсических доз, представленных в табл. 12, показывает большую чувствительность к ЦГНМ собак. Аналогичное явление отмечено для БХНМ и МеЦГНМ. Данные о распре-

Таблица 13

Минимальные токсические дозы (TD_{min}) для отдельных органов и систем организма животных при однократной инфузии ЦГНМ [16]

Орган	Собаки		Обезьяны	
	мг/кг	мг/м ²	мг/кг	мг/м ²
Костный мозг	1,25	25	2,5	30
Лимфоидная ткань	2,50	50	2,5	30
Почки	>10,00	200	10,0	120
Печень	2,50	50	5,0	60
Яички	5,00	100	10,0	120
Кишечник	5,00	100	30,0	360

делении меченых препаратов позволяют объяснить эти различия меньшим поглощением веществ соответствующими органами у обезьян [16, 35].

Как и во многих других медико-биологических исследованиях, обезьяны являются наилучшей моделью для прогнозирования токсического действия противоопухолевых препаратов и, в частности, НАМ в клинических условиях. У обезьян наблюдается развитие отсроченной нейтропении в форме двух «волн» уменьшения числа нейтрофилов. Аналогичная картина имеет место при применении ЦГНМ у больных [37]. В опытах на обезьянах была отмечена также тромбоцитопения. В еще больших масштабах тромбоцитопения наблюдается в клинике [38].

Нейтропения у собак непродолжительна, а тромбоцитопения вообще не развивается. В экспериментах с собаками отмечается зависящая от дозы обратимая отдаленная гепатотоксичность с трехнедельным латентным периодом, что не коррелирует с клиническими наблюдениями [38]. Гепатотоксичность у обезьян длится около двух недель после введения препарата и значительно менее выражена, нежели у собак. Нейротоксичность у обезьян проявляется в приступах рвоты сразу же после инфузии препарата и является, по-видимому, результатом непосредственного действия ЦГНМ на центральную нервную систему (ЦНС) вследствие быстрого проникновения препарата через гемато-энцефалический барьер.

Таким образом, имеется определенная корреляция между данными, полученными в экспериментах на животных, и побочными явлениями, наблюдающимися при клиническом изучении препаратов. Как правило, все органые проявления токсичности, наблюдаемые у больных, ранее были выявлены в ходе экспериментальных исследований. По-видимому, в эксперименте в результате использования летальных и сублетальных доз препаратов собаки и обезьяны демонстрируют значительное число пораженных органов и систем, в том числе те, которые не встречаются у человека [2, 18, 35, 39, 40].

Таблица 14

Токсические дозы стрептозотоцина (n=1) [12]

Животное	Введение препарата	LD ₅₀		Животное	Введение препарата	LD ₅₀	
		мг/кг	мг/м ²			мг/кг	мг/м ²
Мышь	В/б	275	750	Собака	В/в	50	1000
Крыса	В/в	138	822	Обезьяна	В/в	50*	600*

* Приведены значения максимально переносимых доз.

Значительное угнетение кроветворения, лимитирующее применение НАМ в максимальных терапевтических дозах, обуславливает поиск путей введения препаратов, обеспечивающих повышение их эффективности без увеличения токсического действия.

Заслуживает внимания изучение возможностей внутриартериального введения НАМ. Сопоставление токсичности БХНМ при внутриартериальном и внутривенном введении в опытах на собаках показало одинаковое угнетение кроветворения при обоих методах введения [41]. Вместе с тем внутриартериальное введение БХНМ через сонную артерию сопровождалось тяжелыми местными токсическими реакциями (васкулиты и инфаркты мозга). Кроме того, большинство животных ослепло вследствие отека роговицы и сетчатки. Эти результаты свидетельствуют о необходимости весьма осторожного использования внутриартериальной инъекции БХНМ у больных.

Стрептозотоцин. Препарат обладает двумя характерными фармакологическими особенностями — он не угнетает гемопоэз и имеет выраженное диабетогенное действие [9, 19, 42—45].

В токсических и максимально переносимых дозах (табл. 14) стрептозотоцин вызывает стойкий диабет в результате поражения β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. Морфологически это проявляется в расширении петель эндоплазматической сети, набухании митохондрий и дегрануляции клеток. В основе диабетогенной активности препарата лежит быстрое снижение концентрации пиридиннуклеотидов в ткани поджелудочной железы [19, 21, 44, 49]. Этим объясняется предупреждение развития диабета при предварительном введении никотинамида [44, 45, 49].

Применение высоких доз стрептозотоцина ведет, помимо диабета, к ожирению печени и изменению биохимических показателей ее функционального состояния у всех видов лабораторных животных [12, 19, 42—45]. Введение препарата в течение двух недель (собакам в дозах, превышающих 1 мг/кг/сут, обезьянам в дозах более 3 мг/кг/сут) приводит к развитию реактивных гепатитов со сдвигом биохимических показателей в

сыворотке крови — увеличение уровня щелочной фосфатазы, трансаминазы, изменение бромсульфалеиновой пробы [12].

В некоторых случаях отмечается появление нефропатий (обезьяны) под влиянием стрептозотоцина [46].

Изучение влияния способа и скорости введения препарата животным (собаки) на диабетогенные и гепатотоксические свойства показало, что введение антибиотика в дозе 35 мг/кг (МПД) внутривенно одномоментно или в виде коротких (1 ч) инфузий вызывает длительную гипергликемию, появляющуюся через 1—4 ч после инъекции. Поражение печени также носит

Таблица 15

Влияние хлорозотоцина и БХНМ на число лейкоцитов и лейкоцитарную формулу периферической крови животных (мыши, $n=1$) * [19]

Препарат	Доза, мг/кг (в/б)	Число лейкоцитов, % к контролю	Лейкоцитарная формула, %			
			нейтрофилы	лимфоциты	моноциты	эозинофилы
Хлорозотоцин	(LD ₁₀) 20	72	43	52	5	0
	(LD ₁₀₀) 50	24	72	20	8	0
БХНМ	(LD ₂₀) 0	60	12	78	8	2
	(LD ₁₀) 30	28	19	73	9	0
Контроль		100	44	45	10	1

* Данные получены на 3 сут после введения препаратов, в момент наиболее глубокого спада числа лейкоцитов в периферической крови.

необратимый характер. Введение этой же дозы, но в виде длительной инфузии (6 ч) позволяет значительно снизить диабетогенный эффект препарата — несколько повышенный уровень сахара в крови снижается до нормальных значений спустя 21 сут после инфузии. К тому же сроку нормализуется уровень трансаминазы в сыворотке крови животных [12]. Таким образом, изменение способа применения препарата позволяет регулировать степень токсического действия.

Следовательно, присутствие фрагмента D-глюкозамина в положении N-3 НММ (X) снимает миелодепрессивное действие НММ (I), но приводит к резкому усилению гепатотоксичности и появлению диабетогенных свойств.

Хлорозотоцин. В поисках аналогов стрептозотоцина, минимально угнетающих гемопоэз и не индуцирующих диабет, были синтезированы вещества, из которых наиболее перспективным

оказалось монохлорэтилзамещенное производное — 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-2-деокси-Д-глюкопиранозил, известное под названием хлорозотоцин (XI) [19, 47, 48, 50].

Токсическое действие хлорозотоцина изучено в сопоставлении со свойствами его ближайшего аналога БХНМ (VII). Влияние этих двух препаратов на гемопоэз интактных животных показано в табл. 15.

Хлорозотоцин в дозах 15—20 мг/кг (МПД и LD_{10} соответственно) при внутрибрюшинном однократном введении приводит к снижению числа лейкоцитов в периферической крови на 18—28% по сравнению с контролем, с наиболее глубоким спадом на 3 сут после введения. При этом число нейтрофилов не снижается, а отношение нейтрофилы: лимфоциты практически не изменяется по сравнению с исходным.

БХНМ в дозе LD_{10} вызывает снижение числа лейкоцитов на 40% и уменьшение отношения нейтрофилы: лимфоциты с 0,98 до 0,15.

Хлорозотоцин в высокой дозе, равной LD_{100} (50 мг/кг), вызывает столь же глубокую лейкопению, как и введение БХНМ в дозе, равной LD_{20} . Даже в столь токсической дозе хлорозотоцин вызывает лишь умеренную гранулоцитопению костного мозга мышей и не ингибирует синтез ДНК в гемопоэтических клетках костного мозга животных [15, 19].

Исследования, проведенные в ряду производных стрептозотоцина, показывают принципиальную возможность снижения миелодепрессивного действия НАМ без утраты ими противоопухолевых свойств.

Анализ результатов предклинического фармакологического и токсикологического изучения НАМ показывает отчетливую связь между строением, особенностями фармакологического действия и направленностью токсических эффектов. Даже незначительная модификация химической структуры способна приводить к уменьшению токсического действия соединения, в частности, к снижению угнетения гемопоэза, при сохранении им противоопухолевой активности. Эти факты указывают на большие возможности в совершенствовании препаратов рассматриваемого класса путем направленного синтеза новых нитрозопроизводных.

ФАРМАКОКИНЕТИКА

Фармакокинетическое изучение поведения лекарственных средств включает исследование процессов поступления препаратов в организм, распределения их по органам и тканям и кинетики выведения. Получаемые при этом данные необходимы для разработки оптимальных методов применения препаратов.

Высокая противоопухолевая активность достигается в тех случаях, когда препарат в своей активной форме и в достаточно

высокой концентрации проникает через систему клеточных и цитоплазматических мембран и в течение достаточного времени воздействует на молекулы-мишени (ДНК, различного типа РНК, ферменты и др). Важное значение имеет также изучение процессов репарации, происходящих в нормальных и опухолевых клетках в результате воздействия химиотерапевтических агентов. Все эти исследования составляют предмет фармакокинетического изучения препаратов на субклеточном и молекулярном уровнях.

Для исследования фармакокинетики НАМ обычно используют препараты, меченные ^{14}C по карбонильной, метильной, этильной и циклогексильной группам. Наиболее изучена в настоящее время фармакокинетика НММ, БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ.

Общая характерная особенность НАМ — быстрое выведение этих препаратов из крови и накопление (скорее всего их метаболитов) в различных органах.

Спустя всего 4 мин после внутрибрюшинного введения НММ в крови здоровых крыс определяется лишь половинное количество этого препарата, а через 15 мин обнаруживаются только его следы [51]. В аналогичных опытах на мышах через 5 мин после введения НММ распределяется следующим образом: 85% препарата находится в плазме с периодом полувыведения, составляющим 25 мин, и 3,6% — в печени с периодом полувыведения 12 мин [52]. Время полувыведения БХНМ из плазмы собак и обезьян составляет менее 15 мин. Биологическое время полувыведения БХНМ и ЦГНМ у мышей с лейкозом L-1210 равно 1 ч и 1,5 ч соответственно [13, 53]. ЦГНМ выводится из плазмы крови мышей, а также из плазмы и спинномозговой жидкости (СМЖ) собак в две стадии: первая — с периодом полувыведения 5 мин, вторая — более 60 мин [53—55]. Аналогичные результаты были получены в опытах на мышах с МеЦГНМ. Обнаружены заметные различия в кинетике появления ЦГНМ, меченных ^{14}C по этильной и циклогексильной группам в плазме и СМЖ. Через 30—60 мин после внутривенного введения собакам уровень ^{14}C -этил-ЦГНМ в СМЖ в 3 раза выше, чем в плазме; и наоборот, уровень ^{14}C -циклогексил-ЦГНМ в 2 раза выше в плазме, чем в СМЖ. Это наблюдение коррелирует с данными по значительному (40—60%) карбамоилированию белков плазмы после введения ЦГНМ.

После введения ^{14}C -БХНМ больным радиоактивность появляется в плазме и затем относительно медленно исчезает с периодом полувыведения после приема внутрь, равным 34 ч, после внутривенного введения — 67 ч [54, 56]. Показано, что обнаруживаемая радиоактивность связана с продуктами метаболизма БХНМ. Выведение БХНМ из плазмы имеет двухстадийный характер, что, возможно, объясняется энтерогепатиче-

ской рециркуляцией. С наблюдаемым эффектом, вероятно, связана отсроченная миелотоксичность препарата. В СМЖ радиоактивность появляется сразу после внутривенного введения [54, 56].

После перорального применения у больных ЦГНМ, меченой в трех положениях по карбонильной, циклогексильной и хлорэтильной группам, радиоактивность быстро появляется в плазме крови, достигая максимума через 1, 3 и 4 ч соответственно. Максимальное содержание активности в плазме соответствует 0,1% введенной дозы. Исчезновение из плазмы хлорэтильной группы ЦГНМ имеет однофазовый характер с периодом полувыведения 72 ч; выведение циклогексильной и карбонильной групп происходит в две стадии с временем полувыведения 4 и 5 ч для первой стадии и 50 и 27 ч для второй стадии соответственно (рис. 5, а). Неизменной ЦГНМ в плазме крови не обнаруживается [3, 57].

При пероральном приеме MeЦГНМ радиоактивность обнаруживается в плазме через 10 мин и достигает максимума через 3 ч при использовании препарата, меченого по циклогексильной группе, или через 6 ч — меченого по хлорэтильной группе. Препарат почти полностью всасывается из желудочно-кишечного тракта. Выведение радиоактивности имеет однофазовый характер (метка по хлорэтильной группе) с периодом полувыведения 36 ч или двухфазовый характер (метка по циклогексильной группе) с периодами полувыведения 24 и 72 ч (рис. 5, б) [54, 57, 58].

В СМЖ радиоактивность обнаруживается через 30 мин после приема ЦГНМ и через 2—3 ч — MeЦГНМ. Неизменные препараты ЦГНМ и MeЦГНМ в СМЖ не определяются [3, 57].

После внутривенного введения больным стрептозотоцина, меченого в двух положениях (^{14}C -НММ, ^3H -глюкоза), неизменный препарат определяется в плазме крови в течение первых 3 ч (рис. 6). Выделение метаболитов, меченных ^{14}C и ^3H , из плазмы происходит в три фазы: первая с периодом полувыведения 6 мин, вторая — 3,2—3,5 ч и третья — 40 ч. Сопоставляя кинетику выведения из плазмы крови стрептозотоцина с таковой БХНМ, ЦГНМ и MeЦГНМ, следует отметить, во-первых, большую стабильность стрептозотоцина и, во-вторых, более медленное выведение метаболитов ^{14}C -стрептозотоцина, чем БХНМ, ЦГНМ и MeЦГНМ. Максимальная концентрация препарата в плазме составляла 30—40 мкг [59]. В СМЖ не удается обнаружить стрептозотин и метаболиты ^3H -глюкозы, в то время как концентрация метаболитов ^{14}C -НММ через 2 ч после введения препарата составляет 95% по отношению к концентрации в плазме крови. Следовательно, проникновение в СМЖ метаболитов НММ происходит быстрее и в больших дозах, чем метаболитов БХНМ, ЦГНМ и MeЦГНМ [60].

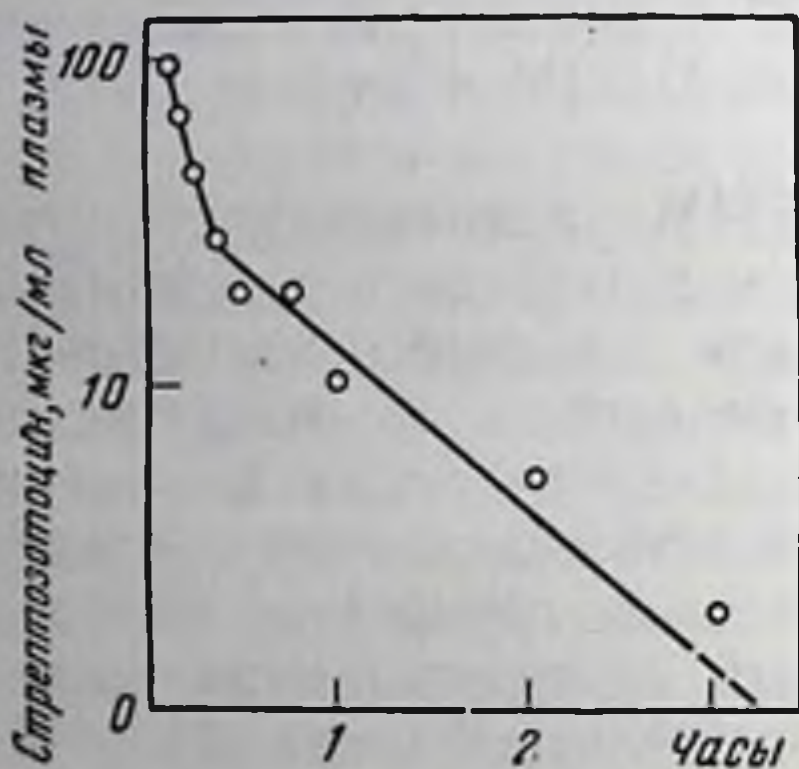
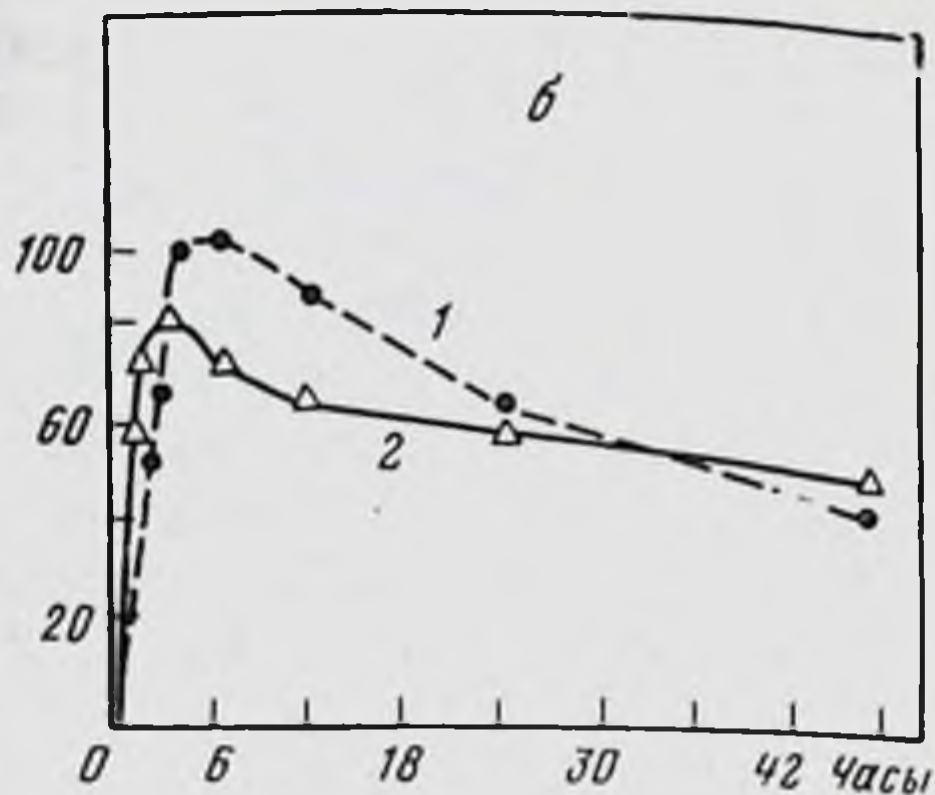
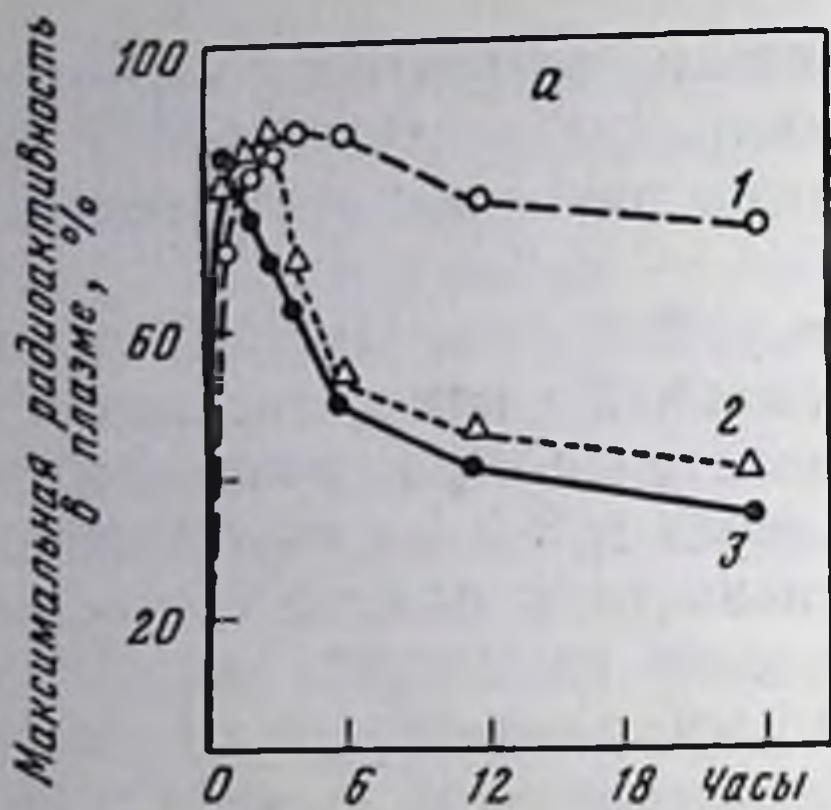


Рис. 5. Изменение уровня радиоактивности в плазме больных после приема ^{14}C -ЦГНМ (а) и ^{14}C -МеЦГНМ (б) [56]

- 1 — метка по хлорэтильной группе;
- 2 — метка по циклогексильной группе;
- 3 — метка по карбонильной группе

Рис. 6. Выведение из плазмы крови больных неизмененного стрептозотоцина [59]

НАМ и продукты их разложения вскоре после введения быстро распределяются по органам.

В табл. 16 приведены данные, характеризующие распределение по органам метил- ^{14}C -НММ и метил- ^{14}C -стрептозотоцина спустя 15 мин после внутривенного введения препаратов [49]. Препараты вводили в эквимольных дозах интактным мышам. Видны существенные различия в распределении этих препаратов по органам. В печени и почках стрептозотоцин (или продукты его разложения) накапливается в 2 и 4 раза больших количествах, чем НММ, тогда как в мозгу обнаруживается в 4 раза больше НММ, нежели стрептозотоцина. Особенно следует отметить значительное накопление стрептозотоцина в поджелудочной железе, что коррелирует с его диабетогенной активностью.

Оба препарата весьма незначительно накапливаются в костном мозгу.

В опытах с хомячками не обнаружено избирательного концентрирования НАМ в каких-либо органах, однако через 5 дней после внутривенного введения ЦГНМ (10 мг/кг), меченной по

Таблица 16

Распределение ^{14}C -стрептозотоцина и ^{14}C -НММ по органам животных [49]

Препарат	Островки Лангерганса поджелудочной железы, имп/мин на 50 островков	Экзокринная зона поджелудочной железы	Печень	Почки	Мозг	Костный мозг	Мышцы	Жировая ткань, имп/мин/мг триглицеридов
Стрептозотоцин	1114	284	3911	1712	325	20	574	400
НММ	290	670	1538	468	1394	23	1160	428
P	—	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,1	<0,01	<0,1

этильной группе, в печени обезьян обнаруживается довольно высокая радиоактивность [33, 53, 54].

Ниже приведены данные о распределении по органам обезьян ^{14}C -ЦГНМ [33]:

Орган	Удельная радиоактивность, имп/мин/г	Орган	Удельная радиоактивность, имп/мин/г
Печень	9410	Мышцы	240
Желчь	1180	Тонкая кишка	190
Почки	570	Толстая кишка	180
Селезенка	390	Яички	0
Легкие	310	Мозг	0
Сердце	300		

В биопсированных тканях опухолей человека определялись ^{14}C - и ^3H -метаболиты стрептозотоцина, и оказалось, что содержание ^{14}C -метаболитов соответствует их уровню в плазме, а концентрация ^3H -метаболитов значительно выше, чем в плазме. Предполагается, что глюкоза, входящая в состав стрептозотоцина, способствует проникновению и накоплению препарата в опухоли [60].

БХНМ, ЦГНМ и MeЦГНМ в виде продуктов разложения выводятся из организма в основном почками (табл. 17) [61]; менее 5% — через кишечник и менее 10% — в виде CO_2 [33].

Скорость выведения продуктов распада НАМ почками у мышей выше, чем у собак, обезьян и человека. После парентерального введения ^{14}C -циклогексил-ЦГНМ в выделениях мышей и собак, кроме неидентифицированных продуктов распада, обнаруживается циклогексиламин и дициклогексилмочевина, что подтверждает возможность образования изоцианатов в процессе биотрансформации НАМ [53].

Таблица 17

Выведение ^{14}C -этилен-НАМ почками через 24 ч после введения [61]

Вид млекопитающих	Способ введения	Радиоактивность, % от введенной		
		БХНМ	ЦГНМ	МеЦГНМ
Мыши	Внутрь	78	80	71
	В/б	78	86	73
Собаки	В/в	29	37	29
Обезьяны	В/в	61	88	—
Человек	Внутрь	49	50	47
	В/в	38	—	—

Радиоактивные продукты метаболизма БХНМ у больных злокачественными опухолями выделяются в основном почками (38—48% за первые сутки); через кишечник выделяется менее 1% введенной радиоактивности, в виде $^{14}\text{CO}_2$ — 6—10% за 24 ч [54, 56].

В табл. 18 приведены данные о выделении больными через почки меченых ЦГНМ и МеЦГНМ [56]. Через 2 сут после приема препаратов выделяется 60% введенной радиоактивности.

Таблица 18

Выведение меченых ЦГНМ и МеЦГНМ [57]

Время после введения, часы	Кумулятивный процент выделенной активности				
	циклогексильная группа	хлорэтильная группа	карбонильная группа	циклогексильная группа	хлорэтильная группа
	^{14}C -ЦГНМ			^{14}C -МеЦГНМ	
6	38 ± 0	24 ± 2	20 ± 3	18 ± 3	17 ± 3
12	56 ± 3	39 ± 2	38 ± 2	38 ± 7	29 ± 4
24	66 ± 3	50 ± 3	54 ± 4	49 ± 8	47 ± 5
48	77 ± 2	60 ± 2	56 ± 4	57 ± 8	61 ± 4

Экскреция радиоактивности заканчивается к 72 ч. Двухфазный характер выведения препаратов из плазмы может быть обусловлен тем, что некоторые метаболиты связываются с белками плазмы и поэтому выделяются медленно.

Около 10—15% введенного стрептозотоцина выделяется почками в неизменном виде, 60% — в виде ^3H -метаболитов и 30% — в виде ^{14}C -метаболитов. В целом следует отметить, что фармакокинетика стрептозотоцина отличается от поведения в организме хлорэтильных производных НАМ [60]. Фармакокинетика НММ у больных не изучена.

Кинетика связывания и освобождения НАМ макромолекулами и субклеточными структурами была изучена на молекулярном уровне в опытах на мышах с солидной гепатомой 22а, которым вводили ^{14}C -НММ.

Введение внутрибрюшинно НММ, меченной ^{14}C по метильной группе, приводит к появлению радиоактивности во фракциях РНК гепатомы и печени животных-опухоленосителей. Через 4 ч после введения ^{14}C -НММ цитоплазматические рРНК и тРНК печени метилируются в 2 раза интенсивнее, чем соответствующие РНК гепатомы. Радиоактивность ядерной фракции РНК печени и гепатомы приблизительно одинакова, однако наблюдаются существенные различия в метилировании отдельных фракций ядерной РНК.

Изучение кинетики появления радиоактивности в нормальных клетках животных-опухоленосителей и в клетках гепатомы

Таблица 19

Кинетика включения ^{14}C -НММ в ДНК, РНК, белки и липиды органов мышей-опухоленосителей и гепатомы 22а

Ткань	Время после введения ^{14}C -НММ, часы	Макромолекула	имп/мин/мг/ДНК			
			ДНК	Белок	РНК	Липиды
Печень	1	54584	5684	18863	11614	17446
	5	55819	10778	16893	14824	13328
	19	29303	2907	11626	7240	9013
	48	19406	2585	6858	4643	5319
Гепатома	1	10919	1958	2147	2474	3586
	5	12190	2395	3465	2886	3819
	19	11859	2458	3795	3154	1832
	48	12839	3092	4700	2838	2208
Селезенка					РНК + липиды	
	1	16159	2462	4388	9309	
	19	7510	2031	2834	2645	
	48	5609	1893	2006	1710	

22а после введения НММ, меченной ^{14}C по метильной группе, позволило выяснить характер различий в метилировании не только РНК, но также ДНК, белков и липидов нормальных и опухолевых клеток. После однократного введения ^{14}C -НММ внутрибрюшинно в дозе 80 мг/кг радиоактивность появляется в кислоторастворимой и нерастворимой фракциях печени (наиболее высокое значение), в селезенке и гепатоме [62]. Нормальные покоящиеся клетки печени быстро освобождаются от радиоактивности, и через 19 ч в них остается 54% от той величины, которая определяется через час после введения препарата

(100%), а через 48 ч — 25% (табл. 19). Клетки селезенки также быстро освобождаются от радиоактивности в кислотонерастворимой фракции. В отличие от этого в гепатоме радиоактивность в макромолекулах продолжает медленно расти в течение всего периода опыта (48 ч) и составляет через 48 ч 117% по сравнению с уровнем радиоактивности через час после введения НММ.

Существенное метилирование липидов имеет место через час после введения ^{14}C -НММ как в гепатоме, так и в печени и селезенке. Возможно, высокая растворимость НММ в липидах обусловлена протеканием процессов алкилирования этой фракции. Высокая степень метилирования белков и липидов дает основание предположить, что НММ обладает способностью повреждать клеточные и внутриклеточные мембраны и это может быть связано с ее противоопухолевой активностью и способностью проникать через гематоэнцефалический барьер. Заметные количества ДНК обнаружены во фракции микросом, а также во фракции лизосомы + митохондрии, что свидетельствует о повреждении ядерной мембраны при введении НММ.

Наиболее существенный итог фармакокинетических исследований на молекулярном уровне состоит в том, что после введения ^{14}C -НММ радиоактивность, обнаруживаемая в ДНК, РНК, белках и липидах печени и селезенки, быстро уменьшается, а в клетках гепатомы (во всех фракциях, кроме липидов) продолжает нарастать. По-видимому, в нормальных клетках печени и селезенки идет репарация ДНК и быстрый распад поврежденных молекул РНК и белков и замена их новыми, а в гепатоме эти процессы замедленны.

Кинетические данные о метилировании различных субклеточных фракций нормальных и опухолевых клеток ^{14}C -НММ приведены в табл. 20.

Таблица 20

Кинетика включения ^{14}C -НММ в субклеточные фракции клеток печени и гепатомы

Ткань	Время после введения, часы	Ядро	Митохондрии, лизосомы, крупные микросомы	Цитоплазма I (свободные полирибосомы, микросомы, цитозоль)	Цитоплазма II (микросомы, клеточные обложки, внешняя ядерная оболочка)
Печень	1	9330	19585	18910	6710
	5	9562	10666	20560	7473
	19	5427	9272	13915	3635
	48	2262	4737	9903	3444
Гепатома	1	4627	648	3958	857
	5	4131	1021	3526	906
	19	5132	809	4238	758
	48	6074	872	5346	837

В клетках печени через 1 ч наибольшая радиоактивность обнаруживается в цитоплазме (47%), а также во фракции митохондрии + лизосомы (36%). Радиоактивность ядра составляет около 20% от общей радиоактивности. В клетках гепатомы радиоактивность в ядре и цитоплазме одинакова, а фракция митохондрии + лизосомы содержит лишь около 7% всей радиоактивности.

В нормальных клетках радиоактивность, как правило, быстро элиминируется из всех фракций к 19 и 48 ч; особенно быстро из фракции ядер и фракции митохондрии + лизосомы.

Анализ распределения радиоактивности между субклеточными фракциями (см. табл. 20) показал, что в печени во фракции митохондрии + лизосомы наибольшее количество радиоактивности сосредоточивается в белках и липидах, несколько меньше в РНК и меньше всего в ДНК; во фракции ядер радиоактивность изменяется в ряду ДНК → липиды → РНК и белки; в цитоплазме, в полисомах и рибосомах основная масса радиоактивности обнаруживается в РНК, а в цитозоле, содержащем тРНК, липиды и белки мембран радиоактивность падает в ряду белок → липиды → РНК. В этой же фракции обнаруживается значительное количество поврежденной ДНК с высокой удельной активностью. Распределение радиоактивности в гепатоме отличается лишь меньшим повреждением ДНК митохондрий.

Радиоактивность из макромолекул субклеточных фракций печени быстро удаляется, особенно из фракции митохондрии + лизосомы. В клетках гепатомы, наоборот, радиоактивность, как правило, не уменьшается и даже слегка увеличивается в ДНК, РНК и белках всех фракций [61].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что НММ существенно нарушает функцию митохондрий, алкилируя ДНК и липиды, что, возможно, будет вызывать нарушения функции мембран. Преимущественное алкилирование ДНК и РНК НММ было обнаружено в митохондриях печени нормальных животных.

При хроматографическом анализе метилированных рРНК и тРНК печени животных-опухоленосителей и гепатомы определяется основной продукт 7-метилгуанин.

Следовательно, обнаруженная через 1—5 ч после введения ¹⁴C-НММ радиоактивность в ДНК, РНК, белках и липидах в течение длительного времени сохраняется в гепатоме, но быстро выводится из печени и селезенки. В нормальных клетках наблюдается репарация ядерной и, по-видимому, митохондриальной ДНК; в клетках гепатомы оба типа ДНК в течение 48 ч заметно не репарируются.

НАМ способны не только алкилировать, но и карбамоилировать макромолекулы.

Было проведено исследование фармакокинетики НММ, меченной по карбонильной группе (¹⁴CO-НММ), в опытах на

мышях с гепатомой 22а, которым препарат вводили внутривенно однократно в дозе 80 мг/кг (табл. 21) [63].

В табл. 21 представлены результаты изменения радиоактивности кислотонерастворимой фракции гомогенатов (макромолекулы + липиды) плазмы крови, органов и гепатомы через различные интервалы времени после введения ^{14}C -НММ. Во всех органах животного-опухоленосителя максимальное накопление метки происходит через 5 ч после введения препарата

Таблица 21

Распределение радиоактивности общей кислотонерастворимой фракции по органам мышей с гепатомой 22а (в имп/мин/мг ДНК)

Орган	Время после введения, часы					
	1	5	24	72	96	120
Плазма	30250	11800	11650	3350	6860	3890
Мозг	15390	18800	4100	7480	4780	1315
Печень	8010	13600	5440	4930	2470	2185
Почки	3725	7520	2400	4350	1880	1280
Селезенка	3230	6220	1040	2720	—	580
Эпителий тонкого кишечника	2920	4570	1590	445	150	130
Гепатома	3110	3150	5000	3770	570	265

(100%). Однако радиоактивность начинает быстро элиминировать и к 24 ч составляет в мозгу 21%, в печени — 40, в почках — 31, в селезенке — 32, в эпителии тонкого кишечника — 35% по отношению к максимальному включению за 5 ч. В гепатоме наибольшее значение радиоактивности обнаружено через 24 ч после введения (160% по отношению к радиоактивности, регистрируемой через 5 ч). К 72 ч радиоактивность в гепатоме уменьшилась до 107%, а к 120 ч практически вся радиоактивность из гепатомы элиминирует. Следует отметить, что радиоактивность в плазме крови остается на достаточно высоком уровне в течение 72 ч после введения препарата.

На рис. 7 представлены кинетические кривые изменения распределения радиоактивности по фракциям; самый высокий уровень радиоактивности обнаруживается в липидах и составляет через 5 ч после введения ^{14}C -НММ в клетках печени и гепатомы 55% от общей радиоактивности, в селезенке и мозгу — 65, в почках и эпителии тонкого кишечника — 40%.

НММ быстро поражает клеточные и внутриклеточные мембраны, и этот процесс может быть связан не только с алкилированием, но и с карбамоилированием липидов и белков под действием НММ. Показано значительное карбамоилирование белков всех органов и особенно гепатомы при внутривенном введении НММ: радиоактивность в белках составляет 60%, в селезенке —

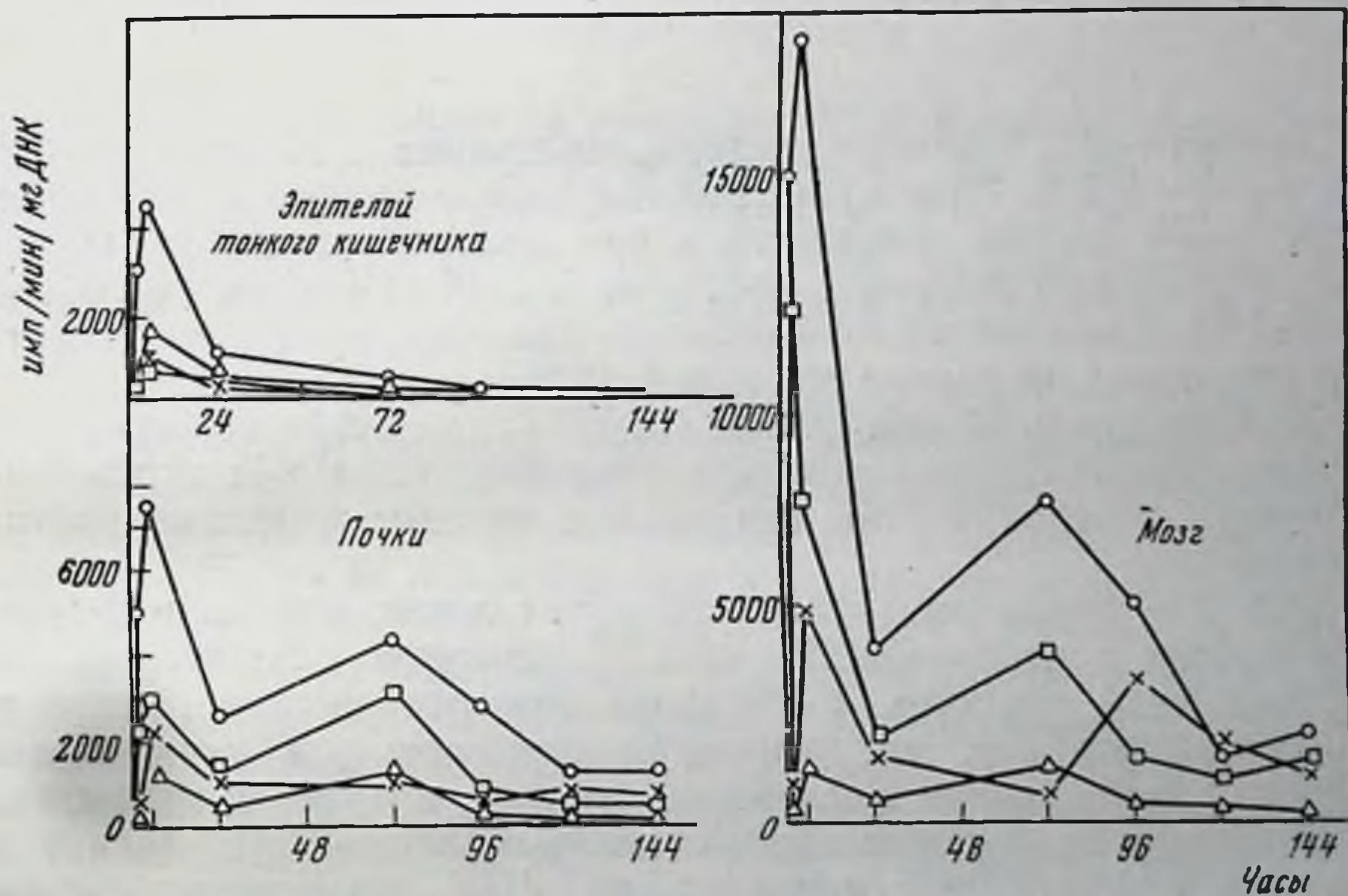
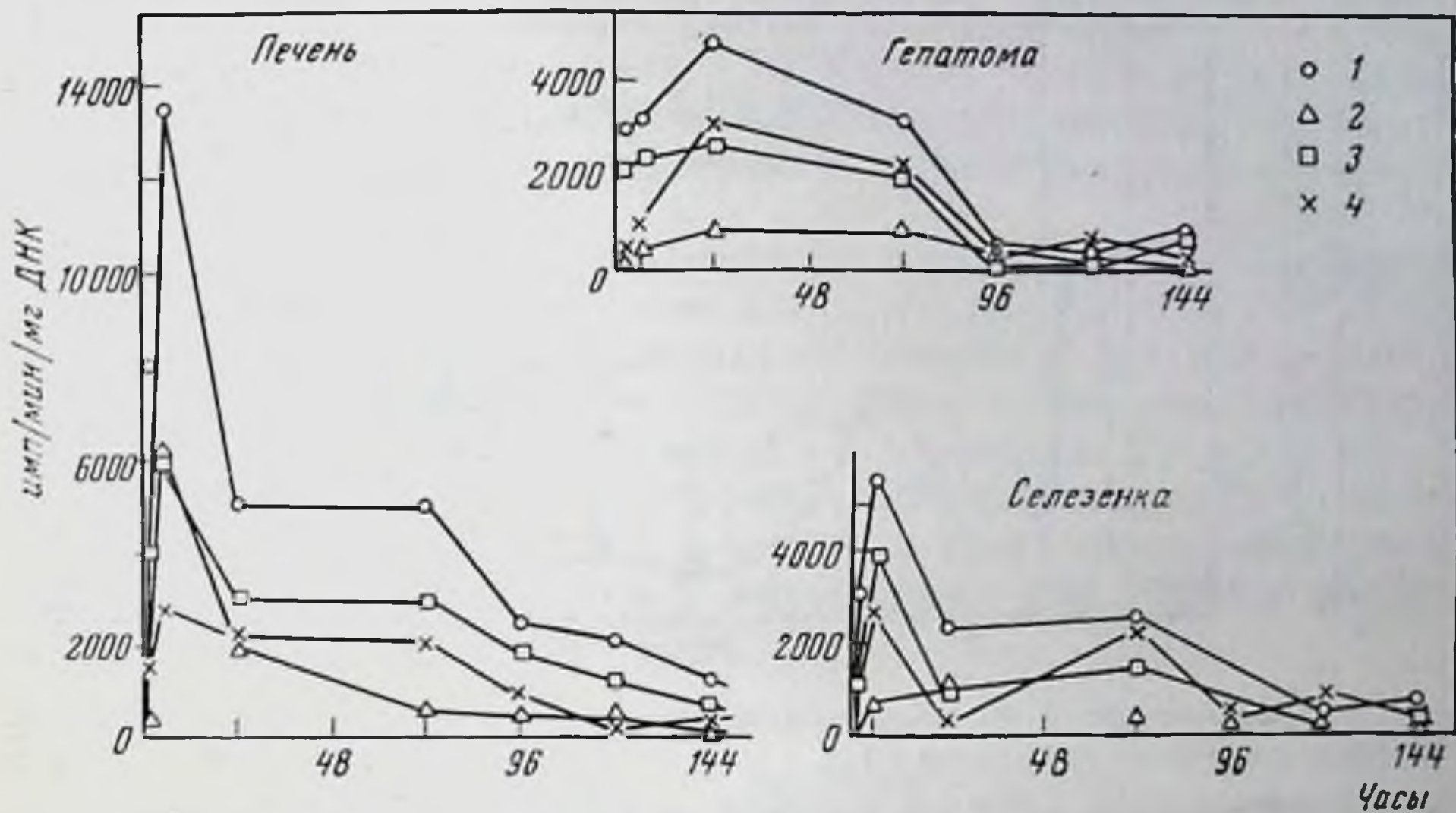


Рис. 7. Изменение радиоактивности в макромолекулах и липидах печени, селезенки, гепатомы, эпителия тонкого кишечника, почек и мозга после однократного внутривенного введения ^{14}C -НММ (80 мг/кг) мышам с гепатомой 22а

1 — все макромолекулы; 2 — ДНК; 3 — липиды; 4 — белок

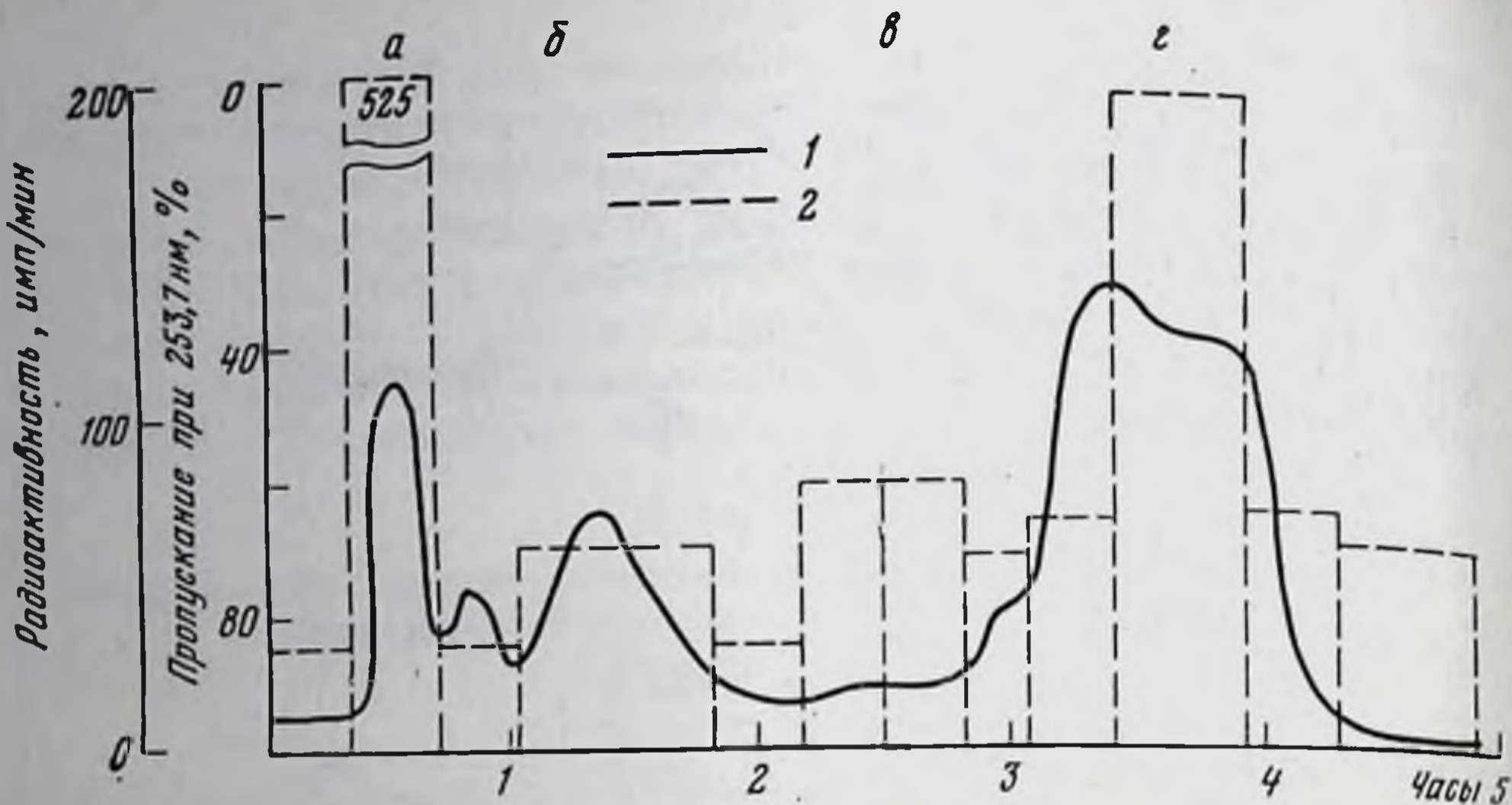


Рис. 8. Хроматография на сульфэтилцеллюлозе (1,8×30 см) пиримидиновой фракции продуктов гидролиза РНК

Элюция вначале водой, затем 0,05 н. HCl, 45 мл/час; 1 — пропускание; 2 — радиоактивность; а — уридин; б — N⁴-карбамоилцитидин; в — 3-метил-карбамоилцитидин; г — цитидин

40, печени — 21, эпителии тонкого кишечника — 22, почках — 30 и в мозгу — 12%. Преимущественное карбамоилирование белков опухолевых клеток отмечается и при внутрибрюшинном введении ¹⁴СО-ЦГНМ мышам с лейкозом L-1210 [64], однако в данном случае не исключается возможность прямого контактного действия препарата на клетки лейкоза L-1210.

Хроматографический анализ ¹⁴С-РНК на сульфэтилцеллюлозе (рис. 8) показывает, что при введении ¹⁴СО-НММ карбамоилируются основания РНК гепатомы и органов животных-опухоленосителей.

Все эти результаты свидетельствуют о том, что после введения мышам с гепатомой 22а НММ, меченной по метильной и карбонильной группам, происходит быстрое метилирование и карбамоилирование макромолекул опухолевых и нормальных клеток. Клетки печени и селезенки быстрее, чем клетки гепатомы, освобождаются от поврежденных макромолекул РНК, белков и липидов и репарируют повреждения ДНК. Отмечается также отсутствие избирательного концентрирования НММ опухолевыми клетками.

Существует ряд фундаментальных отличий в метаболизме макромолекул нормальных и опухолевых клеток, которые могут быть обусловлены различной скоростью распада и синтеза макромолекул, различной проницаемостью нормальных и опухолевых клеток для цитостатиков, а также неодинаковой способностью нормальных и опухолевых клеток к реутилизации поврежденных метаболитов. Несмотря на то, что имеются указания на более

быстрый метаболизм РНК, белков и липидов в поющих клетках по сравнению с активно пролиферирующими [65—67], в настоящее время трудно ответить на вопрос, какую роль играют эти процессы в более быстром освобождении от повреждений в нормальных клетках, по сравнению с опухолевыми при воздействии НАМ.

Прямыми опытами была доказана возможность эффективного использования опухолевыми клетками для синтеза макромолекул и липидов алкилированных метаболитов, которые образуются из низкомолекулярных предшественников макромолекул после введения ^{14}C -НММ мышам с гепатомой 22а, а также освобождаются в процессе репарации ДНК и деградации метилированных РНК и белка. В нормальных клетках способность к реутилизации алкилированных метаболитов для синтеза макромолекул выражена слабее [68].

ДЕЙСТВИЕ НАМ НА ОРГАНЫ И ТКАНИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ. ПОБОЧНЫЕ ЯВЛЕНИЯ

Токсические реакции на введение НАМ больным можно разделить на непосредственные, возникающие сразу или через несколько часов после введения препарата, и отдаленные, развивающиеся спустя некоторое время после начала лечения, как результат введения количеств препарата, достаточных для развития токсических явлений.

Непосредственные токсические явления для всех НАМ сходны. Это, в первую очередь, тошнота и рвота, возникающие практически у всех больных. При применении БХНМ, НММ, стрептозотоцина тошнота и рвота появляются в течение первого — второго часа после инъекции, при пероральном приеме ЦГНМ и МеЦГНМ — через 3—6 ч. Прием МеЦГНМ переносится легче, чем ЦГНМ. Непосредственная токсичность обычно наиболее выражена при первом введении препаратов и несколько облегчается предварительным применением седативных, нейроплегических и антимиетических средств [69—73]. Тошнота, рвота обычно держатся несколько часов, иногда сутки, следующие 1—2 сут наблюдается значительная анорексия [72, 74, 75].

У отдельных больных внутривенное введение НММ и стрептозотоцина сопровождается диареей, которая появляется внезапно через 20—40 мин после инъекции, носит профузный характер, быстро проходит и не повторяется при последующих введениях препаратов [69, 76].

Внутривенное введение НММ, БХНМ и стрептозотоцина может сопровождаться болями по ходу вен. При быстром введении больших доз БХНМ возникает гиперемия кожи лица и конъюнктивы [70, 77]. Возможно, эти явления связаны с необходимостью

вводить БХНМ в спиртовом растворе. Снижение концентрации спирта приводит к уменьшению выраженности этих явлений [78]. Рекомендуется вводить БХНМ медленно, в течение 30—40 мин, предварительно растворяя намеченную дозу препарата в 5% -ном растворе глюкозы.

Гипогликемия различной степени (у отдельных больных вплоть до гипогликемического шока) развивается как непосредственная токсическая реакция на введение стрептозотоцина у большинства больных в течение первых часов, иногда первых суток. Обычно явления гипогликемии быстро (через несколько часов) ликвидируются самостоятельно или купируются введением глюкозы [9, 79].

Попадание капель раствора НММ и БХНМ на кожу приводит к ее пигментации, которая держится 2—5 недель и бесследно исчезает. Предупреждает появление пигментации обмывание кожи водой сразу после контакта с раствором препарата.

Специальное исследование влияния аппликации БХНМ на кожу человека показало, что препарат вызывает эритему, умеренное шелушение и последующую пигментацию обработанного участка кожи, которая появляется через 1—5 сут и держится до 20 дней. Микроскопическое исследование этих участков кожи обнаружило воспалительную лимфоцитарную инфильтрацию и увеличение количества меланоцитов, носившее устойчивый характер в течение длительного времени [80].

Следует отметить, что способность вызывать пигментацию характерна для многих цитостатиков, как алкилирующих агентов, так и антиметаболитов или антибиотиков [81].

Попадание растворов НММ и БХНМ под кожу сопровождается появлением гиперемии, инфильтрации и может закончиться развитием некроза кожи и подкожной клетчатки. В связи с этим препараты вводятся строго внутривенно.

Среди отдаленных токсических реакций на применение НАМ наиболее серьезным осложнением следует считать миелодепрессивное действие этих соединений, которое проявляется в основном в виде развития лейкопении и тромбоцитопении. Для всех препаратов частота появления и степень выраженности миелодепрессии зависят от дозы препарата. Угнетение гемопоэза является основным фактором, ограничивающим величину разовых и суммарных доз, а также определяющим режим введения препаратов. Исключение составляет стрептозотоцин, который практически не действует на гемопоэз, хотя у отдельных больных также наблюдали после его применения лейкопению и тромбоцитопению [76, 82—84].

Характер угнетения гемопоэза различен для НММ и хлорэтильных производных нитрозомочевины. Прежде всего это выражается в различной частоте появления лейкопении и тромбоцитопении. Как видно из табл. 22, где приведены суммированные данные разных клиник, лейкопения и тромбоцитопения у боль-

Таблица 22

Частота развития лейкопении и тромбоцитопении при применении НАМ

Препарат	Число больных	Лейкопения, % больных	Тромбоцитопе- ния, % боль- ных	Источник
НММ	151	21,8	19,2	[85]
БХНМ	830	42,3	63,7	[56, 70, 71, 53, 78, 86—92]
ЦГНМ	571	34,5	47,8	[75, 93— 104]
МеЦГНМ	354	28,2	48,6	[73, 96, 101, 105—111]

ных, леченных НММ, встречается значительно реже, чем у больных, леченных другими НАМ.

Определенные различия имеются также во временных характеристиках развития лейкопении и тромбоцитопении при применении этих препаратов.

При использовании НММ угнетение гемопоэза обычно развивается во время лечения, хотя у отдельных больных может возникнуть отсроченная миелодепрессия — лейкопения и тромбоцитопения впервые выявляются спустя 7—12 дней после окончания лечения [85]. Миелотоксическое действие НММ проявляется в различные сроки после начала лечения, что, очевидно, зависит от величины дозы препарата, интенсивности лечения и чувствительности организма больного. В большинстве случаев лейкопения возникает спустя 3—4 недели после начала лечения, но у отдельных больных число лейкоцитов значительно снижается уже в первые 2 недели лечения. Длительность лейкопении колеблется от 3 до 30 дней, в большинстве случаев она длится не более 2 недель [85].

Тромбоцитопения при применении НММ обычно появляется на несколько дней позже лейкопении и ликвидируется также позже.

На рис. 9 приведены характерные кривые изменения числа лейкоцитов и тромбоцитов при развитии глубокой лейкопении и тромбоцитопении во время лечения НММ.

Характерная особенность хлорэтильных производных нитрозомочевины заключается в отсроченном характере угнетения гемопоэза. Лейкопения и тромбоцитопения появляются только через 3—5 недель после применения препаратов, длительность их составляет 2—7 недель [34, 35, 56, 70, 73, 93, 104, 107, 111]. Тромбоцитопения при этом появляется на несколько дней раньше и длится меньше, чем лейкопения [70].

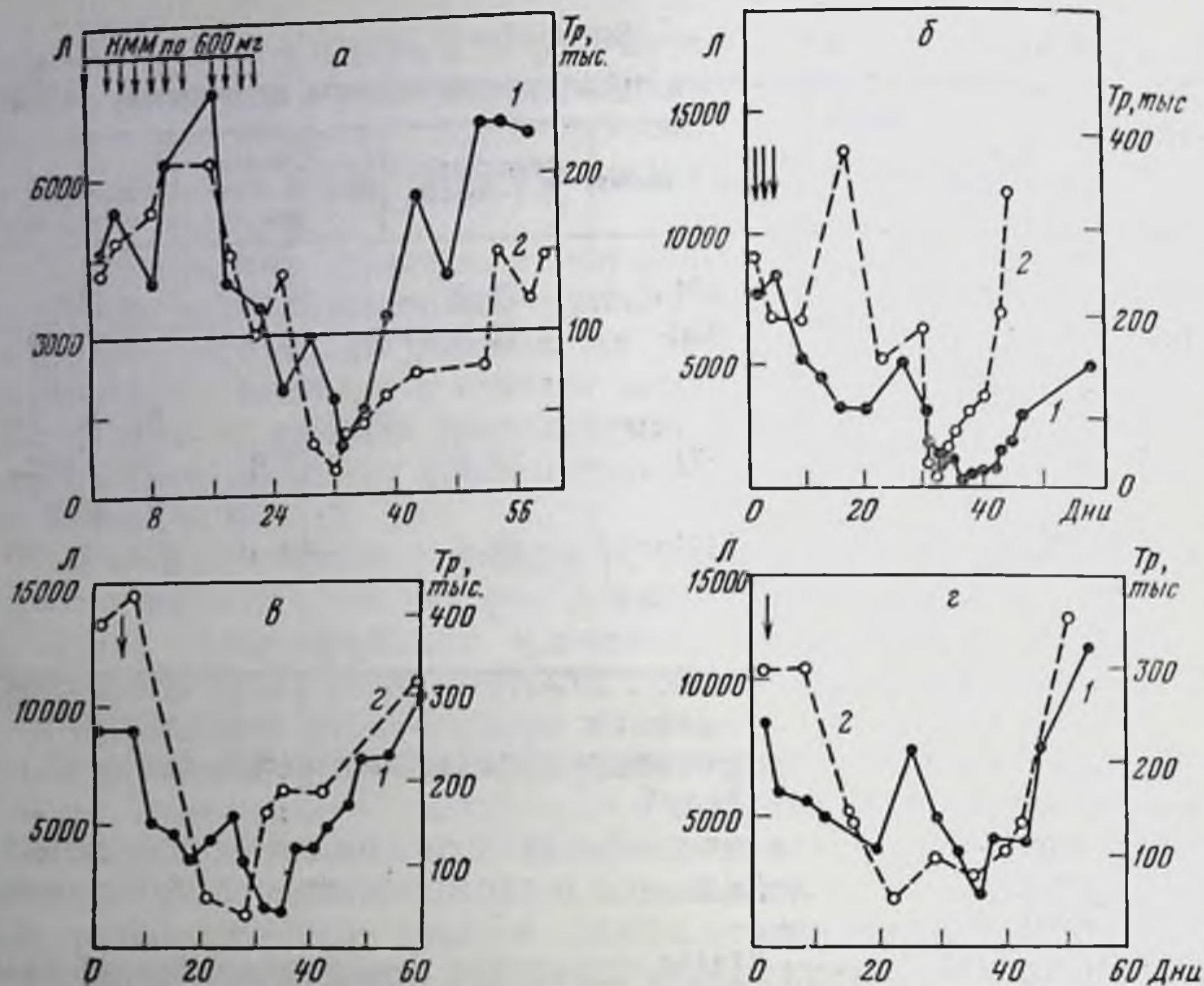


Рис. 9. Изменение числа лейкоцитов и тромбоцитов периферической крови при развитии лейкопении и тромбоцитопении во время лечения НАМ [28, 73]

а — НММ; б — БХНМ; в — ЦГНМ; г — МеЦГНМ; 1 — лейкоциты; 2 — тромбоциты. Стрелками обозначены дни введения препаратов

Отсроченный характер угнетения кроветворения, связанного с применением хлорэтильных производных нитрозомочевины, не зависит от дозы и схемы применения препаратов. Как при однократном введении БХНМ в дозе 168—250 мг/м², так и при ежедневном в течение 3 дней применении в дозе 100—125 мг/м² или при еженедельном введении в дозе 60—90 мг/м² лейкопения и тромбоцитопения появляются спустя 3—5 недель после начала лечения [70, 112]. Аналогичная зависимость отмечена и при лечении БХНМ в дозе 75—125 мг/м² в день в течение 5—6 дней [34, 86].

При применении ЦГНМ отсроченное угнетение тромбопоэза начинает отмечаться при применении доз более 50 мг/м², а отсроченное угнетение лейкопоэза — при дозах более 100 мг/м². При меньших дозах миелодепрессия практически не возникает. При использовании лечебной дозы, равной 130 мг/м², наблюдается отсроченное угнетение как лейкопоэза, так и тромбоцитопоэза.

Миелотоксичное действие МеЦГНМ также имеет не зависящий от дозы препарата отсроченный характер. Как и при применении ЦГНМ, тромбоцитопения развивается раньше и появляется при меньших дозах препарата, лейкопения обычно развивается при дозах более 220 мг/м^2 , в среднем через 30 дней после приема препарата [73].

Характерные кривые изменения количества лейкоцитов и тромбоцитов в периферической крови при лечении хлорэтильными производными нитрозомочевины представлены на рис. 9 [23, 34].

Частота возникновения и степень выраженности угнетения гемопоэза при лечении НАМ зависят от дозы и режима применения препаратов [34, 76].

Однократное введение БХНМ в дозе $400\text{—}300 \text{ мг/м}^2$ вызывало стойкую и глубокую лейкопению и тромбоцитопению у всех больных, в дозе 250 мг/м^2 — у 9 из 13 больных, трехкратное применение в разовой дозе 125 мг/м^2 в день привело к лейкопении и тромбоцитопении у 5 из 12 больных [70]. Увеличение длительности применения БХНМ с 3 до 6 дней сопровождается усилением миелодепрессивного действия препарата [86].

Однократное применение БХНМ менее токсично, чем частые повторные введения меньших доз. Так, среди пяти больных саркомой Капоши, получавших БХНМ по 125 мг/м^2 в день ежедневно в течение 3 дней, глубокое угнетение гемопоэза развилось у трех больных, причем в одном случае возникла тяжелая панцитопения, явившаяся причиной гибели больного. У другого больного выраженная гранулоцитопения держалась 20 месяцев после лечения. В то же время среди 16 больных саркомой Капоши, получавших БХНМ однократно по 200 мг/м^2 каждые 6—8 недель, серьезного угнетения гемопоэза не наступило ни в одном случае [113].

Оптимальным режимом применения ЦГНМ считается редкое (через 6—8 недель) введение достаточно большой (130 мг/м^2) дозы. Однако токсичность ЦГНМ не увеличивается при более частом введении препарата, но в меньших разовых дозах.

Ниже приведены данные о миелотоксичности ЦГНМ в зависимости от дозы и интервалов между введениями [114]:

	130 мг/м ² каждые 6 нед	75 мг/м ² каждые 3 нед
Число больных	18	34
Число больных с угнетением гемопоэза	15	8
Среднее время до начала появления токсичности, дни	48,7	105,5
Суммарная доза до появления токсичности, мг	320	606
Длительность угнетения гемопоэза, дни	19	16,4

Миелотоксичность МеЦГНМ примерно в 2—4 раза меньше, чем у БХНМ и ЦГНМ [35, 73]. Угнетение гемопоэза при применении МеЦГНМ проявляется в первую очередь в тромбоцитопении, степень его также зависит от дозы препарата. Следует иметь в виду, что МеЦГНМ начали испытывать в клинике, когда для других хлорэтильных производных нитрозомочевины уже были установлены явления отсроченного угнетения гемопоэза и эффективность редкого однократного введения этих препаратов. Поэтому почти во всех исследованиях МеЦГНМ применяли по таким же схемам. В дозах менее 100 мг/м² МеЦГНМ не вызывает угнетения гемопоэза или оно оказывается незначительным. При дозах более 200 мг/м² выраженные лейкопения и тромбоцитопения наблюдаются у большинства больных [107, 110], причем в больших дозах угнетение гемопоэза может быть очень значительным. В частности, описаны два случая гибели больных на фоне необратимого угнетения гемопоэза при однократном применении МеЦГНМ в дозе 300 мг/м² и 175 мг/м² [107].

Повторные введения хлорэтильных производных нитрозомочевины примерно у половины больных приводят к кумуляции токсических реакций, что проявляется либо в виде развития лейкопении и тромбоцитопении, которых не было при первом применении препаратов, либо в виде усиления степени цитопении, наблюдавшейся и при начальном применении. Это вынуждает снижать дозу препаратов при продолжительном лечении [34, 93, 110].

Из соотношения миелотоксичности ряда хлорэтильных производных нитрозомочевины следует, что при однократном применении токсичность 250 мг/м² БХНМ эквивалентна токсичности 130 мг/м² ЦГНМ и 225 мг/м² МеЦГНМ [34].

Частота возникновения лейкопении и тромбоцитопении при применении НММ также зависит от дозы препарата. Среди 87 больных, получивших препарат в разовой дозе до 10 мг/кг, угнетение гемопоэза отмечено у 13 больных (14,9%), тогда как среди 64 больных, получавших НММ в дозах, превышающих 10 мг/кг, лейкопения и тромбоцитопения наблюдались у 21 (32,9%) больных. При разовых дозах НММ, равных 6—8 мг/кг, угнетение гемопоэза возникает редко и выражено незначительно, причем важно отметить, что при чувствительных опухолях этих доз оказывается достаточно для получения терапевтического эффекта.

Токсикологическое изучение противоопухолевых препаратов имеет своей целью установить также степень выраженности и обратимость их миелодепрессивного действия. Глубина поражения костного мозга определяется дозами препаратов, и при терапевтических дозах НАМ миелодепрессия в большинстве случаев оказывается обратимой. Однако имеются данные, полученные в основном при первоначальном изучении каждого

препарата, что эти токсические реакции могут быть весьма серьезными и вести к гибели больных, непосредственной причиной которой является либо инфекция вследствие лейкопении, либо кровотечение на почве тромбоцитопении [70, 77, 78, 85, 86, 88, 92, 108, 109, 112, 113].

Анализ случаев необратимого угнетения гемопоэза при применении НАМ показал, что такое развитие этого осложнения связано, как правило, с передозировкой препаратов и с применением их у больных с нарушенной функцией органов кроветворения в результате проводившихся ранее облучения или химиотерапии. В подобных случаях эти препараты следует применять в дозах, уменьшенных примерно на 1/3 по сравнению с обычными терапевтическими дозами. Изучение пунктата костного мозга у больных, получавших НАМ, показало, что примерно в половине случаев наблюдается уменьшение общего числа клеточных элементов костного мозга, в основном за счет уменьшения молодых незрелых форм гранулоцитов и мегакариоцитов. Через 24 ч после введения НММ в клетках костного мозга отмечается значительное повышение хромосомных aberrаций [115]. При развитии лейкопении и тромбоцитопении имеет место значительное сокращение всех ростков костного мозга, причем наиболее резко подавляется лейкопоэз и тромбоцитопоэз, в меньшей степени эритропоэз [71, 72, 77, 85, 92, 93].

Лечение НММ в 25,8% случаев сопровождалось также развитием абсолютной и относительной лимфоцитопении, причем у большинства больных она не сочеталась с лейкопенией и тромбоцитопенией и была единственным проявлением токсического действия НММ на кроветворение. Эти данные можно рассматривать как показатель определенной тропности НММ к лимфоидной ткани. Лимфоцитопения обычно появлялась в середине курса лечения, держалась до его конца и в половине случаев ликвидировалась в течение нескольких дней после окончания лечения. В остальных случаях лимфоцитопения держалась после прекращения лечения в течение 2—3 недель. Ни в одном случае лимфоцитопения не служила основанием для прекращения лечения. Характерный пример изменения относительного и абсолютного количества лимфоцитов при лечении НММ приведен на рис. 10, а.

Следует отметить, что возникновение и степень выраженности лимфоцитопении не связаны с величиной разовых и суммарных доз НММ, а также с интенсивностью лечения [85]. Применение НММ не увеличивало частоты клеток с aberrациями хромосом в лимфоцитах периферической крови [115, 116], тогда как БХНМ приводит к значительному увеличению поврежденных хромосом лимфоцитов [117].

Другим характерным изменением в периферической крови больных, получавших лечение НММ, является эозинофилия.

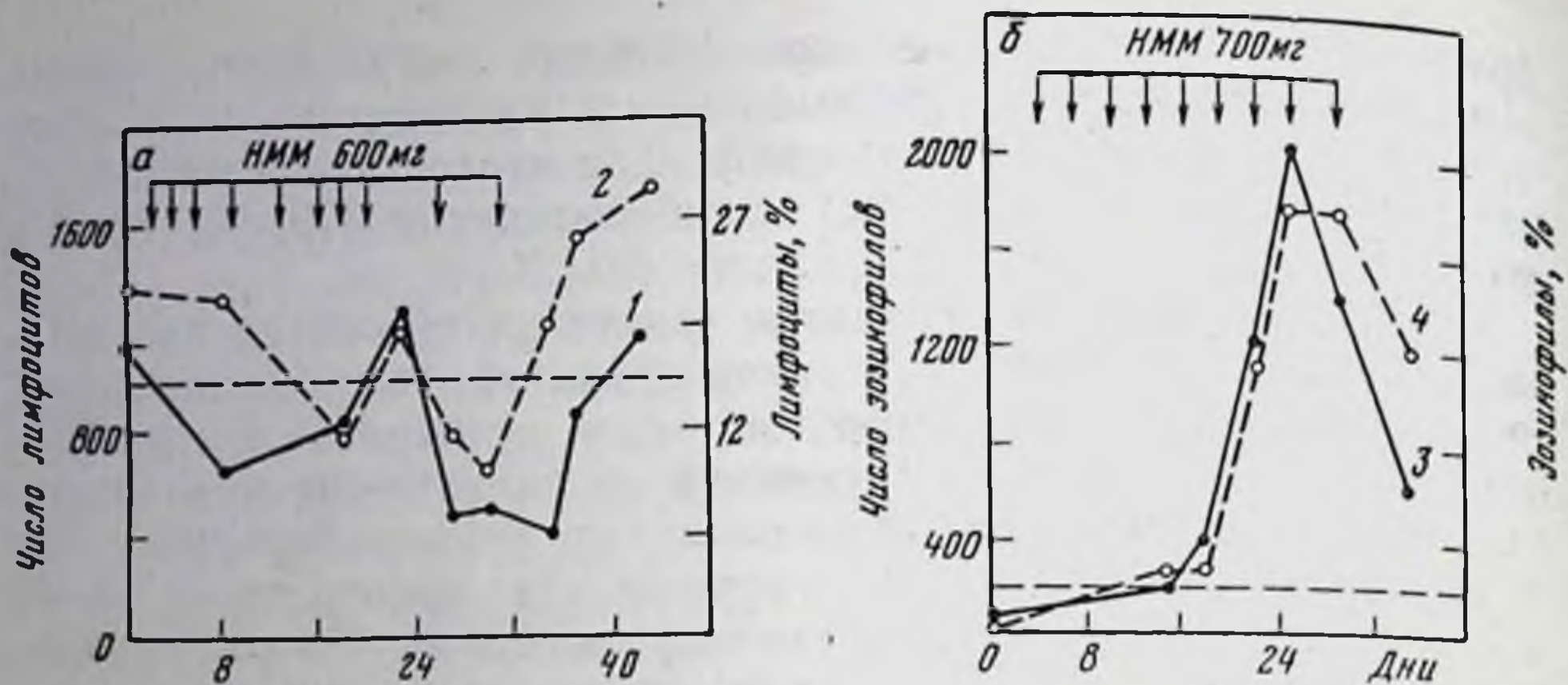


Рис. 10. Изменение абсолютного и относительного количества лимфоцитов (а) и эозинофилов (б) в периферической крови больных при лечении НММ

1 — абсолютное число лимфоцитов; 2 — относительное число лимфоцитов; 3 — абсолютное число эозинофилов; 4 — относительное число эозинофилов

отмеченная у 18% больных [85]. Выраженность эозинофилии весьма варьировала у разных больных. Повышение относительного количества эозинофилов колебалось в пределах 5—8—30—40% и не зависело от дозы препарата. У всех больных эозинофилия возникла во время курса лечения НММ и держалась до его окончания. После прекращения лечения число эозинофилов быстро возвращалось к исходным цифрам. На рис. 10, б представлен характерный пример изменения абсолютного и относительного числа эозинофилов при лечении НММ.

Как уже отмечалось, по данным большинства авторов, стрептозотин не обладает миелодепрессивным действием. Однако у отдельных больных (9—20%) при лечении стрептозотином, особенно в высоких дозах, может наблюдаться и лейкопения и тромбоцитопения [83, 84]. Обычно стрептозотин оказывает миелотоксическое действие у больных с функционально неполноценным кроветворением вследствие проводившейся ранее массивной химиотерапии другими противоопухолевыми препаратами.

При клиническом изучении не наблюдалось токсического влияния НАМ на деятельность сердечно-сосудистой системы. В ряде случаев при применении БХНМ и НММ может наблюдаться кратковременная тахикардия, снижение артериального давления, причем для БХНМ характерно усиление этих явлений при быстрой внутривенной инъекции препарата и уменьшение при медленной (в течение 20—40 мин) капельной внутривенной инфузии, тогда как при медленном введении НММ

отмечалось значительное снижение артериального давления. Обычно инъекции НММ не сопровождаются изменениями ЭКГ у леченных больных, хотя в двух случаях небольшие проходящие изменения были зарегистрированы [85].

Применение БХНМ может приводить к появлению головокружения, нарушению равновесия, атаксии [86].

Токсическое действие на печень наиболее выражено среди НАМ у БХНМ, оно проявляется в увеличении уровня трансаминазы сыворотки крови, повышении уровня щелочной фосфатазы и билирубина [76]. Среди 72 больных раком желудочно-кишечного тракта, леченных БХНМ, у четырех наблюдали признаки выраженной печеночной недостаточности с желтухой, причем один больной погиб при явлениях печеночной комы. У остальных явления гепатотоксичности ликвидировались через 8 недель [118].

НММ в изученных дозах не оказывала токсического действия на печень, причем в нескольких случаях препарат был применен без осложнений у больных с механической желтухой и сахарным диабетом, когда уже до лечения имелись значительные нарушения функции печени [85].

ЦГНМ и MeЦГНМ также не обладают гепатотоксическим действием.

Поражения почек при применении НАМ обычно не наблюдается, хотя при длительном пероральном приеме БХНМ отмечены тяжелые необратимые повреждения мозгового вещества почек [119].

В отличие от других производных нитрозомочевины для стрептозотоцина нефротоксичность является наиболее часто встречающимся и наиболее серьезным осложнением.

Лечение стрептозотоцином сопровождается побочными явлениями со стороны почек у 20—60% больных, эти явления появляются в среднем через 17 дней при суммарной дозе 4 г/м² и длятся 5—72 дня, в среднем 18 дней [82]. Поражение почек проявляется в форме тубулярного ацидоза, протеинурии, глюкозурии, снижения рН крови, увеличения выделения калия; степень его зависит от дозы и схемы применения препарата [9, 43, 74, 76, 83, 120].

Безопасным и достаточно эффективным режимом считается внутривенное введение в дозе 1 г/м² один раз в неделю в течение четырех недель. При таком режиме нефротоксичность наблюдается лишь у отдельных больных, выражена незначительно и быстро обратима [74]. При еженедельном применении стрептозотоцина в дозе 2 г/м² частота почечных осложнений значительно увеличивается, отмечається более чем у половины леченных больных, причем степень токсических реакций со стороны почек при этом также усиливается вплоть до анурии и в отдельных случаях гибели больных [43, 76]. При аутопсии больных, умерших вследствие токсического поражения почек, обна-

ружены дегенерация и некроз эпителия как проксимальных, так и дистальных канальцев почек [76, 121].

Следует отметить, что токсическое действие стрептозотоцина на почки весьма варьирует у разных больных. Некоторые больные получили препарат в суммарной дозе более 30 г/м² без всяких признаков поражения почек, тогда как у других больных уже после дозы 2—3 г/м² возникали протеинурия, анурия и т. п. [82]. Нефротоксичность стрептозотоцина не связана с возрастом, полом больных, характером и степенью распространенности опухоли [43]. Нормальный уровень креатинина и нормальный клиренс креатинина до лечения также не гарантируют от появления побочных явлений со стороны почек [82].

В связи с отчетливой нефротоксичностью стрептозотоцина во время его применения рекомендуется проводить регулярное обследование функции почек. Наличие заболеваний почек в анамнезе считается противопоказанием для применения препарата. Первым признаком поражения почек при применении стрептозотоцина является протеинурия [74, 76, 86].

Токсическое поражение канальцев почек различного происхождения обычно сопровождается повышенным выделением β -глюкокоронидазы. В экспериментах на крысах Фишер показано, что поражение почек, вызванное стрептозотоцином, также ведет к повышению количества β -глюкокоронидазы в суточных выделениях, коррелирующему с дозой препарата, причем минимальные повреждения канальцев почек приводят к существенному повышению выделения фермента [122]. Этот тест предлагается использовать в клинике для раннего выявления нефротоксического действия стрептозотоцина.

В качестве возможных механизмов повреждающего действия стрептозотоцина на эпителий канальцев почек выдвигают накопление в клетках эпителия капелек гликогена [82] и ингибирование стрептозотоцином фермента глюкозо-6-фосфатазы [74].

Токсическое поражение печени при применении стрептозотоцина отмечается гораздо реже, чем поражение почек, проявляется в умеренном повышении уровня щелочной фосфатазы и трансаминазы в сыворотке крови, увеличении количества билирубина, извращении соотношения альбумины: глобулины [9, 76, 123].

Диабетогенное действие стрептозотоцина, установленное на мышях, крысах, обезьянах, у людей не наблюдалось [43]. Возникающие иногда при применении стрептозотоцина нарушения углеводного обмена, по-видимому, связаны с нефротоксическим и гепатотоксическим действием препарата. Отсутствие диабетогенного действия у людей может быть результатом нескольких причин. Прежде всего, вероятно, имеются различия в механизмах гомеостаза глюкозы в организме человека и животных. Кроме того, по-видимому, разрушающее действие стрептозото-

цина на β -клетки поджелудочной железы человека оказывается меньшим, чем у животных, что может быть связано с различиями в метаболизме и фармакокинетике стрептозотоцина у человека и животных. Отсутствие диабетогенного действия можно также объяснить одновременным развитием гипогликемии в результате повреждения ферментных систем печени, ответственных за гомеостаз глюкозы [124].

Внутривенное введение БХНМ и НММ у 15—20% больных сопровождается изменениями вен, проявляющимися в уплотнении их стенок, иногда с пигментацией кожи по ходу вен и с дальнейшей их облитерацией. В ряде случаев эти явления носят характер флебитов. Обычно эти побочные явления возникают при многократном введении препаратов в одну и ту же вену.

Повреждающее действие НММ и БХНМ на стенки вен создает определенные трудности в проведении длительной терапии этими препаратами, которая бывает необходимой для поддержания получаемых ремиссий. Однако попытки применения этих препаратов *per os* оказались безуспешными, так как сопровождались значительным усилением токсичности, в основном непосредственной [85, 125, 126].

На основании изучения побочных явлений разработаны схемы применения НАМ, позволяющие, с одной стороны, добиваться терапевтического эффекта при чувствительных опухолях, а с другой — избежать серьезных и необратимых токсических реакций.

Для НММ такой схемой является внутривенное введение в дозе 6—8 мг/кг с интервалами между введениями 2—3 дня. На курс лечения рекомендуется 8—10 инъекций. БХНМ также вводится внутривенно в дозе 200 мг/м² однократно каждые 6—8 недель или по 100 мг/м² в день в течение 2—3 дней каждые 6—8 недель.

ЦГНМ принимается *per os* в разовой дозе 130 мг/м², МеЦГНМ также *per os* в дозе 220 мг/м² каждые 6—8 нед.

Оптимальной дозировкой для стрептозотоцина является 1 г/м² в нед.

Фармакологическое и токсикологическое исследование НАМ показало, что применение этих препаратов может сопровождаться развитием токсических реакций. Однако следует отметить, что токсичность изученных производных нитрозомочевины в целом не превосходит токсичности других известных противоопухолевых препаратов. На современном этапе развития противоопухолевой химиотерапии подобная токсичность эффективных лекарственных средств не считается препятствием для их практического использования. Разработанные терапевтические схемы применения НАМ позволяют в большинстве случаев провести лечение без серьезных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Mihich E.* In: Cancer medicine I. Holland, E. Frei. III (Eds). Philadelphia, Lea and Febiger, 1974, p. 650.
2. *Rall D. P.* In: Cancer medicine. I. Holland, E. Frei. III (Eds). Philadelphia, Lea and Febiger, 1974, p. 575.
3. *Oliverio V. T.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 13.
4. *Freireich E. I., Gehan E. A., Rall D. P.* Cancer Chemotherapy. Repts, 1966, 50, 219.
5. *Goldsmith M. A., Slavik M., Carter S. K.* Cancer Res., 1975, 35, 1354.
6. *Островская Л. А., Кругляк С. А., Вермель Е. М.* Вопросы онкологии, 1966, 12, № 10, 83.
7. *Ostrowskaya L. A., Emanuel N. M.* Abstrs 9th Intern. Congr. Chemotherapy. London, 1975, C-62.
8. *Schabel F. M.* Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 665.
9. *Livingston R. B., Carter S. L.* Streptozotocin. Chemotherapy fact sheet. Bethesda, Md., NCI, 1969.
10. *Schabel F. M., Jr.* In: Proc. Chemotherapy Conf. Chemotherapy Solid Tumors — Appraisal 5-Fluorouracil and BCNU. S. K. Carter (Ed.). Bethesda, Md., NCI, 1970, p. 159.
11. *Comis R. L., Broder L. E., Carter S. K.* MeCCNU, Clinical Brochure, Bethesda, Md., NCI, 1972.
12. *Anderson T., McMenamin M. G., Schein P. S.* Cancer Res., 1975, 35, 761.
13. *Broder L. E., Carter S. K.* CCNU, Clinical Brochure, Bethesda, Md., NCI, 1971.
14. *Чернов В. А.* В кн.: Методы экспериментальной химиотерапии. М., «Медицина», 1971, с. 357.
15. *Nagel G. A.* Minerva Med., 1975, 66, 1144.
16. *Schaepfi U., Fleischman R. W., Phelan R. S., Ethier M. F., Luthra Y. K.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 3, 5, 53.
17. *Henry M. C., Davis R. D., Schein P. S.* Toxicol and Appl. Pharmacol., 1973, 25, 410.
18. *Kensler C. J., Palm P. E., Day H. M., Battista S. P., Rogers W. I., Jesair D. W., Wodinsky I.* Cancer Res., 1965, pt 1, 25, 1622.
19. *Schein P. S., Panasci L., Wooley P. V., Anderson T.* Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 801.
20. *Garattini S., Guaitani A., Nanni E., Palma V.* Cancer Res., 1967, pt 2, 27, 1309.
21. *Schein P. S.* Cancer Res., 1969, 26, 1226.
22. *Davignon J. P., Young K. W., Wood H. B., Craddock J. C.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 7.
23. *Oliverio V. T., Vi W. H., Williame M. K.* Cancer Res., 1970, 30, 1830.
24. *Neil G. L., Scheidt L. G., Kunetzal S. L., Moxley T. E.* Chemotherapy, 1973, 18, 27.
25. *Rosenblum M. L., Bowie D. L., Walker M. D.* Cancer Res., 1973, 33, 906.
26. *Kline J., Gang M., Tyrer D. D., Mantel N., Venditti J. M., Goldin A.* Chemotherapy, 1968, 13, 28.
27. *Шахназарова Н. Г., Шарова С. А., Сухинина Г. П.* Фармакология и токсикология, 1968, 31, 354.
28. *Вермель Е. М., Турсунова С. А., Островская Л. А., Кашкова Э. К., Рябченко В. П.* В кн.: Научные труды Ташкентского ун-та, 1973, вып. 457, с. 77.
29. *Schabel F. M., Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A., Laster W. R., Skipper H. E.* Cancer Res., 1963, 23, 725.
30. *Rall D. P., Ben M., McCarthy D. M.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1963, 4, 55.
31. *Larson R. E., Rall D. P.* Pharmacologist, 1965, 7, 180.
32. *Schmidt L. H.* In: Annual Progress Rept. Birmingham, Ala, Southern Research Institute, 1970, p. 58.
33. *Oliverio V. T.* Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 703.

34. *Oliverio V. T., Vietzke W. H., Williams M. K., Adamson R. H.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1968, 9, 56.
35. *Oliverio V. T.* Cancer Chemotherapy Repts., 1973, pt 3, 4, 13.
36. *Schaeppi U. H., Mason M. M., Hadidian Z.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1969, 10, 76.
37. *Moertel C. G.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 27.
38. *Walker M. D.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 21.
39. *Owens A. H. J.* Chronic Diseases, 1963, 15, 223.
40. *Schein P. S., Davis R. D., Carter S., Newman I., Schein D. R., Rall D. P.* Clin. Pharmacol. and Therap., 1970, 11, 3.
41. *De Wys W. D., Fowler E. H.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 1, 57, 33.
42. *Rakielen N., Rakielen M. L., Nadkarni M. V.* Cancer Chemotherapy Repts, 1963, 29, 91.
43. *Junod A., Lambert A. E., Orci L., Piclet R., Gonet A. E., Renold A. E.* Proc. Soc. Exptl Biol. Med., 1967, 126, 201—205.
44. *Schein P. S., Cooney D. A., Vernon M. L.* Cancer Res., 1967, pt 1, 27, 2324.
45. *Bhuyan B. K., Fraser T. J., Buskirk H. H., Neil G. L.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, 56, 709.
46. *Sadoff L.* Cancer Chemotherapy Repts, 1970, pt 1, 54, 457.
47. *Schein P. S., McMenamin M., Anderson T.* Cancer Res., 1973, 33, 2005.
48. *Schein P. S., McMenamin M., Anderson T.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr. Florence, 1974, 3, 437.
49. *Anderson T., Schein P. S., McMenamin M. G.* J. Clin. Invest., 1974, 54, 672. 672.
50. *Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A.* J. Med. Chem., 1975, 18, 104.
51. *Swann P. F.* Biochem. J., 1968, 110, 49.
52. *Schein P. S.* Proc. Soc. Exptl Biol., 1969, 131, 517.
53. *Oliverio V. T., Vietzke W. M., Williams M. K., Adamson R. H.* Cancer Res., 1970, 30, 1330.
54. *De Vita V. T., Denham C., Davidson J. D., Oliverio V. T.* Clin. Pharmacol. and Therap., 1967, 8, 566.
55. *Loo T. L., Dion R. L., Dixon R. L., Rall D. P.* J. Pharmac. Sci., 1966, 55, 492.
56. *Carter S. K., Schabel F. M., Jr., Broder L. E., Johnston T. P.* Advances Cancer Res., 1972, 16, 273.
57. *Sponzo R. W., De Vita V. T., Oliverio V. T.* Cancer, 1973, 31, 1154.
58. *Young R. C., Walker M. D., Canellos G. P., Schein P. S., Chabner B. A., De Vita V. T.* Cancer 1973, 31, 1164.
59. *Schein P., Kahn R., Corden P.* Arch. Intern. Med., 1973, 132, 555.
60. *Adolphe A. B., Glasofer E. D., Troetel W. M., Ziegenfuss J., Stambaugh J. E., Weiss A. J., Manthei R. W.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, 59, 547.
61. *Oliverio V. T.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 1, 69.
62. *Лерман М. И., Абакумова О. Ю., Куценко Н. Г., Горбачева Л. Б., Кукушкина Г. В., Серебряный А. М.* Бюллетень эксперим. биол. мед., 1973, № 11, 64.
63. *Gorbacheva L. B., Kukushkina G. V., Sokolova I. S., Serebryanyi A. M.* Abstrs 9th Intern. Congr. Chemotherapy. London, 1975, C-56.
64. *Cheng C. I., Fujimura S., Grunberger D., Weinstein I. B.* Cancer Res., 1972, 32, 22.
65. *Buchanan D. L.* Arch. Biochem. and Biophys., 1961, 94, 500.
66. *Omura T., Siekevitz P., Palade G. E.* J. Biol. Chem., 1967, 242, 2389.
67. *Schimke R. T.* Mammalian Prot. Metab., 1970, 4, 178.
68. *Lerman M. I., Abakumova O. Yu., Kutchenko N. G., Sokolova I. S., Gorbacheva L. B., Serebryannyi A. M.* Mol. Biol. Repts, 1975, 2, 151.
69. *Вермель Е. М., Корман Н. П., Милонов Б. В., Евсеенко Л. С., Орлова Р. С.* Вопросы онкологии, 1970, 16, № 5, 31.

70. *De Vita V. T., Carbone P. P., Owens A. H., Gold G. L., Krant M. J., Edmonson J.* Cancer Res., 1965, 25, 1876.
71. *Lessner H. E.* Cancer, 1968, 22, 451.
72. *Hansen H. H., Selawry O. S., Muggia F. M., Walker M. D.* Cancer Res., 1971, 31, 223.
73. *Young R. C., Walker M. D., Canellos G. P., Schein Ph., Chabner B. A., De Vita V. T.* Cancer, 1973, 31, 1164.
74. *O'Connell M. J., Wiernik P. H.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 1, 59, 443.
75. *Perloff M., Muggia E. N., Ackerman Ch.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 421.
76. *Broder L. E., Carter S. K.* Ann. Intern. Med., 1973, 79, 108.
77. *Iriarte P. V., Hananian I., Cortner I. A.* Cancer, 1966, 19, 1187.
78. *March J. C., De Conti H. C., Hubbard S. P.* Cancer Chemotherapy Repts, 1971, pt 1, 55, 599.
79. *Murray-Lyon J. M., Eddleston A. H. W., William R., Brown M., Hogbin B. M., Bennett A., Edwards J. C., Taylor K. W.* Lancet, 1968, N 7574, 895.
80. *Frost Ph., De Vita V. T.* Arch. Dermatol., 1966, 94, 265.
81. *Levantine A., Almeyda J.* Brit. J. Dermatol., 1974, 90, 239.
82. *Stolinsky D. C., Sadoff L., Blaunwald S., Bateman J. R.* Cancer, 1972, 30, 61.
83. *Broder L. E., Carter S. K.* Diabete. Amsterdam — New York, 1974, p. 714.
84. *Schein P. S., O'Connell M. J., Blom J., Hubbard S., Mograth J. T., Bergevin P., Welrnik P., Zieglev J. L., De Vita V. T.* Cancer, 1974, 34, 993.
85. *Корман Н. П.* Клиническое изучение противоопухолевых свойств N-нитрозометилмочевины. Канд. диссертация. М., 1971.
86. *Ramirez G., Wilson W., Grage T., Hill G.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 787.
87. *Ahmann D. L., Hahn G. R., Bisel H. F.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 93.
88. *Ahmann D. L., Carr D. T., Coles D. T., Hahn R. G.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 401.
89. *Walker M. D., Hurvitz B. S.* Cancer Chemotherapy Repts, 1970, pt 1, 54, 263.
90. *Wilson C. B., Boldrey E. B., Enot K. J.* Cancer Chemotherapy Repts, 1970, pt 1, 54, 273.
91. *Clifford P., Singh S., Stjernsward S., Klein G.* Cancer Res., 1967, 27, 2578.
92. *Olshin S., Siddiqui S., Firat D.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 259.
93. *Moertel C. G., Schutt A. S., Reitemeier R. S., Hahn R. G.* Cancer Res., 1972, 32, 1278.
94. *De Conti R. C., Hubbard S. P., Pinch P., Bertino J. R.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 1, 57, 201.
95. *Klaassen D. J., Rapp E.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 51, 667.
96. *Gottlieb J. A., Rivkin S. E., Spigel S. C., Hoogstraten B., O'Bryan R. M., Delaney F. C., Singhakowinta A.* Cancer, 1974, 33, 519.
97. *Cunningham Th. J., Nemoto T., Rosner D., Knight E., Taylor S., Rosenbaum Ch., Horton J., Dao T.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 677.
98. *Mittelman A., Albert D. S., Murphy G. P.* JAMA, 1973, 225, 32.
99. *Fewer D., Wilson Ch. B., Boldrey E. B., Enot J. K.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 421.
100. *Ahmann D. L., Hahn R. T., Bisel H. F.* Cancer Res., 1972, 32, 2432.
101. *Eagan R. T., Carr D. T., Coles D. T., Dines D. E., Ritts R. E.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 913.
102. *Horton J., Mittelman A., Taylor S. G. III, Surkowitz L., Bennett J. M., Erdinli E., Colsky J., Hanley J. A.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 1, 59, 334.
103. *Takita H., Brugarolas A. J.* Nat. Cancer Inst., 1974, 50, 49.

104. *Wasserman T. H., Slavik M., Carter St. K.* Cancer Treatment Revs, 1974, 1, 131.
105. *Ahmann D. L., Hahn R. G., Bisel H. F.* Cancer, 1974, 33, 615.
106. *Ahmann D. L., Bisel H. F., Hahn R. G.* Cancer Res., 1974, 34, 27.
107. *Gallani S., Kuteher J. J.* Med., 1973, 4, 209.
108. *Giles G. R., Hall R., Brennau T. G., Worthy T. S.* Brit. J. Surg., 1974, 61, 950.
109. *Takita H., Brugarolas A., Mittelman A., Vincent R.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 257.
110. *Young R. C., Canellos G. P., Chabner B. A., Brereton H. D., De Vita V. T.* Clin. Pharmacol. and Therap., 1974, 15, 617.
111. *Wasserman T. H., Slavik M., Carter S. K.* Cancer Treatment Revs, 1974, 1, 251.
112. *Rege V. B., Owens A. H.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 383.
113. *Vogel Ch. L., Lements D., Wanume A. K., Toga Th., Primack A., Kyalwara S.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 1, 57, 325.
114. *Israel L., Chahihian P.* Europ. J. Cancer, 1973, 9, 799.
115. *Селезнева Т. Г., Корман Н. П.* Генетика, 1973, 9, № 12, 112.
116. *Селезнева Т. Г., Корман Н. П.* Генетика, 1972, 8, № 7, 181.
117. *Horrod E. K., Cortner A. J.* Nat. Cancer Inst., 1968, 40, 269.
118. *Moertel Ch. G., Reitemeier R. J., Hahn R. G.* Clin. Pharmacol. and Therap., 1968, 9, 652.
119. *De Vita V. T., Gold G., Owens A. H., Willer J. M.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1964, 5, 15.
120. *Smith C. K., Stoll R. W., Vance J., Ricketts H., Williams R. H.* Diabetologia, 1971, 7, 118.
121. *Schein P., Kahn R., Corden P.* Arch. Intern. Med., 1973, 132, 555.
122. *Conzelman G. H., Gribble D. H.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 1, 57, 235.
123. *Stanley N. N., Marks V., Kreel L., McIntype N.* Brit. Med. J., 1970, N 5722, 562.
124. *Sadoff L.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 61.
125. *Lessner H. E., Vogler W. R.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 407.
126. *Rall D. P., Ben M., McCarthy D. M.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1963, 4, 55.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СВОЙСТВ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Открытие в 60-х годах противоопухолевой эффективности в ряду алкильных производных нитрозомочевин положило начало интенсивным исследованиям цитостатических свойств этих соединений. В настоящее время НАМ признаны одной из наиболее активных групп противоопухолевых препаратов, отличающихся выраженностью летального действия на опухолевые клетки и широким спектром ингибирования роста многих злокачественных новообразований животных (мышей, крыс, хомячков).

Изучение противоопухолевой активности НАМ в опытах на лабораторных животных включает в себя ряд аспектов, в том числе такие, как характеристика чувствительности к ним перевиваемых, а также индуцированных и спонтанных опухолей (или их первых генераций), выявление зависимостей типа «доза-эффект», определение влияния методов и режимов введения веществ на их эффективность и т. п.

Углубленное исследование противоопухолевых свойств НАМ проводится на основе широкого использования кинетических методов. Кинетический подход позволил установить количественные закономерности канцеролитического действия препаратов, сопоставить активность изучавшихся веществ и выявить различия между ними, оценить преимущества той или иной схемы введения и выбрать оптимальные режимы применения. Показателем эффективности химиотерапии служил кинетический критерий k^* (коэффициент активности), позволяющий сопоставить темп развития злокачественного процесса у интактных и подвергавшихся воздействию НАМ животных [1] (см. главу 1).

Для оценки активности НАМ наряду с кинетическим критерием, который дает наиболее объективные и строгие представления о характере действия препаратов на всем протяжении развития опухоли, применялись также и общепринятые критерии, такие как, например, «процент торможения» (торможение роста опухоли, выраженное в процентах к контролю), увеличение средней продолжительности жизни животных под влиянием химиотерапевтических агентов по сравнению с контролем, доля излеченных животных.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ К НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИНАМ

Характеристика спектра действия

Активность НММ и ее простых производных — НЭМ, НПМ, ДМНМ, ДЭНМ, НМБ для ряда широко используемых в эксперименте опухолей мышей и крыс показана в табл. 23 [2—8]. Изучено влияние максимально переносимых и терапевтических доз препаратов при внутрибрюшинном и подкожном шестикратном применении, начиная со следующих суток после перевивки (асцитные опухоли) или с момента достижения солидной опухоли пальпируемого размера (около 200—400 мг).

Все испытанные соединения активно тормозят развитие асцитных форм опухолей: рака Эрлиха (АРЭ), саркомы 180 (С-180) и саркомы 37 (С-37) — в МПД на 90—100%, в терапевтических дозах — на 70—80%. Рост асцитной лимфомы NK/Ly (NK/Ly) весьма эффективно подавляется введением ДМНМ, ДЭНМ, НМБ и НММ (70—100% торможения).

Несколько слабее торможение роста опухоли Льюис: под влиянием наиболее активных препаратов ДМНМ на 60—85%, НММ — на 60—75%, НМБ — на 70%.

Аденокарцинома 755 (Са-755) проявила определенную устойчивость к действию НАМ. Только ДМНМ и НМБ в высоких дозах тормозят ее рост на 70%.

Первые генерации рака молочной железы мышей линии СЗН (РМЖ), карциносаркома Уокера 256 (КСУ) и саркома 45 (С-45) обладают наибольшей чувствительностью к НММ и ДМНМ. Введение терапевтических доз этих препаратов тормозит рост опухолей на 90—95% и 70—95% соответственно. НММ даже в сравнительно небольшой дозе 5 мг/кг, введенной внутрибрюшинно и подкожно, приводит к полной регрессии опухолевых узлов саркомы 45. ДМНМ наиболее активна при КСУ. Под влиянием терапевтической дозы 10 мг/кг, введенной десятикратно, рассасываются опухоли у 20% крыс, у остальных животных рост опухолей тормозится на 80%, а продолжительность их жизни увеличивается на 40% по сравнению с контролем.

В опытах с лейкемией L1210 НММ при всех изученных схемах введения увеличивает среднюю продолжительность жизни мышей на 50—100% (табл. 24), проявляя максимальную эффективность при однократном внутрибрюшинном введении высокой дозы 80 мг/кг или многократном, на протяжении 15 сут, применения препарата в дозе 12 мг/кг/сут [9—13].

НЭМ и НПМ обладают слабо выраженной активностью в отношении лейкемии L1210, составляющей всего лишь около 30% от активности НММ, хотя в опытах *in vitro* эти препараты

Таблица 23

Активность ряда НАМ в отношении экспериментальных опухолей

Пре- парат	Доза, мг/кг/ сут	Способ введе- ния	АРЭ	С-180	С-37	НК/Лу	Опу- холь Льюис	Ca-755	PMЖ	КСУ	С-45
			торможение. %								
НММ	20	В/б	90	90	90	85	70	60	95	95	95
	10	В/б	80	80	70	40	60	55	85	90	90
	50	П/к	95	85	70	90	75	65	90	—	—
	20	П/к	80	75	60	70	60	60	85	95	90
НЭМ	100	В/б	100	95	100	65	65	50	70	80	85
	50	В/б	95	90	80	50	—	—	65	60	50
	200	П/к	100	95	90	60	60	55	65	95	80
	100	П/к	80	80	35	40	—	—	50	60	65
НПМ	100	В/б	90	100	95	65	50	50	65	60	75
	50	В/б	90	85	80	50	—	—	55	40	20
	200	П/к	100	95	95	70	55	50	70	55	75
	100	П/к	75	70	85	60	—	—	65	0	40
ДМНМ	20	В/б	95	80	70	90	85	70	80	95	90
	10	В/б	70	60	60	80	60	40	65	80	80
	50	П/к	90	75	70	90	70	60	75	95	90
	20	П/к	80	50	60	85	50	50	—	70	70
ДЭНМ	25,0	В/б	90	95	100	100	65	40	—	85	70
	12,5	В/б	80	80	90	60	—	—	—	65	—
	25,0	П/к	85	80	85	80	50	45	—	80	65
	12,5	П/к	70	65	65	—	—	—	—	—	—
НМБ	25,0	В/б	100	95	100	100	70	70	65	70	75
	12,5	В/б	85	90	90	80	55	50	—	—	—
	50,0	П/к	90	80	95	90	65	65	50	70	80
	25,0	П/к	75	65	80	70	50	50	—	—	—

Примечание. Торможение роста опухоли под влиянием НАМ определяли через сутки после окончания курса введения препаратов как отношение $\frac{F_c - F_e}{F_c} \cdot 100\%$, где F_c и F_e — вес опухоли или объем асцитической жидкости в группах контрольных и леченных животных соответственно.

оказываются значительно более цитотоксичными, чем НММ [10, 11].

ДМНМ при однократном внутрибрюшном введении в дозе 80 мг/кг и пятикратном введении по 20 мг/кг/сут увеличивает продолжительность жизни мышей с асцитной лейкемией L1210 на 100 и 85% соответственно (табл. 24).

Определенной эффективностью при развитии лейкемии L1210 обладает НМБ. В минимально эффективной дозе

Таблица 24

Активность НММ и ее некоторых аналогов при асцитной лейкемии L1210

Препарат	Доза, мг/кг/сут	Способ введения	Схема введения	Увеличение средней продолжительности жизни, %	Источник
НММ	80	В/б	Однократно, 1 сут	100	Данные ИХФ АН СССР
	67	»	Двукратно, 1 и 6 сут	62	[9]
	20	»	Ежедневно, 1—5 сут	75	Данные ИХФ АН СССР
	12	»	Ежедневно, 1—15 сут	86—109	[10—13]
			Ежедневно, с 1 сут до гибели животных	74	[13]
	11	П/к Внутрь	Ежедневно, с 1 сут до гибели животных	51	[13]
НЭМ	50	В/б	Ежедневно, 1—15 сут	<40	[10—12]
НПМ	100	»	Ежедневно, 1—15 сут	<40	[10—12]
	80	»	Однократно, 1 сут	100	Данные ИХФ АН СССР
	80	»	Двукратно, 1 и 6 сут	58	[9]
		»	Ежедневно, с 1 сут до гибели животных	61	[10—12]
ДМНМ	75	»	Ежедневно, 1—5 сут	85	Данные ИХФ АН СССР
ДЭНМ	400	»	Однократно, 1 сут	44	[12]
	150	»	Двукратно, 1 и 6 сут	25	[9]
НМБ	80	»	Двукратно, 1 и 6 сут	100	[9]
		»	Ежедневно, с 1 сут до гибели животных	88	[14]
	3,8	»	Ежедневно, с 1 сут до гибели животных	40	[14]

3,8 мг/кг препарат увеличивает продолжительность жизни мышей на 40%, в оптимальной дозе 10 мг/кг — на 88%, а при двукратном введении по 80 мг/кг — на 100% сверх сроков жизни контрольных животных (см. табл. 24).

Помимо упомянутых выше данных, имеются сведения о значительной активности НММ в отношении меланомы Гардинг-Пасси [4], асцитной карциномы Кребс II, аденокарциномы E0771, карциномы 1025, асцитной опухоли печени мышей, карциномы Флекснер-Джоблинг, фибросаркомы № 6, опухоли яичников крыс [15]. Показано увеличение под влиянием НММ средней продолжительности жизни мышей с лейкемией P388 на 72%, с лимфолейкозом АК-4 — на 125%, с лимфолейкозом L5178 — на 28%, с плазмоцитомой LPC-1 — на 50% по сравнению с контролем [15а]. Перечень экспериментальных опухолей, чувствительных к НММ, дан в табл. 25.

Таблица 25

Экспериментальные опухоли, чувствительные к НММ

Опухоль	Способ перевивки	Источник
Лейкемии и лимфомы		
<i>Мыши</i>		
Лейкемия L1210	В/б	[9—13, 16—18, 21—23, 27]
То же	В/в	[10, 11, 19, 20, 23, 25, 26]
»	П/к	[19, 24—26]
»	Интрацеребрально	[10—13, 19—21]
Гемацитобластоз La	В/б	[3, 27—29, 41]
Лейкемия P-388	»	[15a]
Лимфолейкоз АК-4	»	[15a]
Вирусная лейкемия Freind	»	[15]
Лисфосаркома Месса	П/к	[15]
Лимфома NK/Ly	В/б	[4, 8, 27, 30, 32]
<i>Крысы</i>		
Эритромиелоз Швеца	П/к	[27, 31]
Лейкемия Dupping	В/б	[15a]
Солидные опухоли		
<i>Мыши</i>		
Рак Эрлиха	П/к	[15]
То же	В/б	[2—8, 15, 27, 32—34]
»	Интрацеребрально	[35, 36]
Саркома 180	В/б	[2—8, 15, 27, 32—34]
То же	Интрацеребрально	[35, 36]
Саркома 37	В/б	[2—8, 32—34]
Карцинома Кребс II	»	[15]
Опухоль легких Льюис	П/к	[27, 32]
Рак молочной железы (спонтанный и первые генерации) (мыши линий А и СЗН)	»	[4—6, 8, 18, 27, 28, 32, 37—40]
Аденокарцинома E0771	»	[15]
Карцинома 63 Bashford	»	[15]
Карцинома C1025	»	[15]
Остеогенная саркома Wagner	»	[15]
Опухоль печени Tareg	»	[15]
То же	В/б	[15]
Плазмоцитома LPC-1	П/к	[15a]

Таблица 25 (окончание)

Опухоль	Способ перевивки	Источник
Саркома 45	П/к	[2—8, 27, 32]
Карциносаркома Уокера 256	»	[2—8, 15, 27, 28, 32, 38, 39—41]
Солидная саркома ССК	»	[3, 42]
Карцинома Герена	Интрацеребрально	[35, 43]
Карцинома Flexner-Gobling	П/к	[15]
Карцинома Joshida	»	[15]
Фибросаркома № 6	»	[15]
Опухоль яичников Iglesias	»	[15]
Опухоль надпочечников Iglesias	»	[15]

Таблица 26

Активность хлорэтильных производных нитрозомочевины и стрептозотоцина в отношении «сигнальных» опухолей животных [15а]

Штамм опухоли	БХНМ	ЦГНМ	МеЦГНМ	Стрептозотоцин
	увеличение средней продолжительности жизни животных, % к контролю			
Лейкемия L1210 (В/б)	500	545	589	53
Лейкемия P388 (В/б)	200	150	250	54
Меланома В16 (В/б)	136	207	70	23
Опухоль легких Льюис	80	60	104	6

Обобщенные результаты, характеризующие действие БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ на «сигнальные» опухоли животных¹, представлены в табл. 26.

При анализе особенностей действия каждого из препаратов прежде всего следует указать на широту терапевтического действия БХНМ, вещества наиболее разносторонне и длительно изучаемого в эксперименте. Спектр экспериментальной активности этого соединения шире, чем у других описанных в литературе противоопухолевых агентов [44, 139, 140]. Терапевтическая эффективность БХНМ, как видно из табл. 27, установлена бо-

¹ Модели, принятые в Национальном институте рака США в качестве обязательных «тест»-систем при углубленном изучении новых противоопухолевых препаратов.

Таблица 27

Экспериментальные опухоли, чувствительные к БХНМ

Опухоль	Способ перевивки	Источник
Лейкемии		
<i>Мыши</i>		
Лейкемия L-1210	В/б	[9, 11—13, 19, 20, 22—24, 26, 40, 44—65]
То же	В/в	[25, 44—49, 66, 68]
»	П/к	[20, 26, 51, 67, 69—76]
»	В/м	[53]
»	Интрацеребрально	[11—13, 20, 23, 25, 26, 44—49, 51, 67, 73, 75, 77—80]
Гемоцитобластоз La	В/б	[28, 40]
Лимфолейкоз L5178Y	Интрацеребрально	[81]
Лейкемия P-815	В/б	[44]
Лейкемия LSTRA	П/к	[20, 82—86]
Лейкемия AKR	Спонтанная	[44, 95—99]
»	В/в	[87—90]
Лимфосаркома Месса	В/б	[15, 100, 101]
<i>Крысы</i>		
Лейкемия Dupping	В/б или интрацеребрально	[91]
Миелолойкоз, индуцированный ДМВА	В/б	[92]
Лейкемия Nova	Не указан	[93]
Лейкемия L-5222	В/б	[94]
Солидные опухоли		
<i>Мыши</i>		
Рак Эрлиха	В/б	[15, 44, 100, 101, 112]
Саркома 180	П/к	[15, 44, 100]
То же	Интрацеребрально	[35, 36, 44]
Карцинома Кребс II	В/б	[15, 100]
Опухоль легких Льюис	П/к	[44, 45, 103, 104]
То же	В/в	[45, 103]
Опухоль мочевого пузыря Льюис	Не указан	[15, 100]
Меланома B-16	П/к	[45, 121]
То же	В/м	[105]
»	В/б	[101, 105]
»	Интрацеребрально	[105]
Аденокарцинома 755	П/к	[44]

Таблица 27 (продолжение)

Опухоль	Способ перевивки	Источник
Рак молочной железы (первая генерация спонтанной опухоли, мыши линии СЗН)	»	[45, 114]
Аденокарцинома E0771	В/б	[101]
Карцинома С1025	Не указан	[15, 100]
То же	В/б	[101]
Остеогенная саркома Wag-пер	Не указан	[15, 100]
Опухоль печени Тарег	В/б	[15, 100, 101]
Плазмоцитома LPC-1	»	[115]
Опухоль ЕМТ 6	П/к	[102]
Карцинома толстой кишки 26	»	[120]
Карцинома толстой кишки 26	В/в	[120]
Карцинома толстой кишки 36	П/к	[120]
Саркома Т241	В/б	[101]
Фибросаркома КНТ	П/к	[107]
Опухоль Ki MSV	В/б	[113]
То же	П/к	[113]
Опухоль надпочечников LAF ₁	»	[116]
Нейробластома С 1300	»	[106]
Эпендимобластома Zim-тегтап	Интрацеребрально	[108—111, 152, 155]
То же (сублиния А)	»	[109, 110]
Глиома 26	»	[109—111]
Глиома 261	»	[109—111, 152]
<i>Крысы</i>		
Карциносаркома Уокера 256	В/б	[101]
То же	П/к	[28, 40]
»	Интрацеребрально	[44]
»	Не указан	[15, 100]
Карцинома Flexner-Jobling	То же	[15, 100]
Карцинома яичников Iglesias	»	[15, 100]
Карцинома надпочечников Iglesias	»	[15, 100]
Саркома Yoshida	»	[15, 100]
Саркома Jensen	»	[15, 100]
Саркома 9L	Интрацеребрально	[117]
Лимфосаркома Murphy-Sturm	П/к	[44]

Таблица 27 (окончание)

Опухоль	Способ перевивки	Источник
Фибросаркома Brown	Не указан	[100]
Глиома (астроцитомы)	Интрацеребрально	[118, 119, 154]
Глиосаркома	То же	[158]
<i>Хомячки</i>		
Аденокарцинома двенадцатиперстной кишки, печени, поджелудочной железы, предстательной железы	П/к	[44]
Карцинома коры надпочечников и эндометрия	»	[44]
Лейомиосаркома	»	[44]
Остеогенная саркома	»	[44]
Ретикулярная саркома	»	[44]
Плазмоцитомы	П/к или интрацеребрально	[44]

лее чем на 50 штаммах опухолей, представляющих основные гистологические типы злокачественных новообразований (в том числе спонтанных и индуцированных канцерогенами и вирусами), развивающихся на инбредных и беспородных мышах, крысах и хомячках.

Противоопухолевые свойства ЦГНМ и MeЦГНМ изучены менее полно, чем БХНМ.

ЦГНМ эффективна в отношении 16 опухолей животных, указанных в табл. 28. Обращает на себя внимание активность этого соединения при интрацеребральных формах опухолей различного генеза. Более подробно этот интересный аспект действия НАМ рассматривается ниже.

Для MeЦГНМ характерна исключительно высокая активность при распространенной опухоли легких Льюис. Эта модель считается одним из наиболее «трудных» тестов, используемых при скрининге химиотерапевтических агентов, ввиду ее устойчивости к действию антиметаболитов, большинства алкилирующих соединений и препаратов других классов. Резистентность опухоли, по-видимому, связана с ее выраженной способностью к раннему метастазированию. При подкожной и внутримышечной трансплантации опухоли ее метастазы в легкие обнаруживаются очень быстро, уже спустя 7 сут после перевивки, и хирургическое удаление первичной опухоли, достигающей к этому времени веса около 400 мг, не приводит к удлинению сроков жизни оперированных мышей по сравнению с контролем [141—144].

Таблица 28

Экспериментальные опухоли, чувствительные к ЦГНМ

Опухоль	Способ перевивки	Источник
Лейкемии		
<i>Мыши</i>		
Лейкемия L1210	В/б	[9, 12, 22, 40, 45, 51, 52, 54, 55, 66, 77, 78, 122, 124, 125]
То же	В/в	[45, 66, 122, 124, 126, 127]
»	П/к	[70]
»	Интрацеребрально	[45, 51, 77, 78, 122]
Гемоцитобластоз La	В/б	[28, 40]
Лейкемия AKR	В/в	[128]
То же	Спонтанная	[95, 97]
Солидные опухоли		
<i>Мыши</i>		
Опухоль легких Льюис	П/к	[45, 103, 104, 122]
То же	В/в	[45, 103]
Меланома В-16	П/к	[45, 121, 122]
То же	В/б, в/м и интрацеребрально	[105]
Рак молочной железы (первая генерация спонтанной опухоли, мыши линии СЗН)	П/к	[45, 114, 122]
Аденокарцинома коры почек	Под почечную капсулу	[129]
Эпендимобластома	Интрацеребрально	[130, 152, 155]
Эпендимобластома A Zimmetman	Интрацеребрально	[110, 131, 132]
Глиома 26	То же	[110, 130—132]
То же	П/к	[164]
Глиома 261	Интрацеребрально	[110, 130—132, 152]
Глиома, индуцированная вирусом Rous	То же	[133]
<i>Крысы</i>		
Карциносаркома Уокера 256	П/к	[28, 40]
9L Саркома	Интрацеребрально	[117]
<i>Хомячки</i>		
Глиома, индуцированная вирусом Rous	То же	[133]
Астроцитома, индуцированная вирусом полиомы SV-40	»	[133]

БХНМ, ЦГНМ, а из препаратов других групп — циклофосфан в разной степени тормозят развитие опухоли Льюис, но излечение части мышей имеет место только под влиянием МеЦГНМ (табл. 29) [103, 123, 139].

Пока остается неясным, почему метильная группа в транс-положении столь резко повышает эффективность МеЦГНМ по сравнению с ЦГНМ и *цис*-МеЦГНМ в отношении данной опухоли [12].

По мере увеличения размеров первичной опухоли и соответствующего роста метастазов эффективность МеЦГНМ умень-

Таблица 29

Эффективность хлорэтилзамещенных производных нитрозомочевины при опухоли легких Льюис [103]

Препарат	Доза, мг/кг/сут	Режим введения	Степень регрессии опухоли	Увеличение средней продолжительности жизни мышей, %	Число излеченных мышей*
МеЦГНМ	24	7 и 13 сут	Полная	>290	5/10
	24	7 и 12 сут	»	>290	7/10
	24	7 и 10 сут	»	>290	5/10
	24	7 и 9 сут	»	>290	6/10
	24	Только 7 сут	69%	61	1/10
ЦГНМ	50	7 и 19 сут	Полная	59	0/10
	50	7 и 17 сут	72%	51	0/10
	50	7 и 15 сут	Полная	63	0/10
	50	Только 7 сут	»	7	0/10
БХНМ	39	7 и 17 сут	0	0	0/10
	39	7 и 15 сут	0	0	0/10
	39	7 и 13 сут	58%	0	0/10
	39	Только 7 сут	54%	0	0/10

* Числитель — число излеченных мышей, знаменатель — общее число мышей; период наблюдения — три месяца.

шается. Введение препарата мышам с опухолью весом в 1—3 г (12—21 сут после перевивки) уже не излечивает животных, хотя значительно удлиняет сроки их жизни (на 60 и 40% соответственно по сравнению с контролем) [134].

В отношении диссеминированной формы опухоли (перевивка внутривенно 10^6 опухолевых клеток) МеЦГНМ обладает такой же активностью, как циклофосфан, и оба эти препарата более эффективны, чем БХНМ и ЦГНМ [103].

Высокая активность МеЦГНМ при опухоли Льюис определила дальнейшее направление исследований этого препарата, испытывавшегося в основном при солидных опухолях с ограни-

Таблица 30

Экспериментальные опухоли, чувствительные к МеЦГНМ

Опухоль	Способ перевивки	Источник
Лейкемии		
<i>Мыши</i>		
Лейкемия L1210	В/б	[9, 40, 45, 77, 78, 125, 134]
То же	Интрацеребрально	[45, 77, 78, 134]
Лейкемия Р-388	В/б	[120]
Гемоцитобластоз La	»	[28, 40]
Лейкемия АКР	Спонтанная	[95, 97]
Солидные опухоли		
<i>Мыши</i>		
Опухоль легких Льюис	П/к	[45, 103, 104, 123, 134, 135]
То же	В/в	[45, 103, 134]
Меланома В-16	П/к	[45, 121, 134, 136—138]
То же	Интрацеребрально	[120]
Рак молочной железы (первая генерация спонтанной опухоли, мыши линии СЗН)	П/к	[45, 134]
То же	В/в	[120]
Карциномы толстой кишки 26, 36, 38	П/к	[120]
<i>Крысы</i>		
Карциносаркома Уокера 256	»	[28, 40]
Саркома 9L	Интрацеребрально	[117]

ченной чувствительностью к большинству известных цитостатиков.

Из данных табл. 30, в которой перечислены все чувствительные к МеЦГНМ экспериментальные модели, видно, что препарат эффективен в отношении таких относительно резистентных к химиотерапии солидных опухолей, как рак молочной железы мышей линии СЗН (первая генерация), меланома В-16, ряд перевиваемых карцином толстого кишечника мышей [45, 120, 121, 134, 136—138].

Преимущественная активность МеЦГНМ по сравнению с другими НАМ в отношении экспериментальных солидных опухо-

Таблица 31

Эффективность хлорэтилзамещенных производных нитрозомочевины при меланоме В-16 [134]

Препарат	Доза, мг/кг/сут	Режим введения	Торможение, %	Увеличение средней продолжительности жизни мышей, %
БХНМ	58,5	2-е сут, однократно	49	36
	39,0		9	36
	26,0		23	47
ЦГНМ	75,0	То же	75	47
	50,0		43	36
	33,3		0	59
МеЦГНМ	54,0	»	69	117
	36,0		41	109
	24,0		52	90

Таблица 32

Противоопухолевая эффективность стрептозотоцина в опытах на животных [15a]

Опухоль	Способ перевивки	Увеличение средней продолжительности жизни, %
<i>Мыши</i>		
Лейкемия L1210	В/б	53
Лейкемия Р-388	»	54
Лимфолейкоз L5178-У	»	30
Меланома В-16	»	23
То же	П/к	4
Опухоль легких Льюис	»	6
Эпендимобластома	Интрацеребрально	44
<i>Крысы</i>		
Карциносаркома Уокера 256	П/к	20

лей может быть показана на примере меланомы В-16. Из представленных в табл. 31 данных, характеризующих эффективность НАМ, при перевитой подкожно меланоме видно, что мыши, получавшие МеЦГНМ, живут примерно вдвое дольше, чем животные, леченные БХНМ или ЦГНМ [134].

Противоопухолевая активность стрептозотоцина, как видно из табл. 32, относительно невелика. Препарат проявляет умеренную эффективность при асцитных лейкемиях L1210 и Р-388, эпендимобластоме и лимфолейкозе L5178-У у мышей, отличаю-

щихся несколько большей чувствительностью к антибиотику, чем другие изученные опухоли [167—173].

Однако в сочетании с фармакологическими особенностями стрептозотоцина (отсутствие угнетающего гемопоз действия и диабетогенными свойствами) такой уровень терапевтической активности оказался достаточным для клинического испытания при определенных опухолях (инсулома).

Слабое миелодепрессивное действие стрептозотоцина при наличии противоопухолевых свойств стимулировало поиски высокоактивных, не угнетающих гемопоз нитрозопроизводных среди аналогов этого соединения. Биологические испытания 16 производных стрептозотоцина показали, что для проявления антилейкемического действия необходимо наличие N-NO- и N-CH₃-групп. Замена NO-группы на водород либо CH₃-группы на C₂H₅ или C₄H₉ приводит к утрате противоопухолевых свойств [166, 167].

Обнаружены два новых высокоэффективных аминоглюкозида хлорэтилнитрозомочевины, не обладающие диабетогенными свойствами и не угнетающие кроветворение [170, 171, 174—177]. Один из этих препаратов — 3-(тетра-ацетилглюкопираноз-2-ил)-1-(2-хлорэтил)-1-нитрозомочевина — увеличивает продолжительность жизни мышей с асцитной лейкемией L1210 на 80—140% при введении в дозе 15 мг/кг (LD₁₀).

Другой препарат — хлорозотоцин обладает антилейкемической активностью, равной эффективности БХНМ. Выживаемость мышей с асцитной лейкемией L1210, получавших хлорозотоцин и БХНМ на ранней и поздней стадиях роста опухоли, показана в табл. 33 [177].

При раннем начале лечения (на 2-е сутки после перевивки) хлорозотоцин в МПД (15 мг/кг) увеличивает среднюю продолжительность жизни мышей на 701% и излечивает 60% животных. При введении БХНМ максимальный эффект (увеличение продолжительности жизни мышей на 632% и излечение 80% животных) наблюдается от применения токсической дозы LD₂₀, равной 30—40 мг/кг.

Введение хлорозотоцина мышам с далеко зашедшим опухолевым процессом на 6-е сутки развития опухоли излечивает до 30% животных и продлевает жизнь остальных на 400% по сравнению с контролем. Несколько более эффективна БХНМ, применение которой позволяет излечить 50% мышей и увеличить продолжительность жизни оставшейся половины животных на 493%.

Значительная противоопухолевая активность хлорозотоцина при отсутствии миелодепрессивного действия послужила основанием для рекомендации препарата для клинических испытаний. В настоящее время проводится углубленное предклиническое изучение препарата.

Таблица 33

Активность хлорозотоцина и БХНМ при асцитной лейкемии L1210* [177]

Препарат	Доза, мг/кг, однократно	Летальность для интактных мышей	Средняя продолжительность жизни, сут	Увеличение средней продолжительности жизни, %	Число излеченных мышей**
Лечение на 2-е сутки после перевивки					
Хлорозотоцин	5	—	19,1	140	1/10
	10	—	37,8	355	3/10
	15	—	66,5	701	6/10
	20	LD ₁₀	48,7	487	4/10
	30	LD ₉₀	38,7	366	3/10
	50	LD ₁₀₀	7,3	—	0/10
Контроль БХНМ		—	8,3	—	0/10
	10	—	23,0	125	1/9
	20	—	55,5	444	5/10
	30	LD ₂₀	74,7	632	7/9
	40	LD ₂₀	74,7	632	8/10
	50	LD ₁₀₀	49,4	384	4/10
Контроль		—	10,2	—	0/10
Лечение на 6-е сутки после перевивки					
Хлорозотоцин	10	—	19,2	137	0/11
	15	—	13,4	65	0/10
	20	LD ₁₀	40,6	401	3/10
	30	LD ₉₀	37,1	358	3/10
Контроль БХНМ		—	8,1	—	0/10
	10	—	17,3	97	0/10
	20	—	25,0	184	1/10
	30	LD ₂₀	52,5	493	5/10
	40	LD ₂₀	14,9	69	0/10
	50	LD ₁₀₀	23,7	169	1/10
Контроль		—	8,8	—	0/10

* Перевивка опухоли в/б 10⁶ клеток.

** Числитель — число излеченных мышей, знаменатель — общее число мышей.

Появление в онкологической практике активных НАМ с модифицированной структурой, не обладающих гемотоксичностью, может улучшить результаты лечения больных с нарушенной в результате предшествовавшей терапии функцией костного мозга, а также будет способствовать более эффективному использованию препаратов этой группы в сочетании с высокоактивными цитостатиками, оказывающими миелодепрессивное действие.

Опухоли мозга

Одной из важных особенностей НАМ, отличающей их от большинства других противоопухолевых препаратов, является значительная активность при опухолях мозга. Такая специфика действия НАМ обусловлена, вероятно, их физико-химическими и фармакологическими свойствами (хорошая растворимость в липидах, обеспечивающая быстрый транспорт веществ через клеточные мембраны и гемато-энцефалический барьер, ГЭБ).

Скрининг препаратов для лечения опухолей ЦНС проводится нерегулярно. Между тем препараты такого рода крайне необходимы для лечения не только больных с первичными глиальными опухолями, частота возникновения которых относительно невелика (4,5/100 000), но также для терапии больных с метастазами в мозг различных солидных опухолей (рак молочной железы, рак легкого, меланома и др.) и с менингеальными формами лейкозов. Значение этой проблемы возрастает по мере прогресса в химиотерапии опухолевых заболеваний, в частности, острого лимфолейкоза, поскольку большинство высокоэффективных препаратов, продлевающих жизнь больных, не способно проникать через ГЭБ и воздействовать на накапливающиеся в мозгу лейкозные клетки, в результате чего у значительной части больных развиваются симптомы поражения ЦНС [79, 139, 145].

Существует ряд подходов к созданию экспериментальных моделей, пригодных для отбора средств, потенциально эффективных при опухолях мозга человека. Это — гетеротрансплантация опухолей мозга человека в мозг животных, перевивка неглиальных опухолей в мозг, химическая и вирусная индукция опухолей мозга у животных. Идеальная экспериментальная модель должна отвечать следующим требованиям: состоять из аутохтонных клеток, трансплантироваться в мозг, иметь определенную и воспроизводимую перевиваемость и достаточно длительный период развития, позволяющий проводить курс химиотерапии в отдаленные сроки после имплантации. Наилучшим образом этим требованиям соответствуют индуцируемые и ведущиеся от них перевиваемые опухоли мозга, многие из которых используются для оценки эффективности НАМ [108—111, 117—119, 130—133, 145—160].

Весьма распространен также метод трансплантации в мозг обычных пассируемых асцитных и солидных опухолей и, в первую очередь, асцитной лейкемии L1210 [11, 73, 139, 140, 161]. Большинство антилейкемических препаратов, в том числе метотрексат, принятый за стандарт эффективности при асцитной лейкемии L1210, не влияет на развитие интрацеребральной формы этой опухоли [11, 79, 139, 162]. НАМ являются одними из немногих противоопухолевых агентов, обладающими высо-

Таблица 34

Эффективность хлорэтилзамещенных НАМ при различных формах лейкемии L1210 [139]

Препарат	Доза (фракция LD ₅₀) [*]	Излеченные животные. %					
		В/б перевивка		В/в перевивка		Перевивка в мозг	
		10 ⁷ клеток	10 ⁸ клеток	10 ⁷ клеток	10 ⁸ кле- ток	10 ⁶ клеток	10 ⁶ кле- ток
БХНМ	1,0—0,7	57	79	2	39	13	53
	0,7—0,4	27	62	<1	6	0	22
ЦГНМ	1,0—0,8	71	81	25	80	65	71
	0,7—0,5	24	40	5	36	5	32
МеЦГНМ	0,9—0,6	57	77	25	77	2	15
	0,4—0,2	23	18	2	13	0	1

* Препараты вводили в/б однократно на 1-е или 2-е сут после перевивки опухоли.

кой активностью не только при внутрибрюшинной и внутривенной, но и при внутримозговой перевивке лейкемических клеток [11—13, 19—21, 23, 25, 26, 44—49, 51, 67, 73, 77—80, 122, 134, 139, 140, 161, 163]. Эффективность БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ при различных формах лейкемии L1210 показана на табл. 34.

Обращает внимание несколько большая эффективность ЦГНМ, чем других НАМ, при менингеальной лейкемии L1210. Применение этого препарата позволяет излечить до 65% мышей, которым привито в мозг 10⁶ лейкемических клеток; в подобных условиях БХНМ излечивает 13% животных, а МеЦГНМ — 2%.

При асцитной и диссеминированной формах опухоли активность трех хлорэтилзамещенных НАМ примерно одинакова: индуцируемая ими в эквитоксических дозах гибель опухолевых клеток редко различается более чем на порядок [139].

Преимущественная эффективность ЦГНМ в отношении интрацеребральных форм опухолей показана также при меланоме В-16, привитой в мозг, и эпендимобластоме мышей (табл. 35).

Терапевтическая ценность БХНМ при локализованных в мозгу новообразованиях подтверждается ее активностью при интрацеребральных формах таких опухолей, как саркома 180, лимфолейкоз L-5178У, лейкемия Dunning мышей, карциносаркома Уокера 256 крыс, плазмоцитома хомячков (см. табл. 29).

НММ была первым веществом из группы НАМ, для которой были установлены противоопухолевые свойства при менингеальной лейкемии L1210 [10—13, 19—21]. Позднее было обнаружено ее ингибирующее действие при интрацеребральных формах сар-

Таблица 35

Эффективность НАМ при некоторых интрацеребральных опухолях мышей [15а]

Опухоль	НММ	БХНМ	ЦГНМ	МеЦГНМ
	увеличение средней продолжительности жизни, %			
Лейкемия L1210	52	222	390	283
Меланома В-16	—	51	113	—
Эпендимобластома	—	224	233	192

Таблица 36

Влияние НММ на выживаемость животных с интрацеребральными формами опухолей [35]

Доза, мг/кг/сут	Начало введения*, сут	Саркома 180	Рак Эрлиха	Карцинома Герена**
		увеличение средней продолжительности жизни, % к контролю		
16	1***	32	46	—
16	4	11	22	—
16	7	14	10	—
8	1	16	32	45
8	4	21	30	22
8	7	21	25	6
4	1	12	18	—
4	4	16	15	—
4	7	11	13	—

* Препарат вводили шестикратно в/б.

** При развитии карциномы Герена НММ вводили в дозе 8,8 мг/кг/сут.

*** В первые сутки НММ вводили за 10 мин до перевивки опухолей.

комы 180, рака Эрлиха мышей и карциномы Герена крыс (табл. 36) [35, 36, 43].

Как видно из табл. 36, НММ в зависимости от дозы и времени начала лечения (на ранней или поздней стадии развития процесса) увеличивает продолжительность жизни мышей с саркомой 180 на 11—32%, с раком Эрлиха—на 10—46% и крыс с карциномой Герена—на 6—45% [35].

Противоопухолевое действие НАМ (в основном БХНМ и ЦГНМ) изучено также на собственно глиогенных опухолях, большинство из которых первоначально индуцировано нейротропными канцерогенами.

Все три хлорэтилзамещенные НАМ обладают значительной эффективностью при перевиваемой эпендимобластоме (субли-

ния А) мышей линии С₅₇В1/6 [108—111, 130—132, 155] и саркоме 9-L крыс линии Фишер [117].

К действию ЦГНМ и БХНМ чувствительны глиомы 26 и 261 [109—111, 130—132, 152, 164] и астроцитомы, индуцированная вирусом ASV [154]. Показана также чувствительность к БХНМ глиосаркомы крыс [158] и астроцитомы, индуцированной у крыс с помощью НММ [118, 119], к ЦГНМ — опухолей хомяков, индуцированных вирусом Rous и вирусом полиомы SV-40 [133].

БХНМ и особенно ЦГНМ значительно активнее, чем такие препараты, как циклофосфан, метотрексат, 5-фторурацил, винкристин, митрамицин при эпендимобластоме А, глиомах 261 и 26 [108—111, 131, 152]. Исключительно высокая эффективность ЦГНМ видна из следующих данных. Продолжительность жизни мышей, получавших ЦГНМ, увеличивается до 500% по сравнению с контролем, несколько изменяясь в зависимости от штамма опухоли и срока введения препарата. Число мышей, проживших более 60 сут, составляет 50%, а в ряде случаев приближается к 100%. Действие БХНМ слабее — продолжительность жизни животных увеличивается под влиянием препарата на 13—81%, а максимальное число излеченных мышей составляет 35%.

ЦГНМ обладает значительной активностью не только при внутрибрюшинном, но и при внутримышечном введении в масляном растворе. Так, однократные инъекции ЦГНМ на 2, 7 или 14-й день после перевивки опухоли в дозах, равных 20—70 мг/кг, приводят к излечению до 50% животных и максимальному увеличению средней продолжительности жизни мышей с глиомой 261 на 400%, с глиомой 26 — на 385%, мышей с эпендимобластомой А — на 476%. Действие препарата тем слабее, чем позже начато лечение [132].

БХНМ, однако, более эффективна, чем ЦГНМ, при астроцитоме, индуцированной у новорожденных крысят вирусом ASV. Продолжительность жизни животных увеличивается под влиянием БХНМ на 40%, а при введении ЦГНМ — на 20% по сравнению с контролем. По своим цитокинетическим параметрам эта модель близка к глиальным опухолям человека [154].

При химически индуцированной астроцитоме крыс БХНМ также весьма активна. Введение препарата на 9 и 16-й день развития опухоли в дозе 5,2 мг/кг (40% от LD₁₀) увеличивает продолжительность жизни крыс на 38%, а в дозе 10,4 мг/кг — на 84%. БХНМ ингибирует рост опухоли и при позднем начале лечения (введение препарата на 16 и 23-й день), когда у крыс уже появляются признаки неврологического заболевания, а пролиферативный пул опухоли уменьшается. Морфологически действие препарата выражается в появлении большого числа некротических участков даже в небольших по размеру опухолях, что связано с летальным действием БХНМ на опухолевые клетки. Наблюдается пикноз ядер, цитоплазматическая вакуолизация, исчезновение цитоплазматических деталей, хорошо представленных в клетках интактной опухоли [118].

БХНМ высокоактивна и при перевиваемой глиосаркоме крыс (исходная опухоль — химически индуцированная астроцитома) [158]. Под влиянием препарата уменьшается число образующих колонии (т. е. жизнеспособных) опухолевых клеток и увеличивается продолжительность жизни животных. Оба эти эффекта хорошо коррелируют между собой (коэффициент корреляции равен 0,89) и зависят от дозы БХНМ.

С увеличением дозы препарата до 0,75 LD₁₀ выжившая фракция опухолевых клеток уменьшается экспоненциально. Дальнейшее увеличение дозы вплоть до 2 LD₁₀ практически не усиливает гибель клеток: жизнеспособными остается около 0,1% от исходного количества клоногенных клеток. Эти клетки не обладают резистентностью к БХНМ, так как опухоли, развивающиеся из них после перевивки выживших клеток интактным крысам, столь же чувствительны к препарату, как и исходная опухоль.

То же явление наблюдается в аналогичных опытах с солидной опухолью мышей ЕМТ-6 [102], перевиваемой лимфомой АКР мышей [87] и лейкемией L1210 [49, 65].

Этот факт может быть объяснен тем, что поступление препарата в некоторые опухолевые клетки лимитируется их удаленностью от капилляров и плохим кровоснабжением [165].

Хлорэтилзамещенные НАМ способны не только ингибировать рост опухолей мозга, но и препятствовать их индукции. Ежемесячное четырехкратное введение этих препаратов параллельно с канцерогенным индуцирующим воздействием приводит к снижению частоты возникновения неврогенных опухолей (невриномы, олигодендроглиомы, олигодендросаркомы, эпендимомы, полиморфные глиомы), которые в группе контрольных животных появляются в 85,9% случаев. При введении БХНМ (10 мг/кг/сут внутрибрюшинно) опухоли развиваются у 47,8% крыс, при введении ЦГНМ (35 мг/кг в сутки per os) — у 31,6% крыс, а при воздействии МеЦГНМ (50 мг/кг/сут per os) — только у 17,6% крыс [157].

Экспериментальные данные, полученные в опытах с опухолями мозга, позволяют рассматривать НАМ как наиболее перспективную группу препаратов среди известных химиотерапевтических агентов, предложенных для лечения больных со злокачественными новообразованиями ЦНС [139].

Перекрестная резистентность

Важный этап экспериментального изучения новых противоопухолевых агентов — выявление перекрестной резистентности с известными, применяющимися в клинике, препаратами различного механизма действия.

Проведенные в этом направлении исследования, основные результаты которых сведены в табл. 37, показали, что опухолевые клетки с приобретенной *in vivo* устойчивостью к антифоллиевым

Таблица 37

Чувствительные к БХНМ экспериментальные опухоли с приобретенной резистентностью к другим противоопухолевым препаратам [139]

Опухоль	Препарат, к которому опухоль резистентна	Способ перевивки опухоли	Метод введения БХНМ	Источник
Лейкемия L-1210 мышей	Метотрексат	Интрацеребрально	П/к	[20]
То же	То же	В/в	В/б	[44]
»	»	П/к	П/к	[20]
»	6-Меркаптопурии	В/б	Внутрь	[44]
»	То же	»	П/к	[179]
»	»	Интрацеребрально	Внутрь	[44]
»	Метотрексат, 6-меркаптопурии, циклофосфан	П/к	П/к	[20]
»	терефталанилид	В/в	В/б	[44]
»	То же	Интрацеребрально	»	[44]
»	ДТIC	В/б	»	[55]
»	»	»	П/к	[179]
»	Цитозин-арабинозид	»	В/б	[178]
»	Циклофосфан	»	»	[139]
Лейкемия P-815 мышей	5-Фторурацил	»	»	[44]
Плазмоцитома хомячков Pla-1	Циклофосфан	П/к	»	[44]

препаратам, антагонистам пуринов и пиримидинов, ингибиторам синтеза ДНК, алкилирующим агентам, сохраняют чувствительность к БХНМ [139].

БХНМ эффективна в отношении сублиний лейкемии L1210, резистентных к метотрексату, 6-меркаптопурину, циклофосфану, терефталанилиду [20, 44, 139, 179], цитозин-арабинозиду [178], ДТIC (5-[3,3-диметил-1-триазено]-имидазол-4 карбоксамиду) [55], а также при лейкемии P-815, резистентной к 5-фторурацилу, и плазмоцитоме хомячков, устойчивой к циклофосфану [44].

Лейкемия L1210, устойчивая к ДТIC, сохраняет чувствительность к ЦГНМ [55].

Однако сублиния асцитной лейкемии L1210, резистентная к ВТIC (5-[3,3-бис(2-хлорэтил)-1-триазено]-имидазол-4-карбоксамиду), обладает перекрестной устойчивостью к действию НММ, БХНМ, ЦГНМ, стрептозотоцина и других нитрозопроизводных, как имеющих, так и не имеющих в своем составе галогенэтиламину группу. Эта сублиния рефрактерна также к ДТIC, но чувствительна к циклофосфану, мелфалану, сарколизину, Тио-Тэф'у, 6-меркаптопурину и цитозин-арабинозиду [22, 44, 122].

Штамм лейкемии L1210, устойчивый к БХНМ, также резистентен к ВТІС и ДТІС, но чувствителен к метотрексату, оксимочевине, цитозин-арабинозину [44].

Эти данные указывают на определенное сходство механизма действия НАМ, ВТІС и ДТІС, отличающегося от механизма действия классических алкилирующих агентов, с которыми не обнаруживается перекрестной устойчивости. Тот факт, что перекрестная резистентность наблюдается между имидазолкарбоксамидами и НАМ разнообразного строения, позволяет считать, что это сходство не обусловлено алкилирующим действием галогенэтиламинных групп [22].

Отсутствие перекрестной устойчивости между НАМ и некоторыми из алкилирующих агентов подтверждается результатами, полученными на животных с лейкемией L1210, опухолью легких Льюис и меланомой В-16.

Штамм лейкемии, резистентный к циклофосфану, чувствителен к БХНМ и сарколизину. Сублиния L1210, резистентная к БХНМ, сохраняет чувствительность к циклофосфану и сарколизину [139].

Варианты опухоли легких Льюис и меланомы В-16, резистентные к МеЦГНМ, столь же чувствительны к циклофосфану, как исходные штаммы опухолей [137, 139].

Таким образом, существовавшее ранее представление о едином механизме действия алкилирующих агентов, согласно которому развитие устойчивости к одному из препаратов указывает на наличие перекрестной резистентности к другим алкилирующим соединениям, не может рассматриваться как универсальное. Имеется по меньшей мере четыре химических класса алкилирующих агентов: бис(2-хлорэтил)фосфордиамидааты (типа циклофосфана), имидазолкарбоксамиды (ДТІС и ВТІС), 1,3-дизамещенные-1-нитрозомочевины (БХНМ, ЦГНМ, МеЦГНМ), ароматические азотиприты (мелфалан, сарколизин), обладающие различным биологическим механизмом действия [139].

Своеобразный механизм действия НАМ, обеспечивающий отсутствие перекрестной устойчивости с химиотерапевтическими агентами разных групп, в том числе с алкилирующими соединениями, открывает большие возможности для совместного применения НАМ с другими противоопухолевыми препаратами.

ЗАВИСИМОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА ОТ ДОЗ, СХЕМ И ПУТЕЙ ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ. ОПТИМАЛЬНЫЕ РЕЖИМЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Активность химиотерапевтических агентов существенно зависит от таких факторов, как дозировка, природа растворителя, способ введения и схема применения препаратов. В опытах на мышах с асцитным раком Эрлиха проведено сравнительное изу-

чение эффективности НММ, НЭМ, НПМ и ДМНМ при различных методах однократного и многократного введения в разные сроки после перевивки опухоли (табл. 38) [4, 8]. Все четыре препарата обладают высокой активностью на этом штамме опухоли, примерно одинаковой при изученных путях введения. При

Таблица 38

Сравнительная активность НАМ при различных методах введения мышам с асцитным раком Эрлиха [4] (торможение роста опухоли, %)

Препарат	Число инъекций	Доза, мг/кг/сут	Начало введения препарата после перевивки опухоли							
			через 1 сут				через 4 сут			
			в/б	п/к	внутри	в/в	в/б	п/к	внутри	в/в
НММ	1	100	90	90	90	95	90	85	70	90
		50	85	75	60	50	45	50	65	40
	5	20	90	90	70	65	65	70	60	40
		10	75	80	50	70	60	60	—	0
НЭМ	1	250	100	100	100	100	80	80	95	75
		100	75	65	70	60	50	40	30	45
	5	100	100	100	100	100	85	60	55	75
		50	95	100	100	100	85	30	35	40
		20	80	70	65	70	60	30	20	0
НПМ	1	500	100	100	90	—	95	70	75	—
		250	95	80	100	—	75	50	50	—
		100	60	50	30	70	40	20	50	30
	5	200	—	100	—	—	—	80	—	—
		100	100	100	100	—	75	65	80	—
		50	100	100	100	100	50	45	40	30
		20	70	30	60	80	20	0	30	20
ДМНМ	1	100	90	90	75	95	80	75	65	80
		50	85	75	60	85	70	60	—	65
	5	20	95	80	80	95	85	75	70	85
		10	80	40	60	75	70	65	45	65

раннем начале лечения максимально переносимые, а во многих случаях и меньшие дозы, как однократные, так и дробные, вызывают почти полное подавление опухолевого роста (торможение 80—100%). При позднем начале лечения (с пятых суток) эффективность препаратов слабее, но все же достаточно отчетливо выражена (торможение 70—90%).

Важным показателем, характеризующим разрыв между токсическими и терапевтическими дозами препарата, является химиотерапевтический индекс, который определялся как отношение LD_{50} к дозе, подавляющей рост опухоли не менее чем на 50% (DT_{50}). В табл. 39 приведены значения химиотерапевтических

индексов НММ, НЭМ и НПМ при различных путях однократного и многократного введения мышам с асцитным раком Эрлиха.

При всех изученных способах введения препараты имеют высокие значения химиотерапевтических индексов, что свидетельствует об определенной избирательности их действия. Вид-

Таблица 39

Химиотерапевтические индексы НАМ [4]

Препарат	Путь введения	LD ₅₀ , мг/кг/сут		DT ₅₀ , мг/кг/сут		Химиотерапевтический индекс	
		однократно	пятикратно	однократно	пятикратно	однократно	пятикратно
НММ	В/в	180	30	50	5	3,6	6,0
	Внутрь	200	80	50	10	4,0	8,0
	В/б	150	30	50	5	3,0	6,0
	П/к	200	80	50	5	4,0	16,0
НЭМ	В/в	410	150	100	20	4,1	7,5
	Внутрь	270	150	100	20	2,7	7,5
	В/б	380	200	100	20	3,8	10,0
	П/к	430	200	100	20	4,3	10,0
НПМ	В/в	500	150	100	20	5,0	7,5
	Внутрь	750	150	150	20	5,0	7,5
	В/б	1375	238	100	20	13,7	11,9
	П/к	1500	250	100	50	15,0	5,0

но, что при пятикратном введении разрыв между токсической и терапевтической дозами препаратов больше, чем при однократном их применении. Исключением является НПМ, имеющая при однократном внутрибрюшинном и подкожном введении более высокие химиотерапевтические индексы, чем при пятикратном. Наиболее высокий индекс, равный 16, присущ НММ при подкожном пятикратном введении.

Выбор оптимальной схемы введения препаратов имеет существенное значение для их практического использования. Наиболее полные выводы о преимуществах той или иной схемы введения НАМ могут быть получены при их сравнительном кинетическом изучении [32, 34]. В опытах с асцитным раком Эрлиха при идентичных условиях препараты вводили либо однократно на следующие сутки после перевивки опухоли, либо двукратно на первые и седьмые сутки, либо шестикратно с первых по седьмые сутки. На рис. 11—13 представлены кинетические кривые изменения объема асцитической жидкости и общего числа опухолевых клеток в контрольной и леченых группах животных. Изменение объема асцитической жидкости в брюшной полости мышей

Таблица 40

Количественные характеристики действия НАМ при различных схемах их подкожного введения мышам с асцитным раком Эрлиха [34]

Препарат	Доза, мг/кг/сут	Число введенных	Средняя про- должитель- ность жизни, сут	Латентный пе- риод появле- ния асцитиче- ской жидко- сти, сут	Максимальный объем асцити- ческой жидко- сти, мл	Максимальное число опухоле- вых клеток, 10^6	Характеристика кривых изменения			$\%_v$	$\%_N$
							объема асцитиче- ской жидкости $\left(\frac{t}{1-t}\right)$	общего числа опухолевых клеток $\left(\sqrt[3]{N}\right)$			
НММ	120	1	19,0 ± 5,4	7	7,8	150	$3,8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,01t}$	226 + 16,9t	0,33	0,57	
	20	2	14,0 ± 1,5	6	8,2	280	$3,3 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,70t}$	164 + 45,4t	0,24	0,40	
	20	6	16,4 ± 1,9	6	4,8	350	$3,8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,70t}$	246 + 43,0t	0,24	0,34	
НЭМ	400	1	17,8 ± 5,1	9	10,8	350	$1,3 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,60t}$	219 + 23,2t	0,42	0,50	
	200	2	14,3 ± 1,1	6	8,2	470	$3,3 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,70t}$	202 + 36,0t	0,26	0,26	
	100	6	17,1 ± 4,1	10	9,2	260	$0,3 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,65t}$	133 + 30,0t	0,46	0,45	
НПМ	400	1	17,0 ± 3,8	9	7,7	220	$0,1 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,80t}$	212 + 22,4t	0,38	0,47	
	200	2	15,1 ± 0,9	6	8,2	470	$3,3 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,70t}$	202 + 36,0t	0,26	0,26	
	100	6	15,2 ± 3,3	6	4,8	170	$3,8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,70t}$	190 + 28,0t	0,26	0,43	
Контроль			13,9 ± 1,7	3	10,2	1000	$30 \cdot 10^{-4} \cdot e^{0,64t}$	189 + 63,3	—	—	

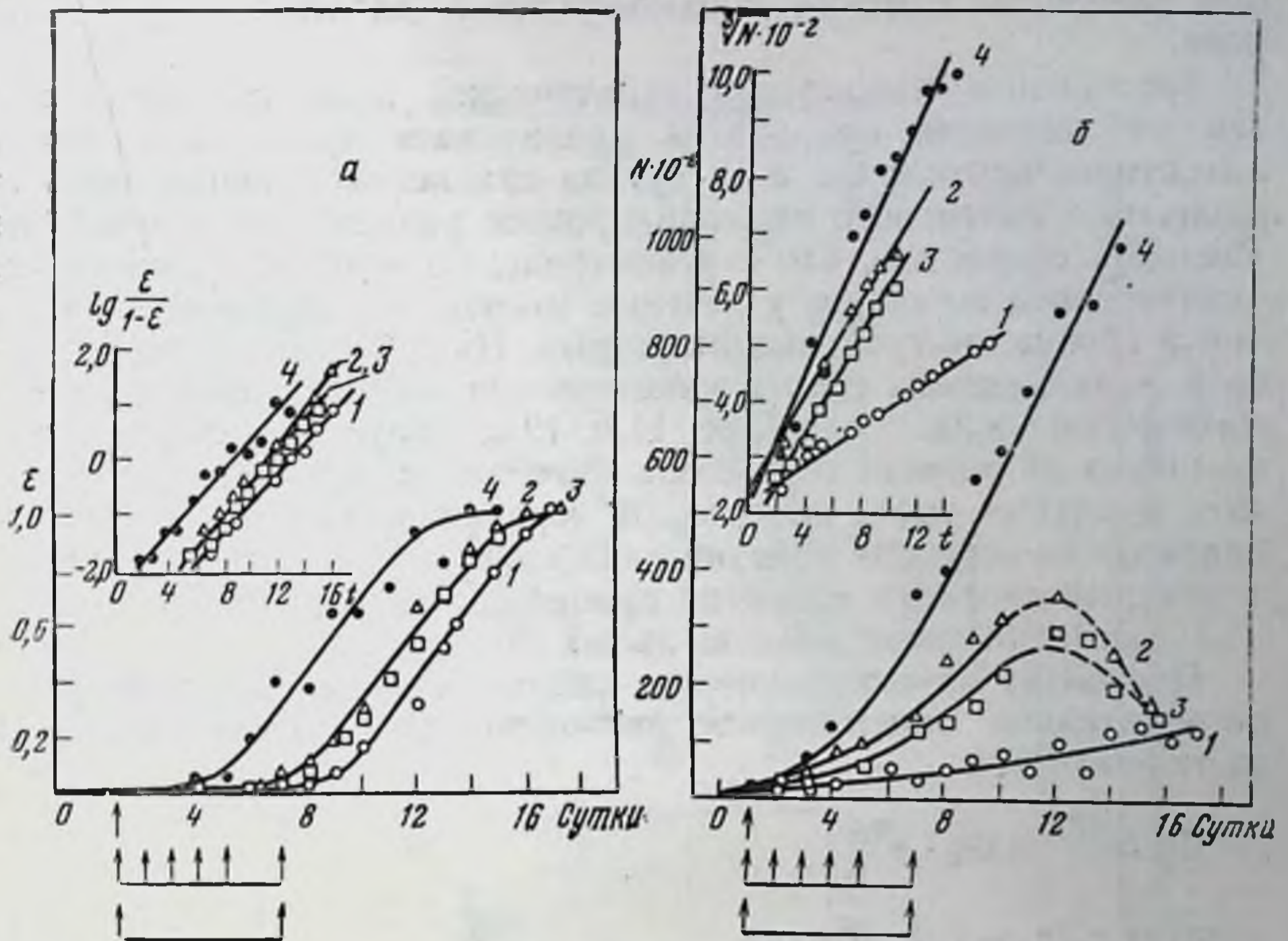


Рис. 11. Торможение накопления асцитической жидкости (а) и роста числа опухолевых клеток (б) при введении НММ мышам с асцитным раком Эрлиха 1 — однократное введение (120 мг/кг); 2 — шестикратное введение (20 мг/кг/сут); 3 — двукратное введение (20 мг/кг/сут); 4 — контроль; вверху приведены линейные анаморфозы соответствующих кинетических кривых

по мере развития опухоли носит S-образный характер и описывается уравнением логистической функции в форме:

$$\frac{\xi}{1-\xi} = a \cdot e^{bt}, \quad (15)$$

где $\xi = \frac{V}{V_k}$ — безразмерная величина, представляющая собой отношение объемов асцита в любой момент времени (V) к максимальному (конечному) объему асцита (V_k).

Увеличение общего числа опухолевых клеток может быть охарактеризовано уравнением корня кубического (уравнение 9, глава I).

Количественные характеристики действия НММ, НЭМ и НПМ при различных схемах применения представлены в табл. 40.

Видно, что введение препаратов значительно тормозит накопление асцитической жидкости и рост общего числа опухоле-

вых клеток, не изменяя закономерностей, наблюдаемых в контроле.

Торможение накопления асцитической жидкости связано с тем, что введение препаратов увеличивает продолжительность латентного периода на 3—7 сут по сравнению с контролем. По окончании латентного периода процесс развивается с такой же удельной скоростью, что и в контроле, но максимальный объем асцитической жидкости у леченых мышей, как правило, меньше, чем в группе контрольных животных. На графике это отражается в параллельном сдвиге кинетических кривых накопления асцитической жидкости (рис. 11,а, 12,а, 13,а). Величина коэффициента κ^* зависит от выбора интервалов усреднения. В качестве конечных точек интервалов усреднения целесообразно выбрать точки перегиба кинетических кривых, т. е. момент времени, в который скорости развития процессов в контроле (t_c) и опыте (t_e) достигают своих максимальных значений.

Поскольку автокаталические кривые до точек перегиба удовлетворительно описываются экспоненциальными уравнениями, то из равенства

$$\Phi_0 \cdot e^{\varphi_c t_c} = \Phi_0 \cdot e^{\varphi_e t_e}$$

следует $\varphi_e/\varphi_c = t_c/t_e$, откуда

$$\kappa^* = 1 - \frac{\varphi_e}{\varphi_c} = 1 - \frac{t_c}{t_e} = \frac{t_e - t_c}{t_e}.$$

Значения κ^* , представленные в табл. 40, вычислены по этой формуле.

Препараты весьма эффективно подавляют рост числа опухолевых клеток, который является более важным показателем развития асцитной опухоли, нежели изменение объема асцитической жидкости, хотя эти явления и взаимосвязаны. Влияние НАМ сказывается в основном на величине параметра b , характеризующего темп развития процесса. Величина b меняется от 63 сут⁻¹ в контроле до 17 сут⁻¹ при максимальном торможении, вызываемом однократным введением НММ в дозе 120 мг/кг. У мышей, получавших препараты, максимальное число опухолевых клеток в 2—6 раз (в зависимости от схемы введения веществ) ниже, чем у контрольных мышей. Значения коэффициента активности κ_N^* вычислены при усреднении до конечной точки контрольной кинетической кривой (14 сут).

Как видно из табл. 40, НММ наиболее активна при однократном введении высокой дозы 120 мг/кг. Та же суммарная доза, но введенная дробно по 20 мг/кг в день в течение шести дней, в меньшей степени тормозит развитие рака Эрлиха. Двукратное введение по 20 мг/кг в день не менее эффективно, чем шестикратное (см. рис. 11).

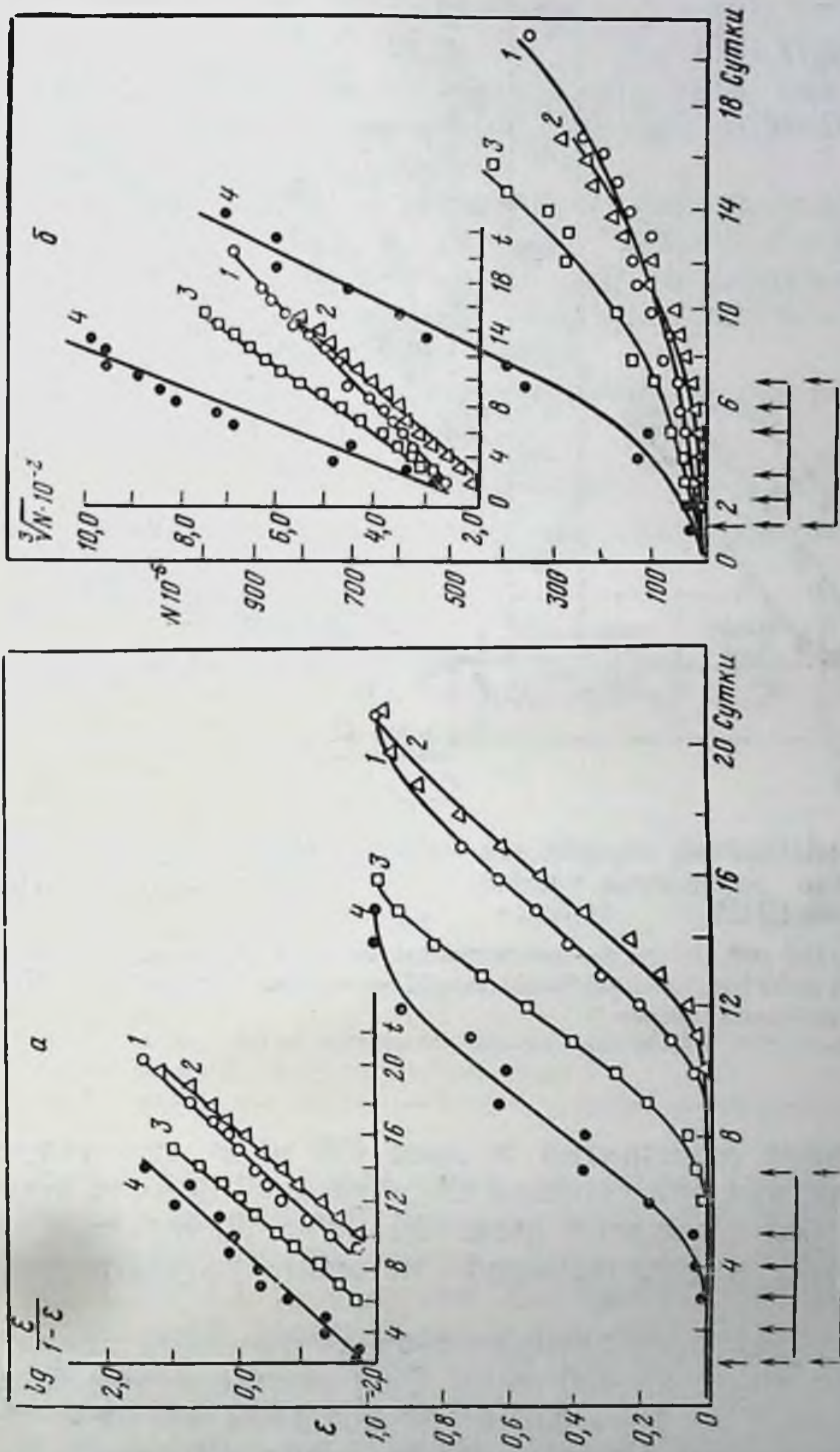


Рис. 12. Влияние НЭМ на накопление асцитической жидкости (а) и рост числа опухолевых клеток (б) у мышей с асцитным раком Эрлиха [28]

- 1 — однократное введение (400 мг/кг);
 2 — шестикратное введение (100 мг/кг/сут);
 3 — двукратное введение (200 мг/кг/сут);
 4 — контроль; вверху приведены линейные анаморфозы соответствующих кинетических кривых

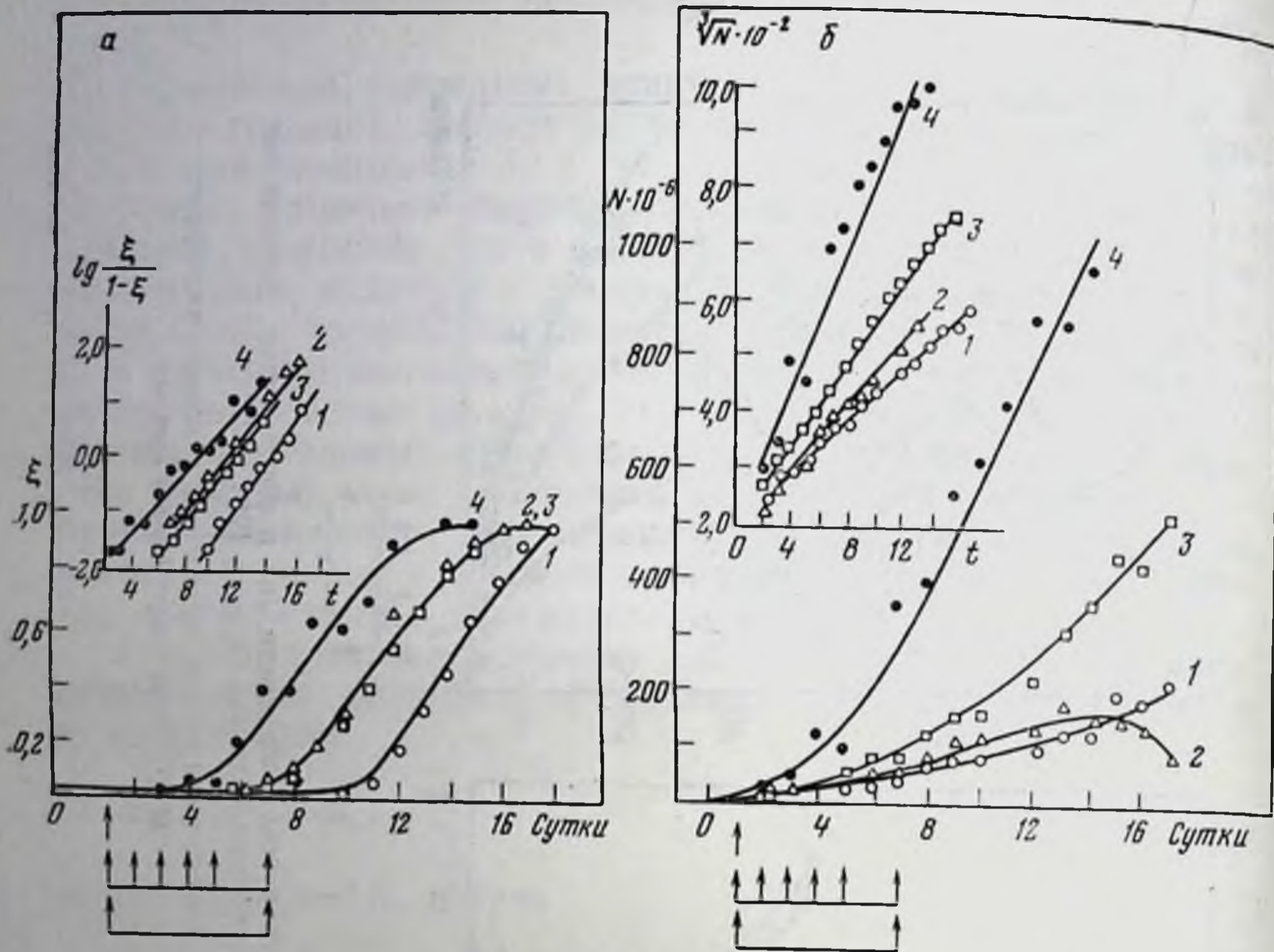


Рис. 13. Кинетические кривые торможения накопления асцитической жидкости (а) и роста числа опухолевых клеток (б) у мышей с асцитным раком Эрлиха под влиянием НПМ

1 — однократное введение (400 мг/кг); 2 — шестикратное введение (100 мг/кг/сут); 3 — двукратное введение (200 мг/кг/сут); 4 — контроль; вверху приведены линейные анаморфозы соответствующих кинетических кривых

НЭМ, введенная однократно в дозе 400 мг/кг, практически столь же активна, как при дробном введении по 100 мг/кг в день суммарно даже более высокой дозы 600 мг/кг. Двукратное введение по 200 мг/кг в день оказалось наименее результативным (рис. 12).

НПМ наибольшей противоопухолевой активностью обладает при однократном введении 400 мг/кг. При шестикратном введении суммарно в полтора раза более высокой дозы 600 мг/кг препарат менее эффективен. Наименее эффективно двукратное применение по 200 мг/кг в день (рис. 13).

Таким образом, однократные, «ударные» инъекции препаратов не менее (НЭМ), а иногда и более (НММ, НПМ) эффективны, чем многократные введения суммарно тех же (НММ) или несколько более высоких (НЭМ и НПМ) доз.

Подтверждением этому служит и тот факт, что при однократном введении препаратов средняя продолжительность жизни

мышей возрастает в большей степени, чем при других схемах применения (см. табл. 40).

Подобная закономерность отмечена и для хлорэтилзамещенных НАМ [70, 122]. Приведенные в табл. 41 данные показывают, что ЦГНМ более активна при однократном или еженедельном подкожном введении мышам с солидной лейкемией L1210, чем при ежедневном применении.

Активность БХНМ в меньшей степени определяется режимом введения, но и для нее ежедневное введение оказывается наименее эффективным, максимальный эффект наблюдается при однократном применении высокой дозы препарата или введении его с интервалами 4 сут (табл. 41 и 42).

Активность стрептозотоцина практически не зависит от схемы введения препарата (табл. 43).

Таблица 41

Влияние режима введения на антилейкемическую активность ЦГНМ и БХНМ [122]

Режим введения	Интервал доз, мг/кг	Оптимальная доза, мг/кг/сут	Увеличение средней продолжительности жизни, %	Интервал доз, мг/кг	Оптимальная доза, мг/кг/сут	Увеличение средней продолжительности жизни, %
	Ц Г Н М			Б Х Н М		
Только 6-е сут	14—108	108	>650 (7) *	8,4—65,0	39,0	>445 (4)
Еженедельно с						
5 по 55 сут	8,4—65	39	>650 (8)	5,0—39,0	14,0	>650 (5)
Ежедневно с						
6 по 55 сут	3,0—23	14	>460 (0)	1,0—14,0	5,0	>540 (0)

* В скобках указано число излеченных мышей при общем количестве 8 мышей в группе. Перевивка лейкемии L1210 и введение препаратов п/к.

Способ введения препарата не играет существенной роли в реализации противоопухолевого эффекта НАМ [44, 122, 134, 139]. Как видно из представленных в табл. 44 результатов, активность БХНМ, ЦГНМ и трех других НАМ достаточно велика не только при подкожном введении, но и при применении внутрь. Исключением являются 1-(2-хлорэтил)-3-(2-норборнил)-1-нитрозомочевина и 3-циклогексил-1-(2-фторэтил)-1-нитрозомочевина, эффективность которых резко возрастает при введении per os [70].

Существенные результаты получены при изучении продолжительности противоопухолевого действия НАМ при введении препаратов в разные сроки до перевивки опухоли.

НММ малоактивна при введении мышам с асцитным раком Эрлиха раньше, чем за 2 ч до перевивки (табл. 45). Полное торможение роста опухоли достигается при введении препарата одновременно с трансплантацией опухолевых клеток. Введение той же дозы 80 мг/кг внутрибрюшинно однократно через сутки

Таблица 42

Активность БХНМ при различных схемах внутрибрюшинного введения мышам с асцитной лейкемией L1210 [44]

Режим введения	Доза, мг/кг/сут	Увеличение средней продолжительности жизни мышей, %	Число излеченных мышей*
Только 2-е сут	39,0	283	5/10
	26,0	258	4/10
	17,0	150	1/10
Ежедневно, со 2 по 16-е сут	4,9	91	0/10
	3,2	50	0/10
	2,1	16	0/10
Через день со 2 по 16 сут	9,8	316	5/10
	6,4	125	0/10
	4,2	33	0/10
Каждый 4-й день — 2, 6, 10, 14-е сут	20,0	383	6/10
	13,0	300	2/10
	8,4	133	0/10
Каждые 3 часа, 2, 6, 10, 14 сут	2,9	416	—
	2,0	483	3/10
	1,3	250	—
	0,84	66	—

* Числитель — число излеченных мышей, знаменатель — общее число мышей.

Таблица 43

Влияние режима введения на антилейкемическую активность стрептозотоцина [169]

Доза, мг/кг/сут*	Каждые 3 ч в первые сутки		Каждые 3 ч в первые и 9-е сут		Ежедневно, с первых по 5-е сут	
	средняя продолжительность жизни, сут	увеличение средней продолжительности жизни, %	средняя продолжительность жизни, сут	увеличение средней продолжительности жизни, %	средняя продолжительность жизни, сут	увеличение средней продолжительности жизни, %
32,0	10,0	25	10,0	25	—	—
25,0	—	—	—	—	10	25
16,0	9,0	12,5	9,5	19	—	—
12,5	—	—	—	—	9	12
8,0	8,5	6	9,0	12	—	—
4,0	8,5	6	8,5	6	—	—
Контроль	8,0	—	8,0	—	8,0	—

* Антибиотик вводили в/б мышам с асцитной лейкемией L1210.

Таблица 44

Эффективность ряда производных нитрозомочевины при различных путях введения мышам с асцитной лейкемией L1210 [70]

Препарат	Способ введения	Оптимальная доза, мг/кг	Увеличение продолжительности жизни, % к контролю	Число излеченных животных*
БХНМ	П/к	5,00	268	0/8
	Внутрь	5,00	421	0/8
ЦГНМ	П/к	8,40	322	0/8
	Внутрь	8,40	347	1/8
1-(2-Хлорэтил)-3-(2-норборнил)-1-нитрозомочевина	П/к	39,00	400	0/8
	Внутрь	39,00	442	3/8
3-Циклогексил-1-(2-фторэтил)-1-нитрозомочевина	П/к	14,00	247	1/8
	Внутрь	14,00	605	6/8
3,2-Хлорциклогексил-1-(2-хлорэтил)-1-нитрозотрансмочевина	П/к	14,00	236	0/8
	Внутрь	23,00	226	0/8

* Числитель — число излеченных животных, знаменатель — общее число животных.

Таблица 45

Торможение развития асцитного рака Эрлиха в зависимости от времени введения НММ

Время введения НММ	Торможение роста опухоли, %	Изменение сроков жизни, % к контролю	Время введения НММ	Торможение роста опухоли, %	Изменение сроков жизни, % к контролю
1 сут до прививки	50	—19	30 мин до прививки	60	—19
6 ч до прививки	43	—19	Одновременно с прививкой	100	—48
4 ч до прививки	43	—18	1 сут после прививки	80	+19
2 ч до прививки	70	—19			

после перевивки приводит к ингибированию развития опухоли на 80%. Однако только в этом случае отмечено удлинение сроков жизни животных по сравнению с контролем. Параллельное же с перевивкой опухоли введение препарата наиболее токсично и сокращает почти на 50% сроки жизни мышей.

Эффективный уровень хлорэтилзамещенных НАМ (или их активных метаболитов) также сохраняется лишь в течение короткого периода времени. Так, БХНМ активна только при введении за 15 мин до, одновременно или после инокуляции лейкемических клеток L1210 в мозг животных. При подкожной перевивке лейкемии БХНМ сохраняет эффективность при введении за 30 мин до имплантации опухоли. Однако максимальный

эффект наблюдается при применении препарата сразу после перевивки лейкемии [73].

Активность ЦГНМ сохраняется при введении за 2 ч до перевивки солидной лейкемии L1210 почти такой же, как и при введении сразу же после перевивки [201]. Время полувыведения ЦГНМ удлиняется при ее подкожной имплантации в силиконовой капсуле. Такой способ применения химиотерапевтических агентов весьма перспективен, так как введенные таким образом препараты дольше сохраняют активность: ЦГНМ, имплантированная за 4 ч до перевивки, так же активна как при введении одновременно с инокуляцией опухолевых клеток — доза 25 мг/кг излечивает 7 из 8 животных. MeЦГНМ, будучи введена также за 4 ч в силиконовой капсуле, в дозах 25—50 мг/кг излечивает практически всех мышей с лейкемией L1210. Эффект исчезает полностью при имплантации препарата за сутки до перевивки [125].

Таким образом, большинство НАМ проявляют максимальную терапевтическую активность в отношении экспериментальных опухолей при применении их в высоких разовых дозах с достаточно длительными интервалами между отдельными введениями препаратов. Получение подобных данных на стадии экспериментального изучения противоопухолевых веществ имеет важное значение для последующих клинических испытаний.

КИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НАМ

Изложенные выше экспериментальные факты свидетельствуют о высокой противоопухолевой активности ряда НАМ, отличающихся широтой и определенной избирательностью терапевтического действия при различных способах применения. Вместе с тем каждый из препаратов имеет свои особенности — они различаются по химическому строению, липофильным и гидрофильным свойствам, скоростям распада и проникновения через биологические мембраны, реакционной способности, а вследствие этого и по силе и направленности токсических и терапевтических эффектов. Важные дополнительные сведения о действии препаратов дает сравнительное изучение противоопухолевых свойств НАМ в кинетическом аспекте.

Саркома 180. Влияние НАМ на кинетику развития асцитных опухолей может быть показано на примере асцитной саркомы 180 (С-180) [8, 27, 33, 34]. Кинетические кривые изменения объема асцитической жидкости при развитии С-180 в контроле и при шестикратном (с 1 по 8 сут) подкожном введении НММ, НЭМ и НПМ приведены на рис. 14, а. Полученные S-образные кривые описываются логистической функцией (уравнение 5, б, глава I). В период наиболее интенсивного развития (до 12 сут)

накопление асцитической жидкости происходит в соответствии с экспоненциальной зависимостью (уравнение 4, глава I).

При введении препаратов эта зависимость сохраняется в течение длительного периода (до 11 сут при введении НММ, до 19 — при НЭМ и до 17 — при НПМ).

Сравнение кинетических констант уравнений, приведенных в табл. 46, показывает, что препараты достоверно, но в различной мере тормозят процесс накопления асцитической жидкости. Оценить эти различия можно с помощью коэффициента активности κ_v^* , значения которого вычислены для участков кривых, соответствующих экспоненциальному увеличению объема асцита.

Рассмотрим влияние этих же препаратов на рост общего числа опухолевых клеток С-180. Соответствующие кинетические кривые (рис. 14, б) имеют экстремум. До точки максимума, т. е. до 13 сут в контроле и до 16 сут при введении НММ и НПМ, а при введении НЭМ в течение всего периода развития опухоли, рост числа опухолевых клеток описывается степенной функцией кубического корня (уравнение 9, глава I). Значения κ_N^* , вычисленные для указанных участков кривых, приведены в табл. 46.

Очевидно, что в отношении данной опухоли НЭМ, вызывающая практически полное подавление роста опухоли ($\kappa_v^* = 0,74$; $\kappa_N^* = 1,09$), обладает большей эффективностью, чем НММ ($\kappa_v^* = 0,26$; $\kappa_N^* = 0,54$) и НПМ ($\kappa_v^* = 0,53$; $\kappa_N^* = 0,50$).

Показательной характеристикой эффективности препарата является его влияние на время удвоения массы опухоли или числа опухолевых клеток. При закономерном изменении числа опухолевых клеток в соответствии с уравнением корня кубического времени удвоения размеров популяции может быть вычислено по формуле 11 (глава I).

Наибольшее увеличение времени удвоения (на 9-е сут по сравнению с контролем) наблюдается при применении НЭМ, при введении НММ время удвоения числа опухолевых клеток возрастает на 2 сут, а при введении НПМ — на 1,5 сут.

Эффективность воздействия препаратов (при шестикратном введении) на развитие асцитного рака Эрлиха, так же как и при С-180, убывает в ряду соединений НЭМ → НММ → НПМ (см. рис. 11—14, табл. 40).

Изучение антилейкемической активности этих соединений [3, 27] показало, что при развитии лейкоза La их эффективность убывает в ряду НПМ → НЭМ → НММ (см. главу I).

Аналогичная закономерность установлена и на другом экспериментальном лейкозе — эритромиелозе крыс при введении препаратов через сутки после трансплантации опухоли — НММ в дозе 20 мг/кг, НЭМ — в дозе 100 мг/кг и НПМ в дозах 100 и 200 мг/кг. На рис. 15 приведены соответствующие S-образные кинетические кривые изменения диаметра подкожной опухоли

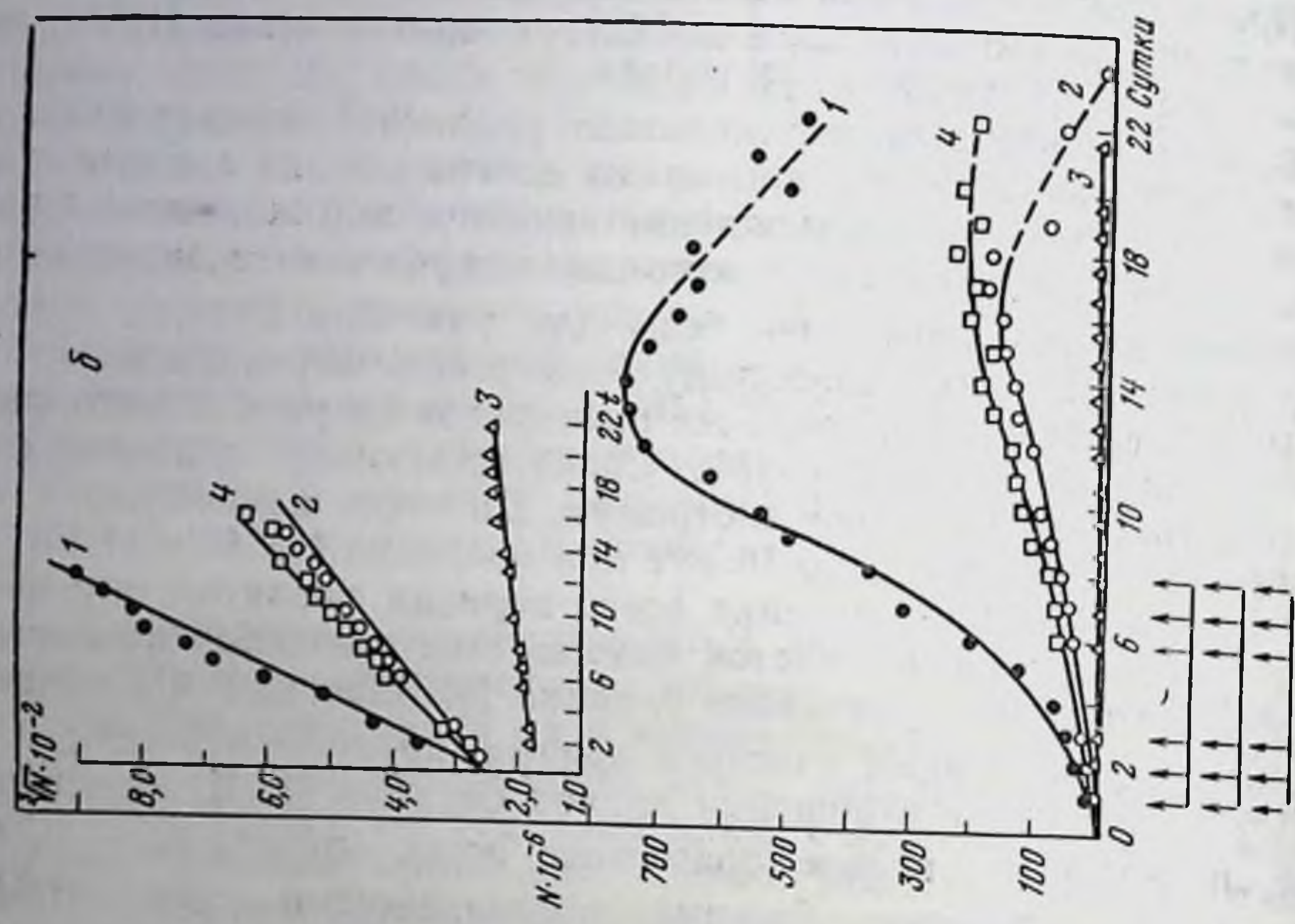
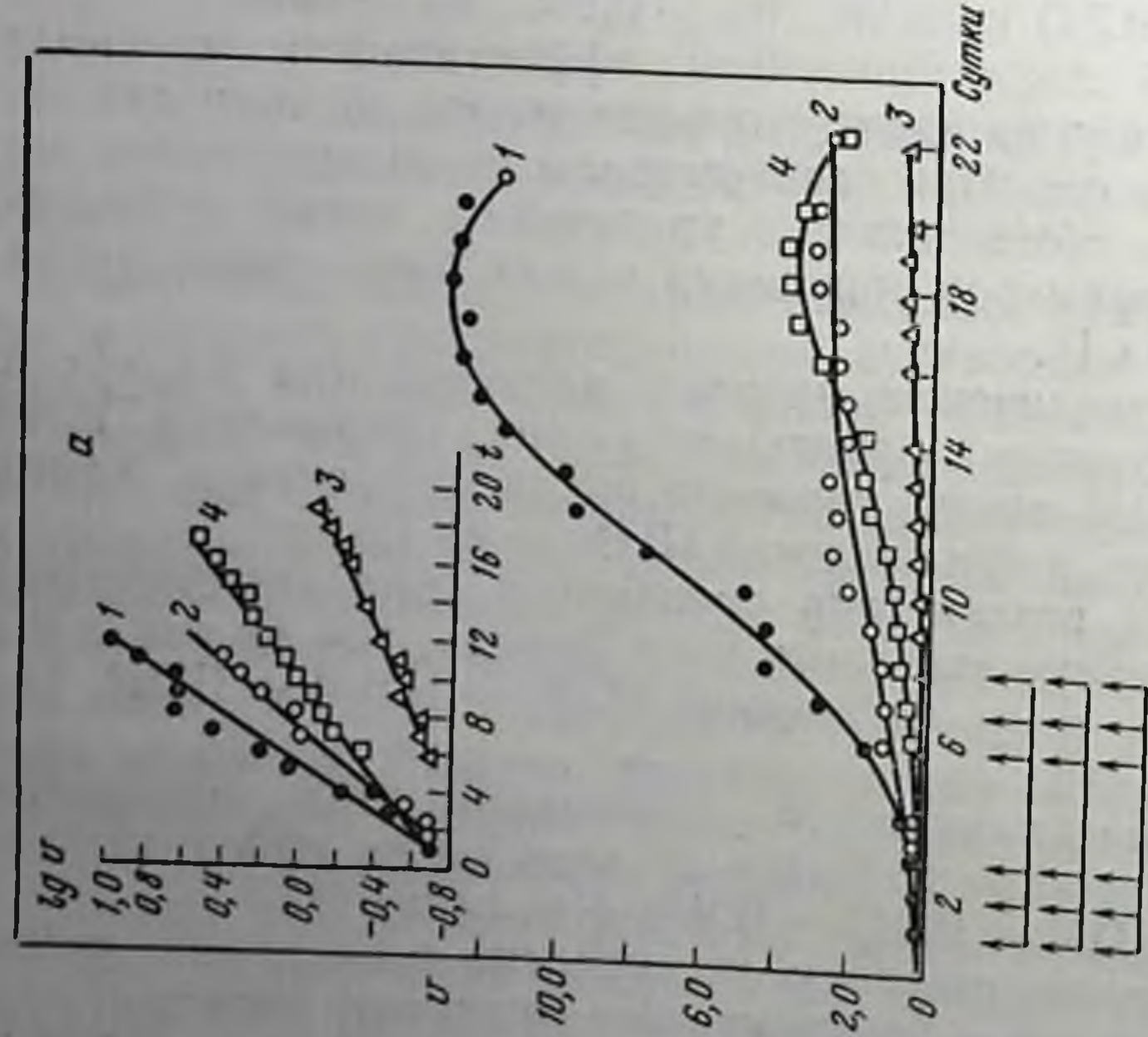


Рис. 14. Изменение объема асцитической жидкости (а) и общего числа опухолевых клеток (б) при развитии асцитной С-180

- 1 — контроль;
 2 — НММ;
 3 — НЭМ;
 4 — НПМ; вверху приведены анаморфозы кинетических кривых

Таблица 46
 Количественные характеристики противопухолевого действия НММ, НЭМ и НПМ при развитии асцитной С-180 [34]

Препарат	Доза, мг/кг/сут	Средняя продолжительность жизни, сут	Латентный период (по объему асцитической жидкости), сут	Максимальный объем асцитической жидкости, мл	Максимальное число опухолевых клеток · 10 ⁶	Характеристика кривых изменения		χ ₀	χ _N
						объем асцитической жидкости (V)	числа опухолевых клеток (V/N)		
НММ	20	24,4 ± 4,7	2	3,0	200	0,164 · e ^{0,286t}	252 + 20,0t	0,26	0,54
НЭМ	100	22,3 ± 7,2	6	0,8	15	0,111 · e ^{0,102t}	169 + 4,0t	0,74	1,09
НПМ	100	17,6 ± 3,9	2	4,0	250	0,164 · e ^{0,184t}	242 + 24,4t	0,53	0,50
Контроль	—	17,5 ± 3,5	1	13,0	800	0,130 · e ^{0,387t}	208 + 61,0t	—	—

Таблица 47

Количественные характеристики противолейкозного (лейкоз La) действия НАМ [28]

Препарат	Доза, мг/кг/сут	Средняя про- должитель- ность жизни мышей, сут	Уравнения кривых изменения числа лейкоцитов (L)	Максимальное количество лейкоцитов в 1 мм ³ крови	Уравнения кривых изменения веса селезенки (S)	Максимальная вес селезенки, мг	χ^2_L	χ^2_S
НММ	67	12,2 ± 2,3	13800 · e ^{-0,21t}	5 000	27,0 · e ^{0,13t}	165	1,5	0,7
НМБ	80	12,3 ± 1,8	25700 · e ^{-0,26t} (3 — 10 сут)	5 000	37,0 · e ^{0,13t}	300	1,4	0,5
			513 · e ^{0,34t} (10—14 сут)					
ДЭНМ	150	14,6 ± 3,1	14450 · e ^{-0,09t} (2 — 9 сут)	14 000	37,0 · e ^{0,13t}	300	0,9	0,5
			1950 · e ^{0,14t} (9—14 сут)					
БХНМ	27	12,4 ± 2,4	5200 · e ^{0,16t}	18 000	74,0 · e ^{0,11t}	300	0,7	0,5
МеЦГНМ	24	12,1 ± 2,5	7586 · e ^{0,08t}	22 000	52,5 · e ^{0,20t}	600	0,7	0,2
ЦГНМ	38	12,1 ± 1,9	5888 · e ^{0,13t}	28 000	52,5 · e ^{0,20t}	625	0,5	0,2
Контроль	—	12,2 ± 0,7	8318 · e ^{0,18t}	76 000	57,5 · e ^{0,25t}	1025	—	—

при развитии эритромиелоза у контрольных и леченных крыс, из которых видно, что наибольшей активностью обладает НПМ в дозе 200 мг/кг, наименее активна НЭМ [27, 31].

Как отмечалось ранее, первичное изучение эффективности алкил- и хлорэтилзамещенных производных нитрозомочевины проведено в разных лабораториях, что в определенной мере затрудняет сравнение полученных данных. В связи с этим представлялось целесообразным сопоставить активность ряда НАМ в одном опыте и дать строго количественную оценку эффективности этих препаратов. Такого рода опыты были проведены на мышах $C_{57}Bl/6$ с лейкозом La (перевивка внутрибрюшинно 10^6 опухолевых клеток), на мышах F₁ ($C_{57}Bl/6 \times DBA_2$) с асцитной лейкемией L1210 (перевивка внутрибрюшинно $1,5 \cdot 10^6$ опухолевых клеток) и на крысах с карциносаркомой Уокера 256 (КСУ) (перевивка под кожу бока измельченными кусочками опухолевой ткани) [9, 28, 40, 41].

Препараты вводили двукратно в равнотоксических дозах, составляющих 0,67 LD_{10} (LD_{10} определяли при однократном введении интактным мышам), мышам с лейкозом La на 1 и 7-е сут развития опухоли, мышам с лейкемией L-1210 на 1 и 6-е сут после перевивки, крысам — на 3 и 10-е сут после трансплантации солидной опухоли.

Изучавшиеся препараты — НММ, ДМНМ, ДЭНМ, НМБ, БХНМ — вводили внутрибрюшинно, а ЦГНМ и МеЦГНМ применяли внутрь.

Оценку эффективности препаратов производили на основании изучения кинетики роста (или регрессии) опухолей в группах леченных и контрольных мышей; кроме того, определяли продолжительность жизни животных-опухоленосителей в этих группах. Кинетика развития опухолевых процессов прослеживалась до гибели 50% животных. Коэффициент активности χ' определяли при усреднении экспериментальных данных в интервале от начала терапевтического воздействия до конечной точки кинетической кривой.

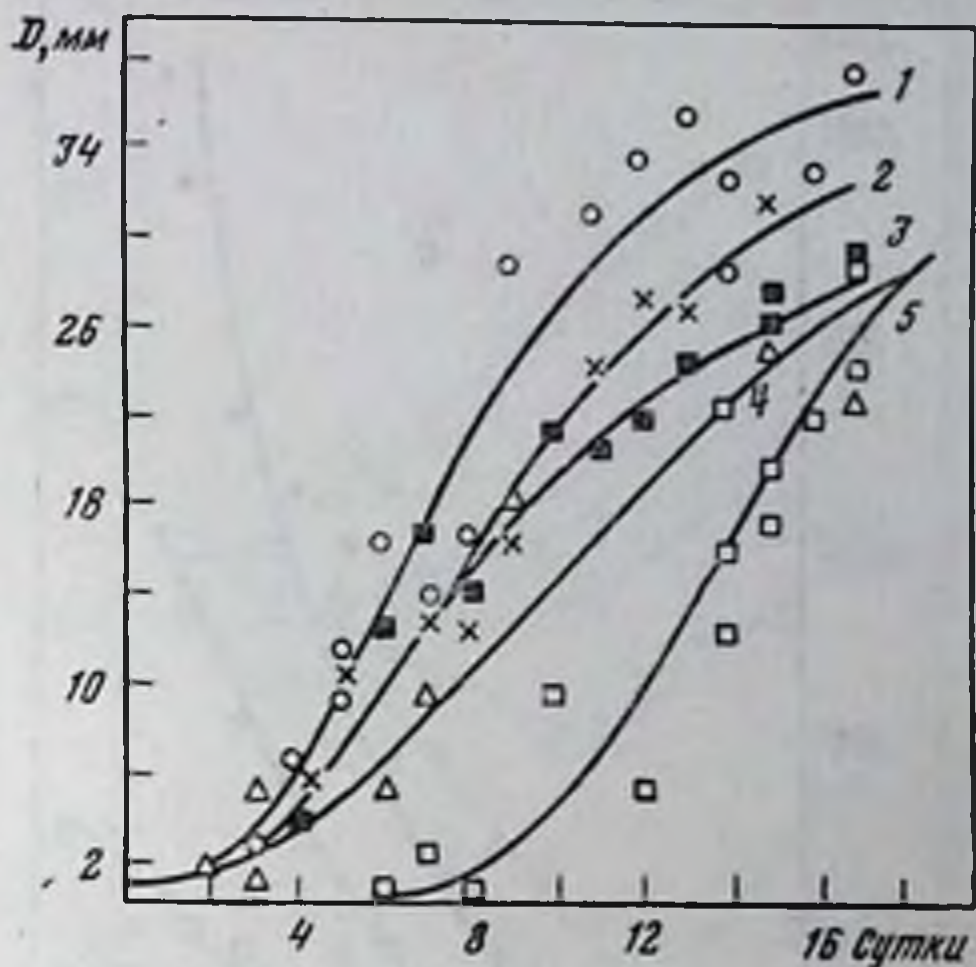


Рис. 15. Изменение среднего диаметра подкожной опухоли у крыс с эритромиелозом при воздействии НАМ

- 1 — контроль;
- 2 — НММ (20 мг/кг);
- 3 — НЭМ (100 мг/кг);
- 4 — НПМ (100 мг/кг);
- 5 — НПМ (200 мг/кг)

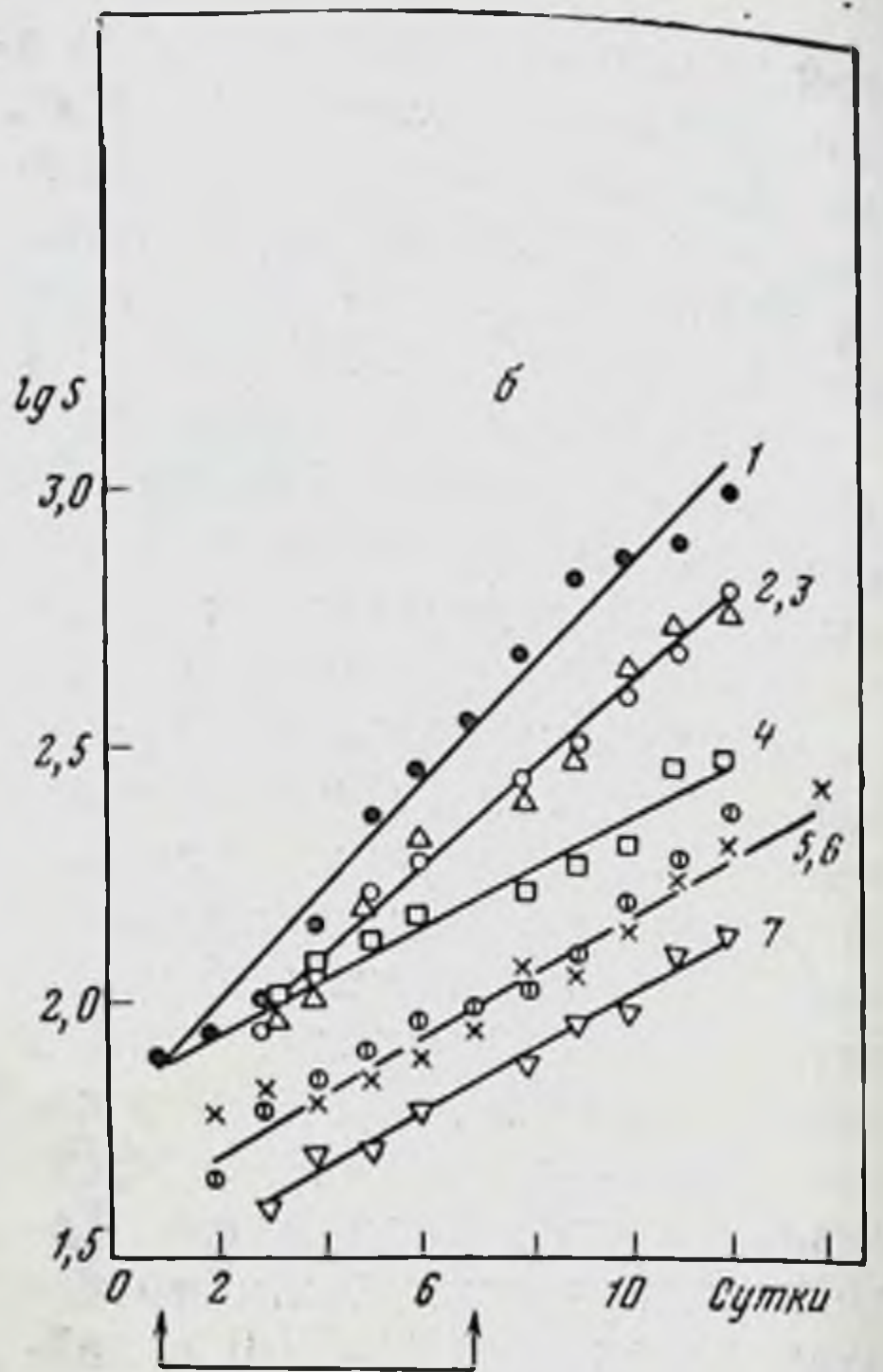
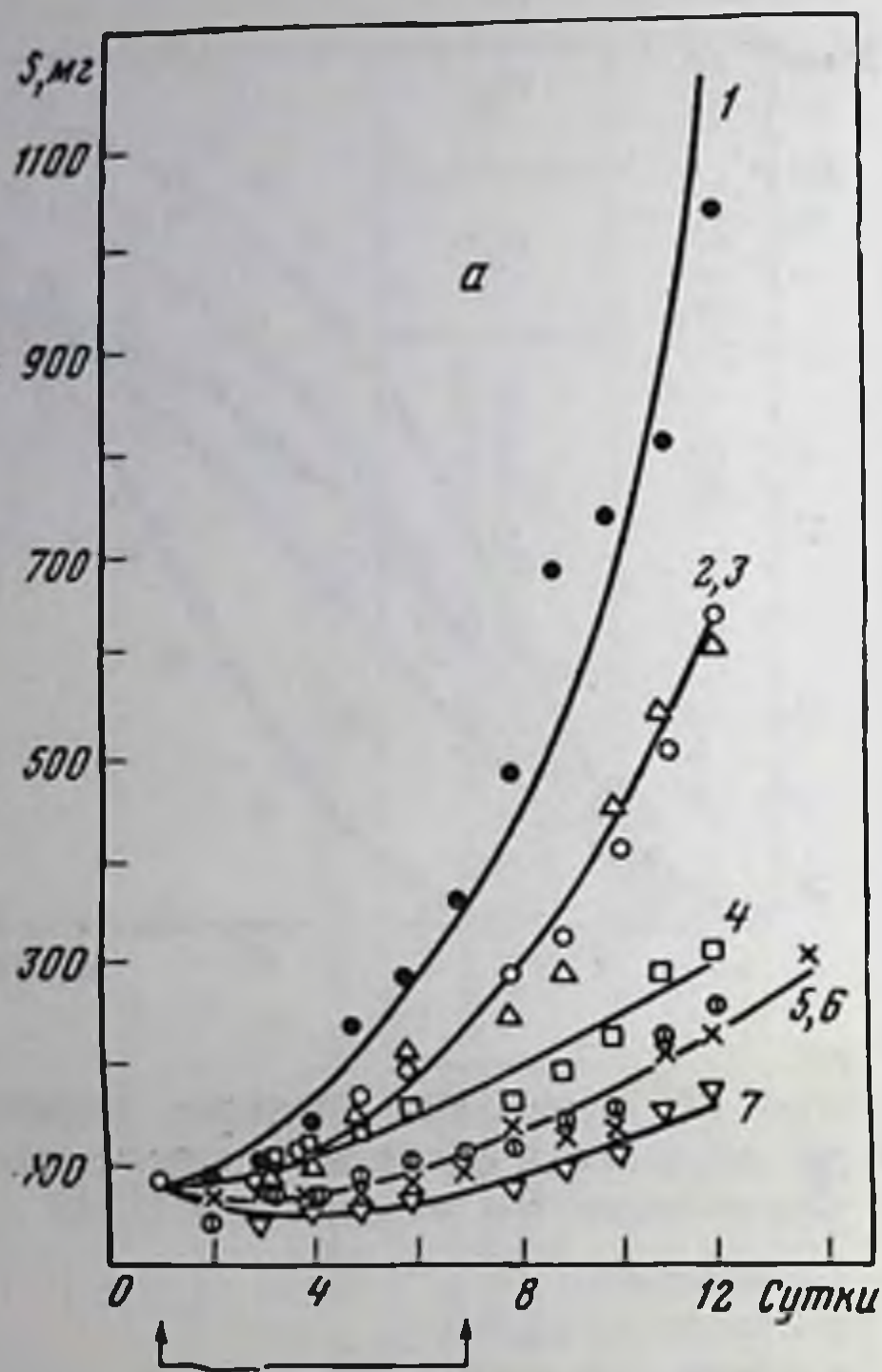


Рис. 16. Кинетические кривые изменения веса селезенки при развитии лейкоза La под влиянием НАМ (а); полулогарифмические анаморфозы соответствующих кривых (б)

1 — контроль; 2 — ЦГНМ; 3 — МеЦГНМ; 4 — БХНМ; 5 — НМБ; 6 — ДЭНМ; 7 — НММ

Лейкоз La. Кинетические кривые изменения веса селезенки при развитии лейкоза у подвергавшихся воздействию препаратов и контрольных мышей, представленные на рис. 16, имеют экспоненциальный характер (табл. 47).

Введение МеЦГНМ и ЦГНМ в равной мере слабо тормозит увеличение веса селезенки, характерное для развития лейкоза La ($\kappa_s^* = 0,2$).

БХНМ оказалась значительно более эффективной, чем МеЦГНМ и ЦГНМ, под ее влиянием рост веса селезенки замедляется вдвое по сравнению с контролем, о чем свидетельствует величина коэффициента активности $\kappa_s^* = 0,5$.

Весьма активно подавляют увеличение веса селезенки НМБ и ДЭНМ, вызывая вначале резкое ее уменьшение до значений ниже нормы, а в дальнейшем тормозя увеличение веса селезенки в такой же мере, как БХНМ. Следует отметить, что максимальный вес селезенки у мышей, получавших БХНМ, НМБ и ДЭНМ, не превышал 300 мг, в то время как у контрольных животных он составлял в среднем около 1000 мг.

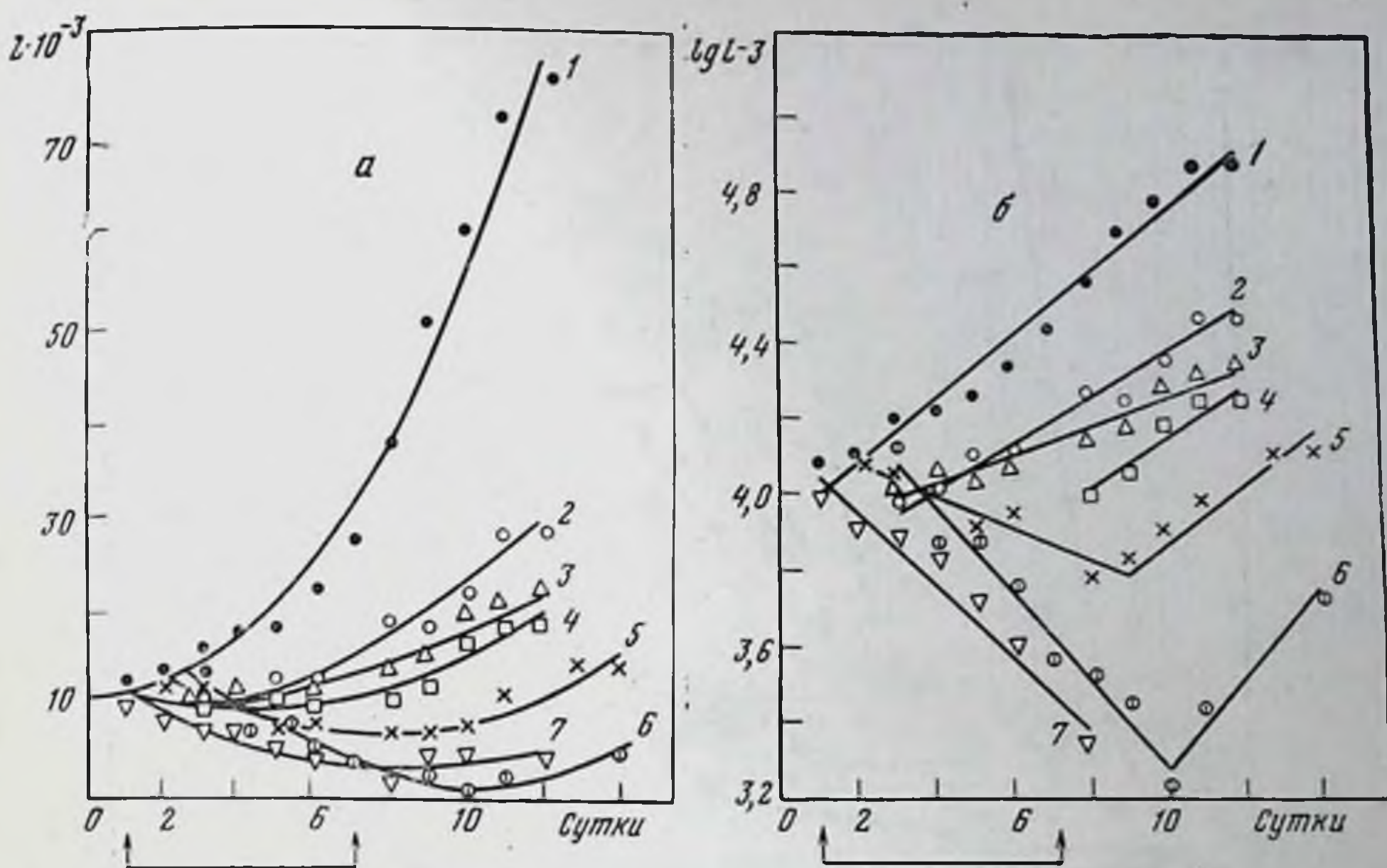


Рис. 17. Влияние НАМ на кинетику изменения числа лейкоцитов периферической крови при развитии лейкоза La (а); полулогарифмические анаморфозы соответствующих кривых (б)

1 — контроль; 2 — ЦГНМ; 3 — МеЦГНМ; 4 — БХНМ; 5 — НМБ; 6 — ДЭНМ; 7 — НММ

Наиболее эффективно рост селезенки тормозит введение НММ ($\kappa_{\text{с}}^* = 0,7$), которая в течение длительного периода удерживает размеры селезенки в пределах нормы. Максимальный вес селезенки у животных этой группы — 165 мг (см. табл. 47).

Кинетические кривые изменения числа лейкоцитов в 1 мм^3 периферической крови при развитии лейкоза La у контрольных мышей и у мышей, получавших НАМ, представленные на рис. 17, могут быть описаны экспоненциальной функцией. Уравнения, описывающие эти кривые, приведены в табл. 47.

Введение ДЭНМ, НММ и НМБ приводит к снижению числа лейкоцитов на протяжении 9, 8 и 10 сут соответственно и к развитию различной степени лейкопении. Эти участки кривых описываются экспоненциальными зависимостями с отрицательными показателями экспонент (см. табл. 47).

При введении ДЭНМ число лейкоцитов уменьшается к 9 сут до 6000, затем возрастает по экспоненте со скоростью меньшей, чем в контроле, и нормализуется к 14 сут.

Введение НММ и особенно НМБ приводит к развитию более глубокой и стойкой лейкопении, что находит отражение в значениях κ_{L}^* , больших единицы (см. табл. 47).

Лейкемия L1210. Кинетические кривые изменения общего числа опухолевых клеток при развитии лейкемии у контрольных

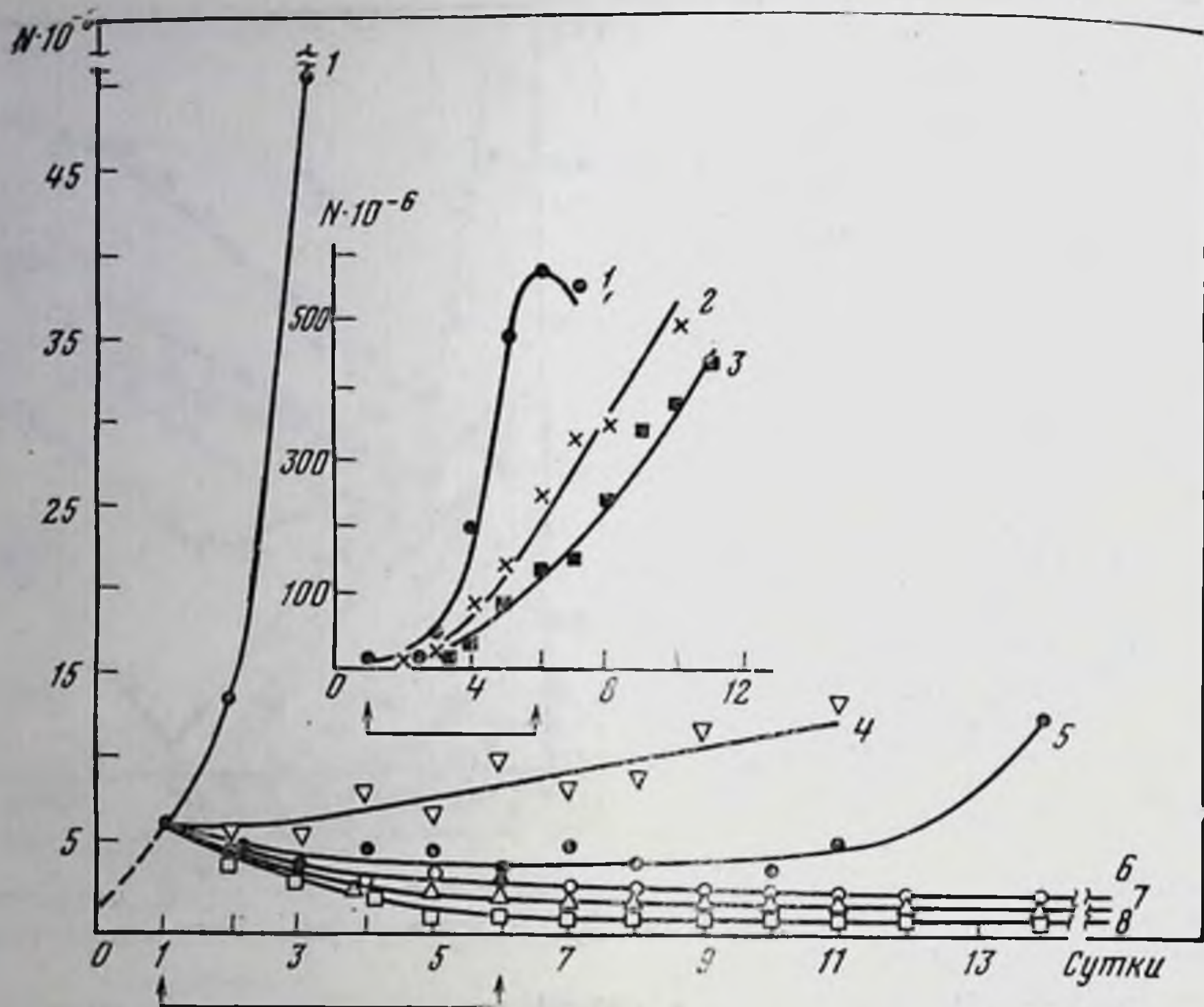


Рис. 18. Торможение роста общего числа опухолевых клеток лейкемии L-1210 под влиянием НАМ

1 — контроль; 2 — ДЭНМ; 3 — ДМНМ; 4 — НММ; 5 — НМБ; 6 — ЦГНМ; 7 — МеЦГНМ; 8 — БХНМ

и леченных НАМ мышей представлены на рис. 18, а количественные параметры, характеризующие эффективность химиотерапии, сведены в табл. 48.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что изучавшиеся препараты можно условно разделить на три группы — малоэффективные (ДЭНМ, ДМНМ), эффективные (НММ, НМБ) и высокоэффективные (ЦГНМ, МеЦГНМ и БХНМ).

Малоэффективные препараты (см. рис. 18) весьма слабо тормозят рост опухоли (значения κ^* колеблются от 0,23 до 0,33), однако все же приводят к некоторому удлинению сроков жизни животных, особенно ДМНМ, которая продлевает жизнь животных на 58% по сравнению с контролем.

Активные препараты, к которым следует отнести НММ и особенно НМБ (рис. 18), почти полностью подавляют рост опухоли (значения κ^* близки к 1) и увеличивают продолжительность жизни мышей более чем в 1,5 и 2 раза соответственно.

Исключительно высокая активность характерна для препаратов, содержащих в своей структуре хлорэтильные группировки. Их введение приводит к регрессии опухоли ($\kappa^* > 1$) и резкому

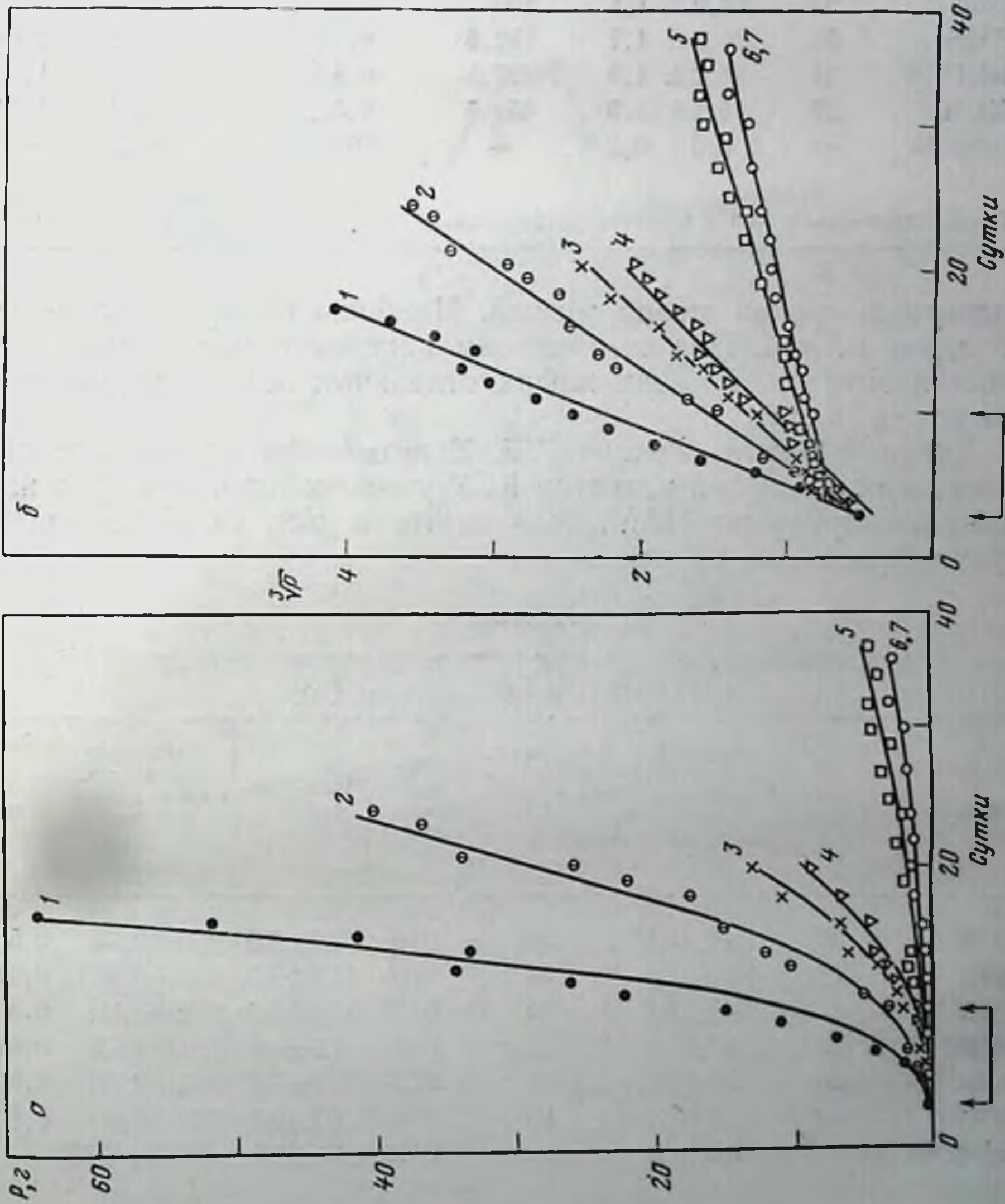


Рис. 19. Кинетические кривые изменения веса опухоли под влиянием НАМ при развитии карциносаркомы Уокера 256 (а); полулогарифмические анаморфозы соответствующих кривых (б)

- 1 — контроль;
- 2 — HMB;
- 3 — ДЭНМ;
- 4 — HMM;
- 5 — BXHM;
- 6 — ЦГНМ;
- 7 — MeЦГНМ

Таблица 48

Количественные показатели противоопухолевой активности НАМ при развитии лейкемии L1210 [9]

Препарат	Доза,* мг/кг	Средняя продолжительность жизни мышей, сут	Увеличение средней продолжительности жизни мышей по сравнению с контролем, %	Максимальное число опухолевых клеток в асцитической жидкости · 10 ⁶	Средняя удельная скорость роста (или регрессии) опухоли (φ)	κ*
ДЭНМ	150	10,0 ± 0,5	25	515 ± 75	0,21	0,28
ДМНМ	80	12,7 ± 0,8	58	463 ± 72	0,18	0,33
НММ	67	13,0 ± 1,7	62	14 ± 3	0,03	0,88
НМБ	80	16,0 ± 1,1	100	13 ± 4	0,02	0,92
ЦГНМ	38	20,2 ± 1,7	152,5	6,4 ± 1,2	-0,02	1,08
МеЦГНМ	24	26,2 ± 1,9	227,5	6,4 ± 1,2	-0,02	1,08
БХНМ	27	44,2 ± 12,9	452,5	6,4 ± 1,2	-0,04	1,14
Контроль	—	8,0 ± 0,2	—	590 ± 63	0,28	—

* Препараты вводили на 1 и 6 сут после перевивки.

удлинению сроков жизни мышей. Наибольшей эффективностью обладает БХНМ. Под ее влиянием наступает почти полная регрессия опухоли, а сроки жизни отдельных животных увеличиваются до 70 сут.

Карциносаркома Уокера 256. Кинетические кривые изменения веса опухоли при развитии КСУ у контрольных крыс и у животных, получавших НАМ, показанные на рис. 19, описываются уравнением корня кубического.

Таблица 49

Количественные характеристики противоопухолевого действия НАМ при развитии КСУ (крысы) [28]

Препарат	Доза, мг/кг/сут	Средняя продолжительность жизни животных, сут	Увеличение средней продолжительности жизни по сравнению с контролем, %	Число излеченных животных*	Максимальный вес опухоли, г	Уравнение кинетических кривых изменения веса опухоли ($\sqrt[3]{P}$)	κ*
НММ	67	20,6 ± 5,1	22	0/20	9,0 ± 0,5	0,09 + 0,10t	0,50
НМБ	80	26,0 ± 2,5	54	0/20	40,0 ± 3,8	0,04 + 0,15t	0,41
ДЭНМ	150	19,2 ± 6,0	14	0/20	13,0 ± 0,9	0,18 + 0,11t	0,44
БХНМ	27	36,7 ± 3,9	118	0/20	4,5 ± 0,4	0,62 + 0,03t	0,81
МеЦГНМ	24	35,5 ± 2,7	111	8/20	3,0 ± 0,3	0,62 + 0,02t	0,83
ЦГНМ	38	31,8 ± 7,8	90	8/20	3,0 ± 0,3	0,62 + 0,02t	0,83
Контроль	—	16,8 ± 2,2	—	0/40	64,4 ± 4,2	-0,23 + 0,25t	—

* Числитель — число излеченных животных, знаменатель — общее число животных.

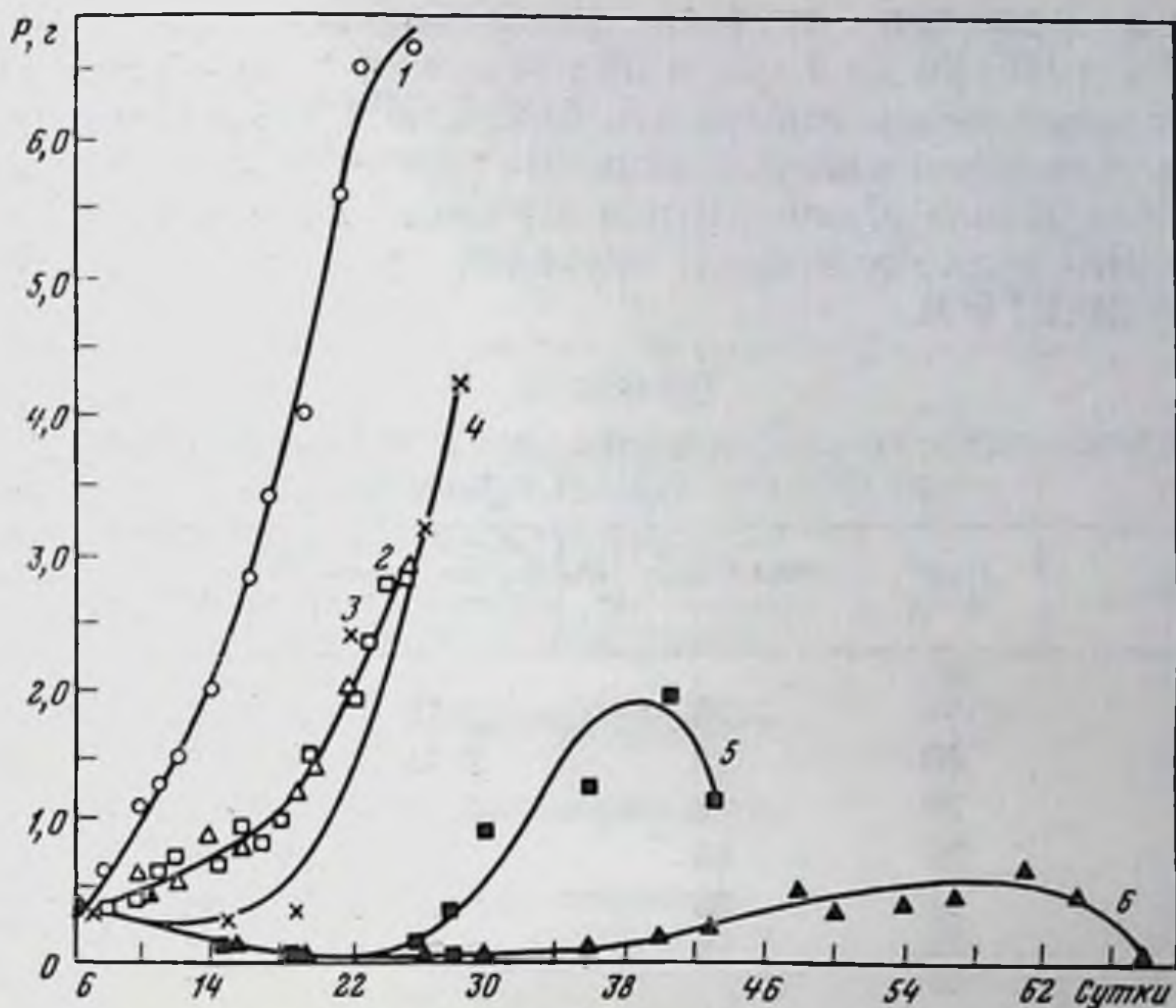


Рис. 20. Влияние НАМ на изменение веса опухоли при развитии карциномы легких Льюис у мышей С₅₇В1

1 — контроль; 2 — НММ; 3 — ДМНМ; 4 — БХНМ; 5 — ЦГНМ; 6 — МеЦГНМ

Численные значения констант уравнений, а также ряд других количественных параметров, характеризующих цитостатическое действие препаратов, сведены в табл. 49.

МеЦГНМ и ЦГНМ обладают весьма высоким противоопухолевым эффектом ($\kappa^* = 0,83$). Под влиянием каждого из препаратов полностью исчезли опухоли у 8 из 20 крыс. У остальных животных опухоли развивались очень медленно, достигая веса не более 3 г (64,4 г — в контроле), что приводило к увеличению сроков их жизни вдвое по сравнению с контролем.

Почти столь же активно тормозит развитие КСУ введение БХНМ ($\kappa^* = 0,81$). Продолжительность жизни животных увеличивается на 118% по сравнению с контролем. Выживших крыс в этой группе нет, но из 20 животных, погибших к 40 сут, у 6 опухолей не обнаружены.

Чувствительность КСУ к другим изученным НАМ слабее. Действие НММ и ДЭНМ выражается в умеренном торможении роста опухолей, максимальный вес которых не превышал 9 и 13 г соответственно. Увеличение же средней продолжительности жизни крыс незначительно. НМБ, напротив, увеличивая сроки жизни животных на 54% по сравнению с контролем, тормозит рост опухолей в меньшей мере, чем НММ и ДЭНМ.

Время удвоения опухоли увеличивается под влиянием МеЦГНМ и ЦГНМ на 7 сут, а при введении БХНМ примерно на 5 сут по сравнению с контролем. НММ, НМБ и ДЭНМ практически не оказывают влияния на время удвоения веса опухоли.

Опухоль легких Льюис. Выше упоминалось о высокой чувствительности ряда солидных опухолей, в частности, опухоли Льюис, к МеЦГНМ.

Таблица 50

Количественные показатели противоопухолевой активности НАМ при развитии опухоли легких Льюис

Препарат	Доза*, мг/кг	Сроки гибели 50% животных, сут	Максимальный вес опухоли, г	Число излеченных животных, %	κ^*
НММ	67	25	2,75	0	0,26
ДМНМ	80	25	2,75	0	0,26
БХНМ	39	28	4,21	0	0,30
ЦГНМ	50	43	2,00	0	0,80
МеЦГНМ	14	68	0,70	30	1,20
Контроль	—	25	6,70	0	—

* Препараты вводили на 7 и 13 сут после перевивки опухоли.

Представленные на рис. 20 кривые и данные табл. 50 свидетельствуют о значительно более высокой активности этого препарата по сравнению с другими нитрозопроизводными в отношении опухоли Льюис.

В отличие от других НАМ, которые в разной мере ингибируют развитие опухолевого процесса — от почти полного подавления опухолевого роста ЦГНМ ($\kappa^* = 0,80$) до незначительного торможения под влиянием НММ и ДМНМ ($\kappa^* = 0,26$), МеЦГНМ вызывает регрессию опухоли ($\kappa^* = 1,20$) и излечение 30% мышей. Следует отметить, что на рис. 24 представлены кривые, полученные в экспериментах с НММ и ДМНМ (данные ИХФ АН СССР), и кривые, приводимые для БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ в работе [104]. Такое сопоставление оказалось возможным благодаря идентичности условий опыта и хорошему совпадению кривых роста опухолей у контрольных животных.

При проверке большой группы нитрозопроизводных (около 45) на опухоли Льюис было обнаружено несколько препаратов, лишь незначительно уступающих в активности МеЦГНМ. Эффективность этих соединений, указанных в табл. 51, оценивалась по моменту достижения опухолью веса 1 г [104].

Рак молочной железы мышей. Анализ клинических и экспериментальных данных свидетельствует о том, что именно на основе экспериментов с быстрорастущими перевиваемыми опухолями были отобраны препараты, эффективные при лечении определенных форм лейкозов, лимфом, хорионэпителиомы, опу-

Таблица 51

Эффективность ряда НАМ в отношении опухоли легких Льюис [104]

Препарат	LD ₁₀ , мг/кг/сут	Задержка во времени достижения опухоли веса 1 г при введении LD ₁₀ препарата
MeЦГНМ	36	54
Этиловый эфир <i>транс</i> -4-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-циклогексанкарбоксильной кислоты	29	46
1,1'-(<i>транс</i> -1,4-циклогексилен)-бис-3-(2-хлорэтил)-3-нитрозомочевина	165	39
1-(2-фторэтил)-3-(4-метилциклогексил)-1-нитрозомочевина	44	34
3-(4,4-диметилциклогексил)-1-2-фторэтил)-1-нитрозомочевина	52	34
4-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]- <i>цис</i> -циклогексанкарбоксильная кислота	30	32
4-[3-(2-хлорэтил)-3-нитроуреидо]- <i>транс</i> -циклогексанкарбоксильная кислота	30	32
БХНМ	41	12
ЦГНМ	38	9

холей Беркитта, Вилмса и некоторых других опухолей человека, отличающихся высокой пролиферативной активностью.

По-видимому, для отбора химиотерапевтических агентов, эффективных для солидных опухолей, целесообразно использовать медленно растущие опухоли животных, более адекватно воспроизводящие в условиях эксперимента процессы, протекающие в организме человека при злокачественном росте [114, 180—182]. При этом особый интерес представляют опухоли, состоящие из аутохтонных клеток, в частности, спонтанные опухоли молочных желез мышей высокоракковых линий. Замедленный рост таких опухолей по сравнению с пассируемыми обусловлен их низкой митотической активностью и длительным временем генерации опухолевых клеток. По данным разных авторов, спонтанная опухоль молочных желез мышей линии СЗН имеет индекс метки, колеблющийся в пределах 2—25% [114, 183, 184], время удвоения массы опухоли — 5—8,5 сут [183, 185—187] и время генерации — 1—3,5 сут [114, 181—184], что сопоставимо со временем генерации клеток некоторых солидных опухолей человека, например, рака желудка — 3,4—4,6 сут [181].

Подобные медленно растущие солидные опухоли, ввиду сходства по цитокинетическим характеристикам с опухолями человека, представляются ценной экспериментальной моделью для отбора противоопухолевых препаратов с большей избирательностью действия. Известно, что недостаточная эффективность химиотерапии в клинике в значительной мере объясняется тем,

что существующие препараты поражают быстропролиферирующие нормальные клетки, главным образом, костного мозга и эпителия тонкого кишечника, раньше, чем может быть достигнут стойкий противоопухолевый эффект. Отсутствие избирательности действия не может быть выявлено в ходе предклинических испытаний, если они проводятся на опухолях, время генерации которых сопоставимо со временем генерации нормальных клеток, как это имеет место, например, при раке Эрлиха (время генерации опухолевых клеток составляет 18—20 ч, время генерации клеток эпителия тонкого кишечника мыши — 10—19 ч [181]).

Однако проведение химиотерапевтических экспериментов со спонтанными и индуцированными опухолями весьма затруднительно ввиду недостаточного количества материала и плохой воспроизводимости. В связи с этим возникает вопрос о возможности использования вместо аутохтонных опухолей их ранних генераций. Установлено, что первые генерации спонтанных опухолей молочных желез мышей сохраняют в ряде случаев сходство с исходной опухолью по многим биологическим морфологическим, пролиферативным и другим свойствам [114, 185, 186, 188—192]. По поводу изменения чувствительности спонтанной опухоли к химиотерапии при ее последующей перевивке имеются весьма разноречивые данные. Некоторые из них свидетельствуют об определенной эффективности таких препаратов, как циклофосфан, натулан, тиогуанин при спонтанных опухолях и их первых генерациях [185, 186]. Другие указывают на резистентность опухолей молочных желез к стандартной химиотерапии [114, 189—191].

При углубленном изучении НАМ проанализировано также их влияние на различные генерации спонтанных опухолей молочных желез мышей линий А и СЗН [37, 114, 134].

Кинетические кривые изменения веса опухолей молочных желез различных генераций у интактных и леченных мышей линий А и СЗН, представленные на рис. 21—23, могут быть описаны единой закономерностью — уравнением кубического корня [37].

Кинетика роста опухолей прослеживалась до начала гибели животных. К этому периоду наблюдения относятся значения коэффициентов активности κ^* , приводимые ниже.

Для сопоставления темпов развития опухолей разных генераций (без воздействия препаратов) использован показатель

$$\kappa = \frac{\bar{\varphi}'}{\bar{\varphi}''},$$

где

$$\bar{\varphi}' = \frac{\ln \bar{P}'_2 - \ln \bar{P}'_1}{t'_2 - t'_1} > \bar{\varphi}'' = \frac{\ln \bar{P}''_2 - \ln \bar{P}''_1}{t''_2 - t''_1},$$

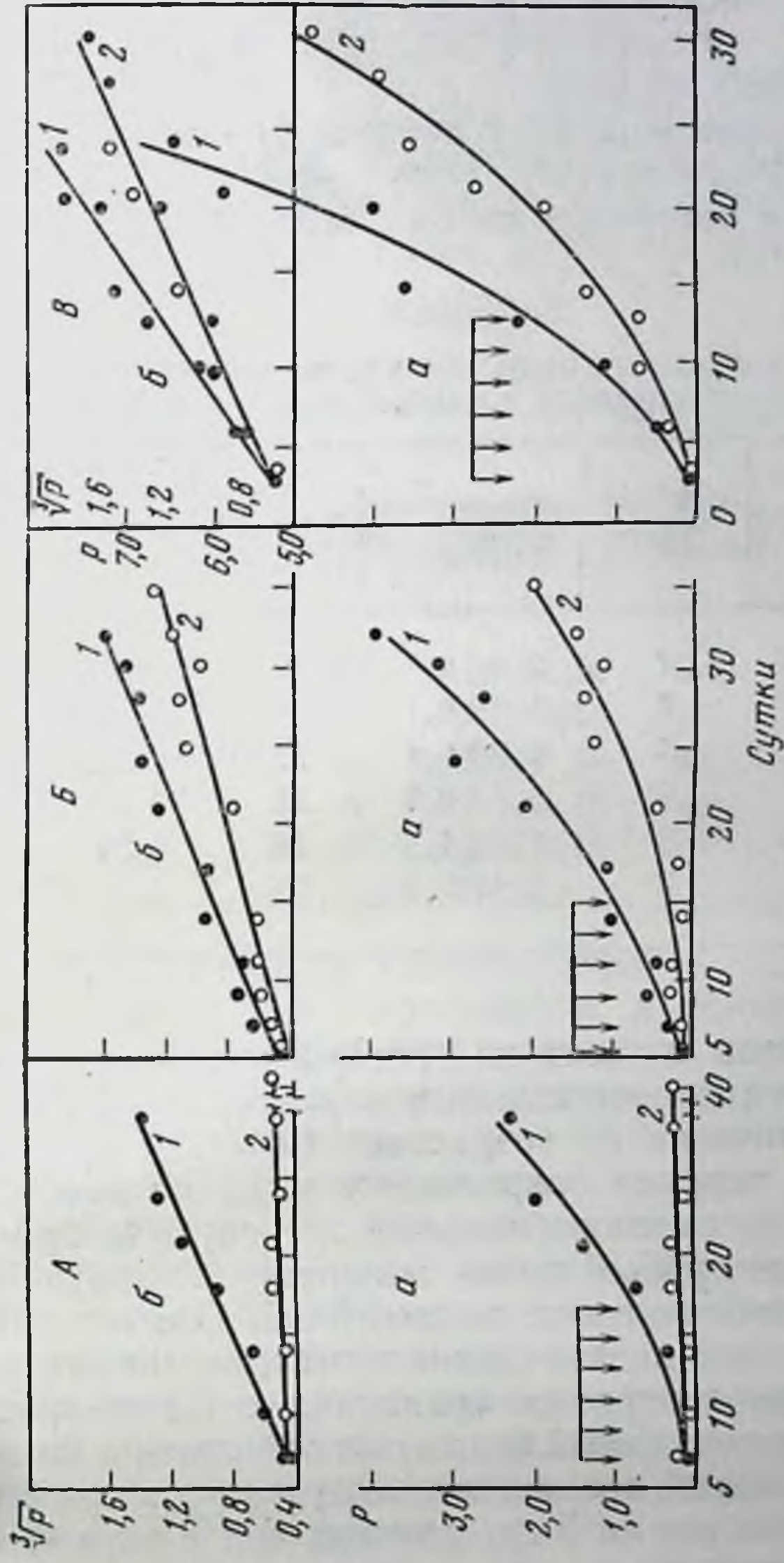


Рис. 21. Влияние НММ на развитие 1-й (А), 41-й (Б) и 48-й (В) генерации опухолей молочных желез мышей линии А

Представлены кинетические кривые изменения веса 1 — контроль; 2 — НММ (20 мг/кг шестикратно). Время введения парага показано стрелками

опухолей (а) и их линейные анаморфозы (б); парага показано стрелками

причем \bar{P}_1' и \bar{P}_2'' — усредненный вес опухоли в сравниваемых группах мышей к моменту окончания латентного периода (t_1' и t_2''); \bar{P}_2' и \bar{P}_2'' — конечный усредненный вес опухоли к моменту времени t_2' и t_2'' , который соответствует началу гибели животных в сравниваемых группах.

На рис. 21 приведены кинетические кривые роста опухолей 1-й, 41-й и 48-й генераций рака молочных желез мышей линии А. Из этого рисунка и данных табл. 52 видно, что на про-

Таблица 52

Влияние НММ на количественные характеристики развития различных генераций спонтанных опухолей молочных желез мышей линии А [37]

Генерация опухоли	Группа	Латентный период, сут	Максимальный вес опухоли, г	Начало гибели животных, сут	Уравнение кривых изменения веса опухолей ($\bar{V}\bar{P}$)	κ^*
1-я	Контроль	7	$2,4 \pm 0,6$	29	$0,19 \pm 0,040t$	—
1-я	НММ	7	$0,3 \pm 0,1$	40	$0,43 \pm 0,005t$	0,8
29 и 41-я	Контроль	5	$4,0 \pm 0,8$	32	$0,47 \pm 0,035t$	—
29 и 41-я	НММ	5	$2,0 \pm 0,6$	35	$0,22 \pm 0,030t$	0,2
48-я	Контроль	3	$7,0 \pm 1,2$	24	$0,38 \pm 0,060t$	—
48-я	НММ	3	$5,0 \pm 0,9$	31	$0,50 \pm 0,040t$	0,3

тяжении 41 пассажа опухоли не претерпевают каких-либо изменений, касающихся количественных характеристик их развития: темп роста практически не возрастает ($\kappa=1,3$), продолжительность латентного периода сокращается лишь на двое суток, несколько увеличивается максимальный вес опухоли при незначительном удлинении сроков жизни животных. Развитие опухолей 29 и 41-й генераций полностью идентично. Однако уже в 48-й генерации происходит значительное изменение параметров опухолевого роста: почти втрое по сравнению с 1-й генерацией увеличивается темп роста ($\kappa=2,8$), латентный период сокращается на 4 сут, максимальный вес опухоли возрастает в три раза, а гибель мышей начинается на 5 сут раньше, чем у животных с опухолями 1-й генерации.

Данные морфологического анализа изменений, происходящих в процессе пассирования опухолей мышей линии А, следующие. Исходная опухоль — спонтанная аденокарцинома молочной железы с относительно низкой степенью дифференцировки. Уже в 1-й генерации опухоль гистологически резко отличается от исходной, железистые структуры полностью отсутствуют, опухоль представляет собой сплошной эпителиальный пласт. При последующем пассировании, вплоть до 48-й генерации, нарастают признаки дедифференцировки опухоли.

Влияние НММ на развитие 1, 41 и 48-й генераций опухолей показано на рис. 21 и в табл. 52. НММ вводили внутривенно, шестикратно, через день, по 20 мг/кг/сут.

Видно, что опухоль 1-й генерации весьма чувствительна к препарату (рис. 21, А). Под его влиянием рост опухоли замедляется почти в 5 раз ($\kappa=0,8$). Однако в отношении опухолей 41 и 48 пассажей активность НММ резко снижается (рис. 21, Б, В). Рост опухоли тормозится лишь в 1,3—1,4 раза ($\kappa^*=0,2—0,3$).

Таблица 53

Влияние НАМ на количественные характеристики развития 1 и 21-й генераций спонтанных опухолей молочных желез мышей линии СЗН [37]

Генерация опухоли	Группа	Латентный период, сут	Максимальный вес опухоли, г	Начало гибели животных, сут	Уравнения кривых изменения веса опухолей ($\sqrt[3]{P}$)	κ^*
1-я	Контроль	12	4,25±1,40	48	0,19±0,03t	—
1-я	НММ	12	1,00±0,45	52	0,38±0,01t	0,4
1-я	НЭМ или НПМ	12	1,60±0,80	48	0,34±0,02t	0,2
21-я	Контроль	8	4,6 ±1,20	31	0,18±0,05t	—
21-я	НММ	8	2,4 ±0,82	31	0,07±0,04t	0,2

При морфологическом исследовании не удается установить причины снижения чувствительности к препарату. Обращает внимание снижение количества митозов в опухолях 1-й генерации под влиянием НММ, слипание хромосом, гибель клеток, начинающаяся с пикноза ядер.

Кинетика роста опухолей молочных желез 1 и 21-й генераций у мышей линии СЗН, подвергавшихся воздействию НММ и интактных, представлена на рис. 22. Приведенные кривые и представленные в табл. 53 данные свидетельствуют о заметном озлокачествлении опухолей: в 21 генерации опухоль растет в 1,6 раза быстрее, чем в 1-м пассаже, латентный период сокращается на 4 сут, гибель животных начинается на 17 сут раньше при достижении опухолью практически такого же максимального веса, как и в 1-й генерации.

Иная картина наблюдается при морфологическом изучении. Исходная опухоль — аденокарцинома молочной железы с отчетливо выраженными железистыми структурами. Опухоли 1 и 21-го пассажей сохраняют достаточно высокий уровень дифференцировки, способность к образованию железистых структур.

В то же время, несмотря на гистологическое сходство опухолей обеих генераций, чувствительность к НММ у них различная. Так, введение препарата мышам с опухолью 1-й генерации тормозит ее развитие почти вдвое ($\kappa^*=0,4$), в то время как рост опухолей 21-й генерации замедляется незначительно ($\kappa^*=0,2$) (см. рис. 22, табл. 53).

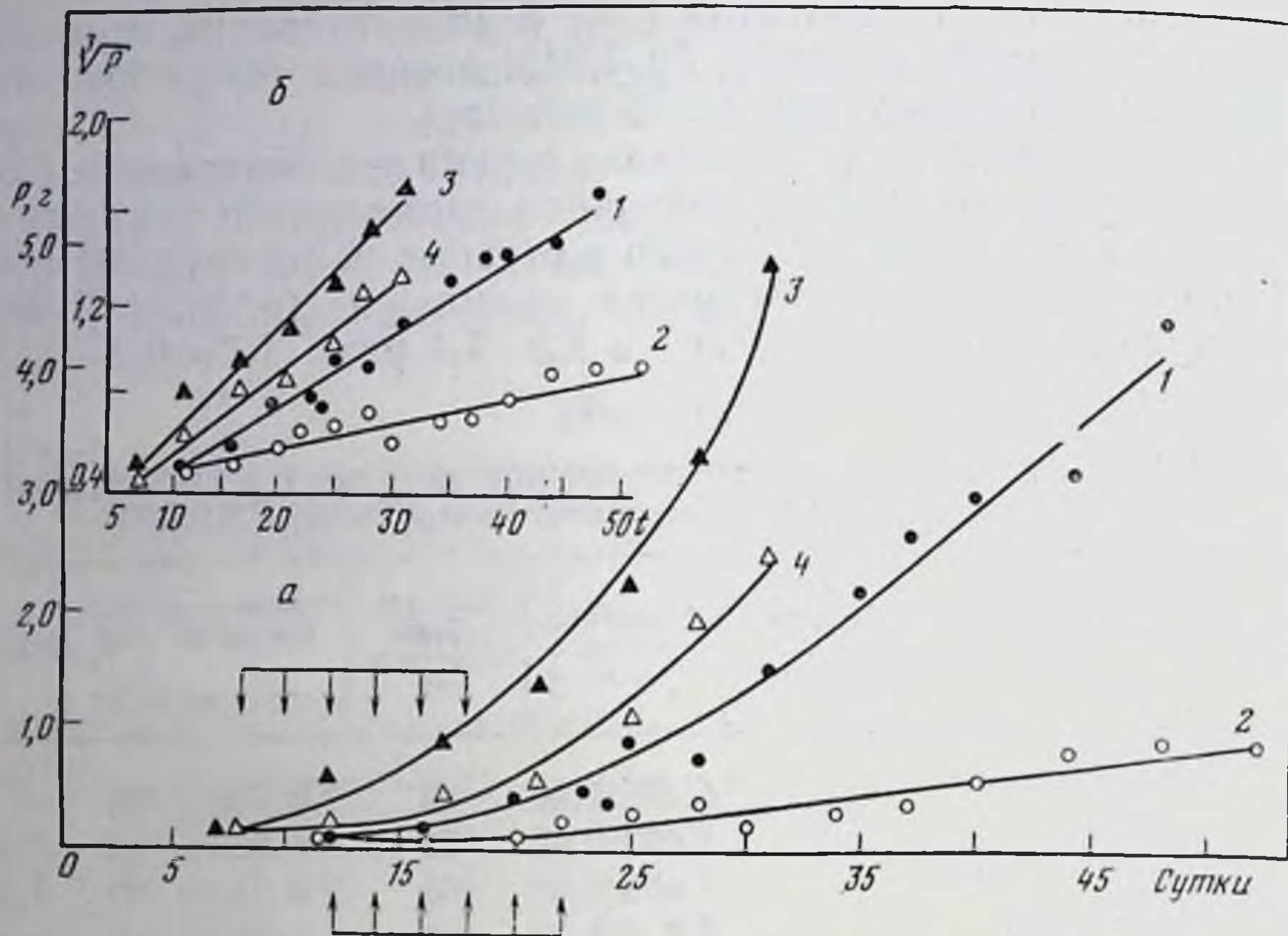


Рис. 22. Торможение роста 1-й и 21-й генераций опухолей молочных желез мышей линии СЗН под влиянием НММ (а); линейные анаморфозы соответствующих кривых (б)

- 1 — 1-я генерация (контроль);
- 2 — 1-я генерация (НММ—20 мг/кг шестикратно с 12 по 22 сут);
- 3 — 21-я генерация (контроль);
- 4 — 21-я генерация (НММ—20 мг/кг шестикратно с 8 по 18 сут)

На морфологическом уровне можно отметить, что в опухолях 1-го пассажа, более чувствительных к НММ, сильнее подавлена митотическая активность, наблюдается большее количество клеток с пикнотическими ядрами, что, вероятно, связано с летальным действием препарата на клетки.

НЭМ и НПМ, вводимые внутривентриально шестикратно, через 1 сут по 100 мг/кг/сут слабо тормозят развитие опухолей 1-й генерации, замедляя их рост в 1,3 раза по сравнению с контролем (рис. 23, табл. 53).

Определенное значение имеет сравнение активности простых производных НАМ с другими препаратами этой группы. Если в качестве критерия эффективности принять суммарный показатель задержки во времени роста опухоли при достижении ею веса 100, 500 и 1000 мг и сопоставить полученные результаты с имеющимися литературными данными [134], то оказывается, что наибольшее замедление роста — 44 сут — может быть достигнуто при применении НММ. МеЦГНМ задерживает рост опухоли на 38 сут, ЦГНМ — на 21 сут, БХНМ, НЭМ, НПМ — на 9 сут.

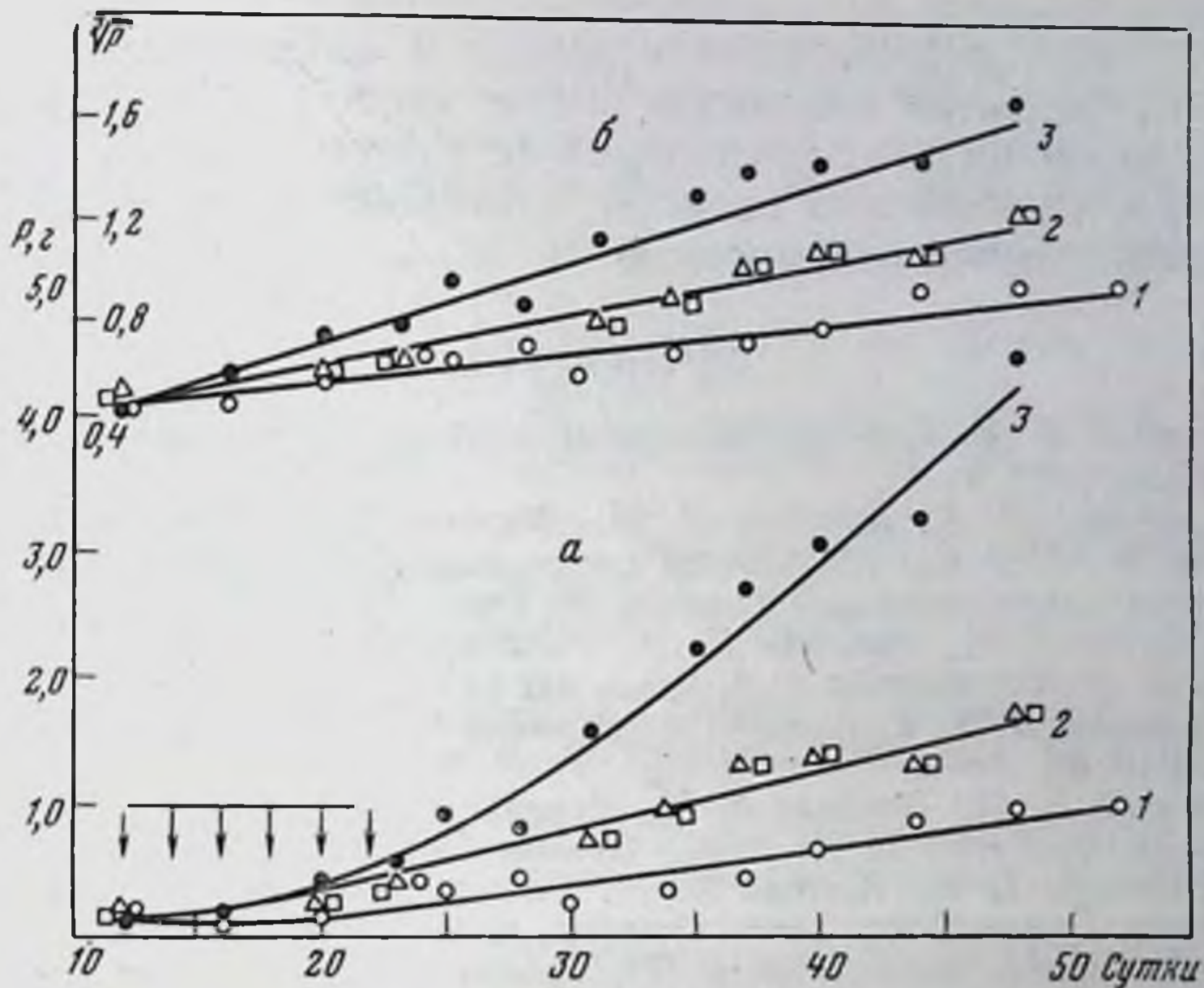


Рис. 23. Влияние НАМ на развитие 1-й генерации опухолей молочных желез мышей линии СЗН

Представлены кинетические кривые изменения веса опухолей (а) и их линейные анаморфозы (б); 1 — НММ; 2 — НЭМ, НПМ; 3 — контроль

Таким образом, при раке молочной железы мышей линии СЗН НММ является наиболее активным препаратом из изученных производных нитрозомочевины.

Следует отметить результат, полученный в опытах с мышами линии СЗН, поскольку именно эта опухоль ввиду ее большого морфологического сходства со спонтанной, медленного роста и резистентности к обычным видам химиотерапии представляется экспериментальной моделью, наиболее близкой к злокачественным новообразованиям человека.

Поиски новых активных нитрозопроизводных продолжают весьма интенсивно [193—199].

Основное внимание обращено на разработку водорастворимых НАМ, обладающих большей избирательностью действия, не угнетающих кроветворение.

Судя по последним сообщениям, значительный интерес вызывают новые НАМ, предложенные в США [1-(2-хлорэтил)-3-(2,6-диокси-3-пипердил)-1-нитрозомочевина], Японии (монодихлорид N'-[(4-амино-2-метил-5-пиримидинил)метил]-N-(2-хлорэтил)-N-нитрозомочевина) и Франции (серия модифицированных сахарами аналогов НАМ) [200].

По-видимому, одним из главных направлений разработки новых НАМ станет синтез веществ, имеющих в своей структуре

аминокислоты, оксидциклогексиламины и аминсахара [199]. Несомненно, большое внимание будет уделено изучению связей между строением этих соединений (с учетом стерических факторов, физико-химических свойств, электронных эффектов) и их противоопухолевой активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эмануэль Н. М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М., «Наука», 1977.
2. Островская Л. А., Дронова Л. М., Вермель Е. М., Кругляк С. А., Эмануэль Н. М. В кн.: Материалы конференции по вопросам лекарственной терапии в онкологической клинике. Л., 1964, с. 119.
3. Эмануэль Н. М., Вермель Е. М., Рапопорт И. А., Кругляк С. А., Дронова Л. М., Островская Л. А. Докл. АН СССР, 1965, 163, 483.
4. Островская Л. А., Кругляк С. А., Вермель Е. М. Вопросы онкологии, 1966, 12, № 10, 83.
5. Эмануэль Н. М., Вермель Е. М., Кругляк С. А., Дронова Л. М., Островская Л. А., Белич Е. И. В кн.: Супермутагены. М., «Наука», 1966, с. 81.
6. Ostrouskaya L. A., Korman N. P., Vermel E. M., Evseenko L. S. Abstrs X Intern. Cancer Cong. Texas, Houston, 1970, p. 410.
7. Ostrouskaya L. A., Korman N. P., Vermel E. M. In: Advances in Antimicrobiol. and Antineoplastic Chemotherapy. Prague, Avicenum, Czechoslovak Medical Press, 1972, p. 577.
8. Эмануэль Н. М., Островская Л. А., Корман Н. П., Евсеенко Л. С., Вермель Е. М. В кн.: Актуальные вопросы современной онкологии, вып. 3. Изд-во Московск. ун-та, 1973, с. 239.
9. Островская Л. А., Соколова И. С., Горбачева Л. Б. Вопросы онкологии, 1977, № 3.
10. Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A. J. Med. Chem., 1963, 6, 669.
11. Schabel F. M., Johnston T. R., McCaleb G. S., Montgomery J. A., Laster W. R., Skipper H. E. Cancer Res., 1963, pt 1, 23, 725.
12. Montgomery J. A. Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 651.
13. Schepartz S. A. Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 647.
14. Johnston T. P., Opliger P. S. J. Med. Chem., 1967, 10, 675.
15. Suguira K. Cancer. Res., 1967, pt 2, 27, 179.
- 15а. Голдин А. [Goldin A.]. Материалы советско-американского совещания по химиотерапии опухолей. М., 1973.
16. Кукушкина Г. В., Соколова Э. С., Островская Л. А., Горбачева Л. Б. Известия АН СССР, серия биол., 1972, № 5, 731.
17. Соколова И. С., Островская Л. А., Бунто Т. В., Горбачева Л. Б. Вопросы онкологии, 1976, 22, № 10, 61.
18. Островская Л. А., Франкфурт О. С. Вопросы онкологии, 1977, 23, № 2.
19. Goldin A., Sandberg J., Henderson E., Newman Y., Frei E. III, Holand J. F. Cancer Chemotherapy Repts, 1971, pt 1, 55, 309.
20. Goldin A., Venditty J. M., Mead J. A. R., Glynn J. P. Cancer Chemotherapy Repts, 1964, 48, 57.
21. Skipper H. E., Schabel F. M., Jr., Trader M. W., Thompson R. G. Cancer Res., 1961, 21, 1154.
22. Tyrer D. D., Kline I., Gang M., Goldin A., Venditti M. Cancer Chemotherapy Repts, 1969, pt 1, 53, 229.
23. Johnson R. K., Goldin A. Cancer Treatment Revs, 1975, 2, 1.
24. Goldin A. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 189.
25. Goldin A. In: Chemotherapy of cancer dissemination and metastases. S. Garattini, G. Franchi (Eds). New York, Raven Press, 1973, p. 341.
26. Goldin A. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1971, 186, 423.
27. Ерохин В. Н., Коновалова Н. П., Островская Л. А. Известия АН СССР, серия биол., 1975, № 5, 747.

28. *Островская Л. А., Серебряный А. М., Рапопорт И. А.* Известия АН СССР, серия биол., 1977, № 2.
29. *Горьков В. А., Островская Л. А.* Известия АН СССР, серия биол., 1977, № 3.
30. *Порошенко Г. Г., Горькова С. Н., Евсеенко Л. С.* Докл. АН СССР, 1968, 182, 730.
31. *Эмануэль Н. М., Дронова Л. М., Ерохин В. Н., Белич Е. И.* Известия АН СССР, серия биол., 1968, № 2, 181.
32. *Emanuel N. M., Vermel E. M., Ostrouskaya L. A., Korman N. P.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 135.
33. *Островская Л. А., Кухаренко Ю. А., Кругляк С. А., Вермель Е. М.* В сб.: Труды I Всесоюзной конференции по химиотерапии злокачественных опухолей. Рига, 1968, с. 224.
34. *Эмануэль Н. М., Вермель Е. М., Островская Л. А., Кухаренко Ю. А.* Вопросы онкологии, 1970, 16, № 3, 46.
35. *Rosso R., Donelli M. G., Reyers-Degli I., Garattini S.* Europ. J. Cancer, 1967, 3, 125.
36. *Donelli M. G., Rosso R., Garattini S.* Intern. J. Cancer, 1967, 2, 421.
37. *Островская Л. А., Вермель Е. М.* Вопросы онкологии, 1975, 21, № 10, 77.
38. *Эмануэль Н. М., Островская Л. А.* В кн.: Материалы советско-итальянского симпозиума по противоопухолевым антибиотикам. М., 1977 (в печати).
39. *Ostrouskaya L. A.* Abstracts XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, p. 746.
40. *Ostrouskaya L. A., Emanuel N. M.* Abstracts 9th Intern. Congr. Chemotherapy. London, 1975, C-62.
41. *Emanuel N. M., Ostrouskaya L. A., Dederer L. Yu., Kukushkina G. V., Gorbacheva L. B.* Proc. 8th Intern. Congr. Chemotherapy, Athens, 1975, 3, 186.
42. *Садовникова И. П., Ерохин В. Н., Кругляк С. А., Вермель Е. М., Эмануэль Н. М.* Вопросы онкологии, 1965, № 11, 63.
43. *Rosso R., Palma V.* Rev. franc. études. clin. et biol., 1966, 11, 404.
44. *Schabel F. M., Jr.* In: Proc. Chemotherapy Conf. Chemotherapy Solid Tumors — Appraisal 5-Fluorouracil and BCNU. S. K. Carter (Ed.). Bethesda, Md., NCI, 1970, p. 159.
45. *Carter S. K., Schabel F. M., Jr., Broder L. E.* In: Advances in Cancer Research. G. Klein, S. Wienhouse, A. Haddow (Eds.). New York, Acad. Press, 1972, 6, p. 273.
46. *Skipper H. E., Schabel F. M., Wilcox W. S.* Cancer Chemotherapy Repts, 1964, 35, 1.
47. *Skipper H. E., Schabel F. M., Jr., Wilcox W. S.* Cancer-Chemotherapy Repts, 1965, 45, 5.
48. *Skipper H. E., Schabel F. M., Jr., Wilcox W. S.* Cancer Chemotherapy Repts, 1965, 47, 41.
49. *Skipper H. E.* Cancer Res., 1965, 25, 1544.
50. *Schabel F. M., Jr., Skipper H. E., Laster W. R., Jr.* Cancer Chemotherapy Repts, 1966, 50, 55.
51. *Carter S. K., Newman I. W.* Cancer Chemotherapy Repts, 1968, pt 3, 1, 115.
52. *Kline I., Woodman R. J., Tyrer D. D., Gang M., Venditty J. M., Goldin A.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1969, 10, 47.
53. *Hofer K. G.* Cancer Chemotherapy Repts, 1969, 53, 273.
54. *Skipper H. E., Schabel F. M., Jr., Mellett L. B., Montgomery J. A., Wilkoff L. J., Lloyd H. H., Brockman R. W.* Cancer Chemotherapy Repts, 1970, 54, 431.
55. *Kline I., Woodman R. J., Gang M.* Cancer Chemotherapy Repts, 1971, 55, 9.
56. *Cohen M. H., Carbone P. P.* J. Nat. Cancer Inst., 1972, 48, 921.
57. *Cohen M. H.* J. Nat. Cancer Inst., 1972, 48, 927.
58. *De Vita V. T., Bray D. A., Bostick F., Bagley C. M.* Cell Tissue Kinet., 1972, 5, 459.

59. Straus M. I., Choi S. C., Goldin A. J. *Nat. Cancer Inst.*, 1973, 50, 475.
60. Woodman R. I., Sirica A. E., Gang M. *Chemotherapy*, 1973, 18, 169.
61. Cohen M. H. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1973, 51, 1323.
62. Rosenoff S. H., Bostick F., Young R. C. *Biochem. Pharmacol.*, 1974, 23, 3097.
63. Vadlamudi S., Waravdekar V. S., Choudry J. N., Goldin A. *Cancer Res.*, 1968, 28, 1242.
64. Bonmassar E., Vadlamudi S., Vierra W., Goldin A. *Arch. ital. patol. clin. tumori*, 1969, 12, 163.
65. Schabel F. M., Jr., Skipper H. E., Trader M. W., Wilcox W. S. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1965, 48, 17.
66. Schabel F. M., Jr. In: *Proc. 5th Intern. Congr. Chemotherapy. Sympos. B-10 Cancer Chemotherapy. Dose Schedules and Combinations.* T. C. Hall, K. Karrer (Eds). Vienna, Verl. Wiener Med. Acad., 1968, p. 65.
67. Venditti J. M., Goldin A. In: *Advances Chemotherapy* A. Goldin, F. Hawking (Eds). New York, Acad. Press, 1964, 1, p. 379.
68. Goldin A. In: *Treatment of Burkitt's Tumour.* J. Burchenal, D. P. Burkitt (Eds). U. I. C. C. Monograph Series, v. 8, Springer — Verlag, 1967, p. 109.
69. Kline I., Gang M., Tyrer D. D., Venditty J. M., Artis E. W., Goldin A. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1971, pt 2, 2, 65.
70. Kline I., Gang M., Tyrer D. D., Venditti G. M., Artis E. W., Goldin A. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt. 2, 3, 1.
71. Venditti J. M., Kline I., Goldin A. *Cancer Res. (Suppl.)*, 1964, 24, 827.
72. Venditti J. M., Kline I., Tyrer D. D., Goldin A. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1965, 48, 35.
73. Chirigos M. A., Humphreys S. R., Goldin A. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1965, 49, 15.
74. Chirigos M. A., Humphreys S. R. *Cancer Res.*, 1966, 26, 1673.
75. Kline I., Venditti J. M., Tyrer D. D., Mantel N., Goldin A. *Cancer Res.*, 1966, 26, 1930.
76. Tyrer D. D., Kline I., Venditty J. *Cancer Res.*, 1967, 27, 873.
77. Johnston T. P., McCaleb G. S., Opliger P. S., Montgomery J. A. *J. Med. Chem.*, 1966, 9, 892.
78. Johnston T. P., McCaleb G. S., Opliger P. S., Laster W. R., Montgomery G. A. *J. Med. Chem.*, 1971, 14, 600.
79. Thomas L. B. *Cancer Res.*, 1965, 25, 1555.
80. Wheeler G. P., Bowdon B. J., Grimsley Y. A., Lloyd H. H. *Cancer Res.*, 1974, 34, 194.
81. Burchenal L. H., Benvenisti D., Dollinger M. *Recent Results Cancer Res.*, 1970, 33, 102.
82. Pearson J. W., Pearson G. R., Gibson W. T., Chermann J. C., Chirigos M. A. *Cancer Res.*, 1972, 32, 904.
83. Pearson J. W., Chaparas S. D., Chirigos M. A. *Cancer Res.*, 1973, 33, 1845.
84. Chirigos M. A., Pearson J. W., Pryor J. *Cancer Res.*, 1973, 33, 2615.
85. Chirigos M. A., Pearson J. W. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1973, 51, 1367.
86. Perk K., Chirigos M. A., Fuhrman F. J. *Nat. Cancer Inst.*, 1975, 54, 253.
87. Bruce W. R., Valeriote F. A., Meeker B. E. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1967, 39, 257.
88. Valeriote F. A., Tolen S. J. *Cancer Res.*, 1972, 32, 470
89. Medoff G., Valeriote F. A., Lyned R. G., Lynch R. G., Schlessinger D., Kobayashi G. S. *Cancer Res.*, 1974, 34, 974.
90. Medoff G., Schlessinger D., Kobayashi G. S. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1973, 50, 1047.
91. Wodinsky I., Kensler C. J. In: *Proc. IX Intern. Cancer Congr. Tokyo, 1966.* Intern. Union Against Cancer, 1967, p. 380.
92. Gal F., Somfal Z. R., Szentirmay Z. In: *Advances in Antimicrobial and Antineoplastic Chemotherapy.—Proc. 7 th Intern. Congr. Chemotherapy.* Prague, 1971. Baltimore, Univ. Park Press, 1972, 2, p. 271.
93. Pearson J. W., Chaparas S. D., Torgersen J. A., Perk K., Chirigos M. A., Sher N. A. *Cancer Res.*, 1974, 34, 355.

94. Zeller W. J., Ivankovic C., Schmähl D. *Cancer Res.*, 1975, 35, 1168.
95. Skipper H. E., Schabel F. M., Jr., Trader M. W., Laster W. R., Jr., Simpson-Herren L., Lloyd H. H. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, 56, 273.
96. Straus M. J., Choi S. C., Goldin A. *Cancer Res.*, 1973, 33, 1724.
97. Frei E. III., Schabel F. M., Jr., Goldin A. *Cancer Res.*, 1974, 34, 184.
98. Schabel F. M., Jr., Skipper H. E., Trader M. W., Laster W. R. Jr., Cheeks J. B. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1974, pt 2, 4, 53.
99. Lin H., Milley G., Bruce W. R. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1969, 10, 51.
100. Sugiura K. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1965, 6, 62.
101. Tarnowski G. S., Schmid F. A., Cappuccino J. G. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1968, pt 2, 1, 403.
102. Wharam M. D., Phillips T. L., Kane L., Utley Y. E. *Radiology*, 1973, 109, 451.
103. Mayo J. G., Laster W. R., Andrews C. M., Schabel F. M., Jr. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 1, 56, 183.
104. Mayo J. G. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, pt 2, 3, 325.
105. Wodinsky I., Kensler C. I. In: *Advances in Antimicrobial and Antineoplastic Chemotherapy.—Proc. 7th Intern. Congr. Chemotherapy. Prague, 1971.* Baltimore, Univ. Park Press, 1972, v. 2, p. 427.
106. Finklestein Y. Z., Arima E., Byfield P. E., Byfield J. E., Fonkalsrud E. W. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, pt 1, 57, 405.
107. Lin H., Bruce N. R. *Serg. Haematol.*, 1972, 5, 89.
108. Ausman J. I., Shapiro W. R., Slivaka J. J. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1968, 9, 4.
109. Shapiro W. R., Ausman G. I., Rall D. P. *Cancer Res.*, 1970, 30, 2401.
110. Shapiro W. R. *Neurology*, 1970, 20, 390.
111. Shapiro W. R., Ausman J. I. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1969, 10, 79.
112. Green S., Bodansky O. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1967, 8, 23.
113. Ikawa Y., Brescia T., Jr., Johnson R. K., Goldin A. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, 57, 149.
114. Sandberg J., Goldin A. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1971, 55, 233.
115. Abraham D., Carbone P. P., Venditti J. M. *Biochem. Pharmacol.*, 1967, 16, 665.
116. Humphreys S. R., Sato G., Goldin A. *Europ. J. Cancer*, 1965, 1, 125.
117. Levin V. A., Kabra P. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1974, pt 1, 58, 787.
118. Barker M., Hoshino T., Gurcay O., Wilson Ch. B., Neilsen S. L., Downie R., Eliason J. *Cancer Res.*, 1973, 33, 976.
119. Tel E., Barker M., Levin V. A., Wilson Ch. B. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1974, 58, 627.
120. Corbett T. H., Griswold D. P., Jr., Roberts B. J., Peckman J., Schabel F. M. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1975, p. 2, 5, 169.
121. Hill R. P., Sianley J. A. *Cancer Res.*, 1975, 35, 1147.
122. Broder L. E., Carter S. K. CCNU, Clinical Brochure, Bethesda, Md., NCI, 1971.
123. Jaster W. R., Jr., Mayo J. G., Andrews C. M., Schabel F. M., Jr. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1971, 2, 7.
124. Schabel F. M., Jr. In: *The proliferation and spread of neoplastic cells.* Baltimore, Williams and Wilkins Co, 1968, p. 379.
125. Neil G. L., Scheidt L. G., Kuentzel S. L., Moxley T. E. *Chemotherapy*, 1973, 18, 27.
126. Schabel F. M., Jr. *Biochem. Pharmacol.*, 1974, 23 (suppl. 2), 163.
127. Schabel F. M., Jr. In: *Pharmacologic basis of cancer chemotherapy.* Baltimore, Williams and Wilkins Co, 1975, p. 595.
128. Valeriote F. A., Bruce W. R., Meeker B. E. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 1968, 40, 935.
129. Hrushesky W. J., Murphy G. P. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1974, 52, 1117.
130. Levin V. A., Shapiro W. R., Clancy T. P., Oliverio V. T. *Cancer Res.*, 1970, 30, 2451.

131. Shapiro W. R. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1971, 46, 359.
132. Shapiro W. R. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, 56, 457.
133. Schwartz J., Kott E., Elizan T. S. *Mt. Sinai J. Med.*, 1974, 41, 205.
134. Comis R. L., Broder L. E., Carter S. K. MeCCNU Clinical Brochure, Bethesda, Md., NCI, 1972.
135. Montgomery J. A., Mayo I. G., Hansch C. J. *Med. Chem.*, 1974, 17, 477.
136. Griswold D. P., Jr. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 2, 3, 315.
137. Griswold D. P., Jr., Dykes D. J., Kelley C. A., Roberts B. Y., Dominick C. A. *Cancer chemotherapy Repts*, 1974, pt 2, 4, No. 1, 99.
138. Griswold D. P., Jr. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1975, pt 2, 5, 187.
139. Schabel F. M., Jr. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 665.
140. Schabel F. M., Jr. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, pt 3, 4, 3.
141. Humphreys S. R., Dewys W. D., Karrer K. Abstracts 5th Intern. Congr. Chemotherapy. Vienna, Verl. Wiener Med. Acad., 1967, B9/17.
142. Karrer K., Humphreys S. R., Goldin A. *Intern. J. Cancer*, 1967, 2, 213.
143. Karrer K., Humphreys S. R. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1967, 51, 439.
144. Humphreys S. R., Karrer K. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1970, 54, 379.
145. Walker M. D., Gehan E. A. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 713.
146. Levin V. A., Wilson C. B. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 719.
147. Levin V., Wilson C. B. Abstrs. 9th Intern. Congr. Chemotherapy. London, 1975, SC-46.
148. Walker M. D. Abstrs. 9th Intern. Congr. Chemotherapy. London, 1975, SC-45.
149. Merker P. C., Wodinsky I., Geran R. I. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1975, pt 1, 59, 729.
150. Geran R. I., Congleton G. F., Dudeck L. E. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1974, pt 2, 4, 53.
151. Shapiro W. R., Ausman G. I., Rall D. P. *Cancer Res.*, 1970, 30, 2401.
152. Ausman J. I., Shapiro W. R., Rall D. P. *Cancer Res.*, 1970, 30, 2394.
153. Swenberg J. A., Koestner A., Wechsler W. *Lab. Invest.*, 1972, 26, 74.
154. Swenberg J. A., Bigner D. D. Abstrs XI Intern. Cancer Congr. Florence, 1974, 4, 723.
155. Gargus J. L., Congleton G. F., Dudeck L. E., Geran R. I. Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, 722.
156. Benda P., Someda K., Messer J., Sweet W. H. *J. Neurosurg.*, 1971, 34, 310.
157. Pezzotta S., Agradi E., Paoletti P. *Pharmacol. Res., Commun.*, 1975, 7, 49.
158. Rosenblum M. L., Wheeler K. T., Wilson Ch. B., Barker M., Kuebel K. D. *Cancer Res.*, 1975, 35, 1387.
159. Wassenaar W., Tator C. H., Wei S. S. *J. Neurosurg.*, 1973, 39, 239.
160. Wheeler K. T., Tel N., Williams M. E., Sheppard S., Levin V. A., Kabra P. M. *Cancer Res.*, 1975, 35, 1464.
161. Skipper H. E., Schabel F. M., Jr., Wilcox W. S. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1965, 45, 5.
162. Rall D. P., Zubrod C. G. *Annual Rev. Pharmacol.*, 1962, 2, 109.
163. Hansh C., Smith N., Engle R., Wood H. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, 56, 443.
164. Albright L., Madigan J. C., Gaston M. R., Houchens D. P. *Cancer Res.*, 1975, 35, 658.
165. Tannock I. F., Steel G. G. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1969, 42, 771.
166. Bannister B. J. *Antibiotics*, 1972, 25, 377.
167. Bhuyan B. K., Fraser T. G., Buskirk H. H., Neil G. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, 56, 709.
168. Evans G. S., Gerritsen G. C., Mann K. M. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1965, 48, 1.
169. Livingston R. B., Carter S. K. Streptozotocin Chemotherapy fact sheet. Bethesda, Md., NCI, 1969.
170. Schein P. S., McMenamin M., Anderson T. *Cancer Res.*, 1973, 33, 2005.
171. Schein P. S., McMenamin M., Anderson T. Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 3, p. 437.
172. White F. R. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1963, 30, 49.

173. Schein P. S., Cooney D. A., Vernon M. L. *Cancer Res.*, 1967, 27, 2324.
174. Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A. *J. Med. Chem.*, 1975, 18, 104.
175. Anderson T., McMenamin M. G., Schein P. S. *Cancer Res.*, 1975, 35, 761.
176. Anderson T., McMenamin M., Schein P. S. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. and ASCO*, 1974, 15, 60.
177. Schein P. S., Panasci L., Wooley P. V., Anderson T. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 801.
178. Wodinsky I., Kensler C. J. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1964, 13, 1.
179. Nicolini A., Vadlamudi S., Goldin A. *Arch. ital. patol. e clin. tumori*, 1970, 13, 125.
180. Hoag W. G. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1963, 108, 805.
181. Hoffmann J., Post J. *Cancer Res.*, 1966, 26, 1313.
182. Owens A. H., Jr., Busch G. J. *Bull. John Hopkins Hospital*, 1965, 116, 249.
183. Bertalanffy F. D. *Nature*, 1963, 198, 496.
184. Mendelsohn M. L., Dohan F. C., Jr., Moore H. A., Jr. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1960, 25, 477.
185. Gelzer J., Loustalot P. *Intern. J. Cancer*, 1967, 2, 179.
186. Le Page G. A., Howard N. *Cancer Res.*, 1963, 23, 622.
187. Mendelsohn M. L. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1962, 28, 1015.
188. Dethlefsen L. A., Prewitt J. M. S., Mendelsohn M. L. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1968, 40, 389.
189. Scholler I., Phillips F. S., Bittner I. I. *Cancer Res.*, (Suppl.), 1955, 3, 32.
190. Scholler I., Phillips F. S., Sternberg S. S., Bittner I. I. *Cancer*, 1956, 9, 240.
191. Snell G. D. In: *The physiopathology of cancer*. New York, P. B. Hoeber, 1959, p. 293.
192. Foulds L. *Cancer Res.*, 1954, 14, 327.
193. Arakawa M., Shimizu F., Okada N. *Japan J. Cancer Res.*, 1974, 65, 191.
194. Shimizu F., Arakawa M. *Gann. Japan. J. Cancer Res.*, 1975, 66, 149.
195. Niculescu-Duvaz J., Baracu J., Eeyns L. V., Dragota J. *Abstrs XI Intern Cancer Congr. Florence*, 1974, 3, p. 439.
196. Блюм Р. А., Жябенкене Б. А., Луценко В. В., Люткене Р. Г., Шимкявичене В. И. *Труды АН Лит. ССР*, 1975, В., № 1 (69), 133.
197. Эмануэль Н. М., Коновалова Н. П., Дьячковская Р. Ф., Розенберг А. Н. *Вопросы онкологии*, 1976, 22, № 10, 72.
198. Suami T., Machinami T. Патент США, класс 260—210 (C07c 47/18), № 3767640, заявлено 19 IV, 1971. Опубликовано 23 X, 1973. Приоритет 25 IV, 1970. Япония.
199. Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A. *Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence*, 1974, 3, p. 437.
200. Carter S. K., Wasserman T. H. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 807.
201. Kline I., Gang M., Tyrer D. D., Mantel N., Venditti J. A., Goldin A. *Chemotherapy*, 1968, 13, 28.

НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИНЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ОНКОЛОГИИ

Клиническое изучение новых противоопухолевых препаратов в настоящее время четко регламентировано и включает ряд последовательных фаз, различающихся в первую очередь по решаемым при этом задачам.

Первая, фармакологическая, фаза имеет своей целью установление переносимых доз и режимов применения новых препаратов у больных, определение токсических реакций на введение препарата и выявление возможностей их предупреждения и лечения. Во второй фазе устанавливаются опухоли, чувствительные к изучаемому препарату, т. е. спектр его противоопухолевого действия. Третья фаза заключается в сравнительном исследовании эффективности нового препарата и уже применяющихся при лечении данных опухолей, а также в изучении возможности совместного применения нового препарата с известными лекарственными средствами, оперативным и лучевым лечением.

Для каждой из этих фаз клинического изучения противоопухолевых препаратов характерны также специфические методики проведения клинических исследований, контингент больных, выбор критериев для оценки результатов и пр. Окончательный вывод о практической ценности нового препарата в качестве лекарственного средства для лечения злокачественных опухолей основывается обычно на результатах, полученных при проведении всех трех фаз клинического изучения. Очевидно, что с точки зрения выявления новых активных противоопухолевых препаратов наиболее важны результаты, получаемые при проведении второй фазы, поскольку именно в этой фазе устанавливается наличие или отсутствие противоопухолевой активности данного агента и выявляется необходимость и перспективность дальнейшего изучения данного класса химических соединений.

Во второй фазе противоопухолевые свойства НАМ были изучены на нескольких тысячах больных различными злокачественными опухолями в генерализованных стадиях, как правило, не подлежащих другим видам лечения. Полученные результаты достоверно свидетельствовали о высокой активности этих соединений, причем в ряде случаев НАМ превосходили по эффективности известные противоопухолевые препараты. При клиниче-

ском изучении подтвердились также экспериментальные данные об отсутствии перекрестной резистентности между НАМ и противоопухолевыми препаратами других классов, обычно применяющимися в клинической практике.

Некоторая противоречивость в результатах, полученных разными авторами, по-видимому, объясняется, в первую очередь, различиями в критериях оценки эффективности терапии и принципах подбора больных в разных клиниках, разнообразием лечебных схем, доз и режимов применения препаратов. Однако вывод о существенной противоопухолевой активности производных нитрозомочевины не вызывал никаких сомнений.

Для объективного суждения о действии НАМ при разных опухолях в качестве показателя эффективности лечения наиболее целесообразно использовать такой общепотребительный критерий, как уменьшение размеров опухоли не менее чем вдвое в течение периода времени не менее месяца. Еще полнее характеризуется эффективность препарата, если отдельно выделить случаи полных ремиссий, когда полностью исчезают все имевшиеся проявления опухолевого процесса без возникновения новых очагов опухолевого роста также в период времени не менее месяца.

Результаты клинического изучения НММ, которое проводилось только в СССР, оценивались по принятой в нашей стране цифровой системе оценки эффективности противоопухолевых препаратов, разработанной в ИЭКО АМН СССР [1]. В соответствии с этой системой цифрой «3» обозначается уменьшение размеров опухоли на 50% и более в течение периода времени не менее месяца, цифрой «2» — уменьшение размеров опухоли на 25—50% длительностью также не менее месяца, цифрой «1» — уменьшение размеров опухоли менее чем на 25% или любое уменьшение опухоли, продолжавшееся менее месяца, цифрой «0» — отсутствие объективного эффекта.

НАМ, так же как и другие современные противоопухолевые препараты, являются лишь паллиативным средством лечения больных злокачественными опухолями, так как получаемые эффекты носят временный характер, хотя в ряде случаев они проявлялись весьма длительное время. В результате этого продолжительность ремиссии и длительность жизни больных также могут служить критерием эффективности препаратов.

Ниже рассматриваются данные об эффективности НАМ при различных опухолях.

Лимфогранулематоз. Лимфогранулематоз относится к числу тех немногих опухолей человека, при которых более или менее эффективными оказываются препараты разных групп химических соединений. Объективное улучшение отмечается при применении алкилирующих соединений, в основном из группы хлорэтиламинов (эмбихин, допан, циклофосфан, дегранол, лейкеран), препаратов из группы винкалоидов (винбластин, винкри-

тин), некоторых антибиотиков (брунеомицин, стрептонигрин, актиномицин D, блеомицин, адриамицин), производных метилгидразина (натулан), кортикостероидов. Обычно объективные ремиссии при монокимиотерапии больных лимфогранулематозом III—IV стадий достигаются с помощью этих препаратов в 40—80% случаев, при средней продолжительности 3—6 мес.

Таблица 54

Результаты лечения НММ больных лимфогранулематозом

Число больных	Оценка объективного эффекта			
	3*	2	1	0
48	28 (12)	10	2	8

* В скобках указано число больных, у которых получена полная ремиссия.

Среди изученных клинически НАМ наибольшей активностью при лимфогранулематозе обладает НММ. В табл. 54 приведены результаты лечения этим препаратом 48 больных в генерализованных стадиях заболевания (III Б—IV Б), с поражением многих групп периферических и висцеральных лимфатических узлов, разных органов (легких, печени, селезенки, желудка),

Таблица 55

Эффективность НММ при различных локализациях лимфогранулематоза

Локализация поражения	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Локализация поражения	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом
Лимфатические узлы					
периферические	41	34 (83)*	Селезенка	8	5 (63)
средостения и корней легких	20	16 (80)	Печень	8	5 (63)
внутрибрюшинные	8	8 (100)	Кости	2	1
Легкие	10	7 (70)	Кожа	4	3
			Желудок	2	1
			Мягкие ткани	3	3

* В скобках количество больных (в %).

костей, мягких тканей и кожи, с выраженными общими симптомами заболевания и изменениями со стороны показателей крови [2, 3].

Видно, что значительное объективное улучшение имело место у 38 из 48 больных (79%), причем у 12 (25%) из них получена полная ремиссия — исчезновение всех определяемых опухолей и симптомов заболевания.

Ремиссии без поддерживающего лечения продолжались от 2 недель до 36 месяцев (в среднем 6,5 мес, за исключением больных, у которых ремиссии еще сохранялись к моменту опубликования результатов).

В отдельных случаях лечение НММ может приводить к очень длительным ремиссиям. Так, например, у одного больного лимфогранулематозом IIIB стадии ремиссия после одного курса лечения НММ продолжается 6 лет, другая больная, леченная НММ по поводу лимфогранулематоза IVB стадии, находится в состоянии ремиссии 3,5 года, также после одного курса лечения, причем в этом случае достигнута полная репарация специфического поражения костной ткани, при котором обычно химиотерапия практически неэффективна (рис. 24).

Эти случаи представляют особый интерес, так как показывают принципиальную возможность получения длительного клинического улучшения (и, возможно, выздоровления) при лечении НММ чувствительных опухолей. Весьма показательны также, что в обоих случаях к моменту начала лечения НММ имелась резистентность к облучению и ряду противоопухолевых препаратов.

Как видно из табл. 55, НММ высокоэффективна почти при всех основных локализациях лимфогранулематоза и может вызывать регрессию как периферических, так и висцеральных лимфатических узлов, специфического поражения легких, кожи, желудка, костей.

Особо следует отметить эффективность применения НММ при лечении поражений лимфатических узлов средостения и брюшной полости, которые обычно трудно поддаются химиотерапии. Обращает внимание также высокая эффективность препарата в отношении специфических легочных поражений. Из семи больных с поражением легких, леченных с объективным эффектом, у пяти наступила полная регрессия легочных образований, причем после окончания ремиссии и нового развития опухолевого процесса возобновления роста опухолей в легких у этих больных не отмечалось. По-видимому, лечение НММ в этих случаях обеспечивало полное уничтожение опухолевых клеток в легочной ткани. О хорошем эффекте лечения НММ при поражениях легких свидетельствует, например, следующее наблюдение: у больной лимфогранулематозом стадии IVB с множественным поражением обоих легких после курса лечения НММ (по 500 мг, суммарно 4,0 г) получена полная ремиссия с регрессией всех легочных изменений (рис. 25).

При других экстранодальных поражениях эффект от применения НММ отмечен при диссеминированном лимфогранулематозе с поражением селезенки, печени, кожи, мягких тканей.

В большинстве случаев НММ быстро купирует общие проявления заболевания — лихорадку, зуд, потливость, вес больных восстанавливается (табл. 56), показатели крови улучшаются.

Таблица 56

Влияние НММ на общие симптомы у больных лимфогранулематозом

Характер симптомов	Число больных	Число больных, леченных с эффектом	Характер симптомов	Число больных	Число больных, леченных с эффектом
Лихорадка	33	29 (88*)	Кожный зуд	16	11 (69)
Потливость	14	12 (86)	Похудание	7	5 (71)

* В скобках количество больных (в %).

Особого внимания заслуживает тот факт, что столь хорошие результаты получены у больных, подавляющее большинство которых (37 человек) ранее многократно лечились другими противоопухолевыми препаратами и облучением, и у 18 из них развилась резистентность к применявшемуся лечению. Ниже приведены данные об эффективности НММ у больных лимфогранулематозом, резистентных к другим противоопухолевым препаратам:

	Ранее нелеченные больные	Больные, резистентные к другим препаратам
Число больных	11	18
Лечение с объективным эффектом	8 (73%)	13 (72%)

Видно, что у больных, ставших рефрактерными к другим препаратам, положительные результаты отмечаются столь же часто, как и у ранее нелеченных больных. Из 13 больных этой группы, леченных с объективным эффектом, улучшение, оцененное цифрой «3» отмечено у 11, цифрой «2» — у 2 больных. Эти данные указывают на отсутствие перекрестной резистентности при лимфогранулематозе между НММ и другими противоопухолевыми препаратами.

Характерная черта действия НММ у больных лимфогранулематозом — быстрое наступление положительного эффекта. При чувствительных опухолях улучшение обычно отмечается уже после первых инъекций препарата [4]. Эта особенность препарата позволяет, во-первых, быстро улучшить состояние тяжелых больных, а во-вторых, рано выявить опухоли, нечувствительные к препарату, и своевременно прекратить бесполезное лечение, сохранив тем самым резервы кроветворения для другого лечения.

Эффективность применения НММ при лимфогранулематозе возрастает с увеличением разовых доз препарата, однако это, как правило, сопряжено с усилением токсических явлений. Выраженного объективного эффекта при чувствительных опухолях удается достигнуть при введении препарата в дозе 6—8 мг/кг каждые 2—3 дня. При такой схеме лечения лимфогранулемато-

за токсические эффекты сравнительно невелики и схема может быть рекомендована для практического применения.

БХНМ также эффективна при лечении больных генерализованным лимфогранулематозом, однако, по данным разных клиник, результаты, полученные при применении этого препарата, заметно уступают результатам лечения НММ. Как видно из табл. 57, где приведены обобщенные данные об эффективности

Таблица 57
Эффективность БХНМ при лимфогранулематозе

Число больных	Число больных, леченных с эффектом		Длительность ремиссий*	Источник
	полные ремиссии	частичные ремиссии		
4	—	2	6—7 нед	[5]
31	4	13	5 нед — 8,5 мес (в среднем 4 мес)	[6]
19	1	4	1—15 мес	[7]
45	2	19	4 мес *	[8]
8	—	3	—	[9]
33	5	11	—	[11]
28	1	9	23 дня	[10]
168	13 (7,6 %) 61 (36,3 %)			

* Средняя длительность частичной ремиссии.

БХНМ при генерализованных стадиях лимфогранулематоза, в среднем объективное улучшение получено у 44% больных, в том числе у 7,7% больных наступили полные ремиссии, у 36,6% — частичные. По сводным данным [10], при лечении БХНМ 149 больных лимфогранулематозом объективное улучшение различной степени отмечено в 50% случаев.

Видно, что при лечении БХНМ ремиссии у больных лимфогранулематозом достигаются реже, чем при применении НММ, причем эта разница наиболее заметна в частоте получения полных ремиссий. Лечение БХНМ приводит к полным ремиссиям лишь в единичных случаях [6, 8, 12].

Эффективность БХНМ при лимфогранулематозе зависит от дозы препарата и схемы его применения. При применении БХНМ в виде однократных инъекций каждые 4—8 нед частота объективного улучшения возрастает с увеличением разовой дозы препарата (табл. 58). При дозах 100—150 мг/м² улучшение наблюдали у 9 из 20 больных (45%), а при дозах 200—250 мг/м² — у 19 из 34 (56%). Наилучшие результаты получены при применении препарата в дозе 250 мг/м², однако такое увеличение дозировки сопровождалось усилением миелотоксичности.

Таблица 58

Эффективность различных схем применения БХНМ при лимфогранулематозе
[8, 11]

Доза (мг/м ²) и схема лечения	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Доза (мг/м ²) и схема лечения	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом
250	19	12	90 мг/м ² в неделю (6 нед)	8	3
200	15	7			
150	8	3	60 мг/м ² в неделю (6 нед)	9	3
100	12	6			
168	7	5	Всего	78	39 (50%)

О высокой эффективности больших разовых доз БХНМ свидетельствуют также результаты рандомизированного изучения четырех разных режимов применения препарата [11]. Объективное улучшение получено у 62,5% больных, получавших однократные инъекции больших доз, и лишь у 35,3% больных, леченных длительно путем еженедельных введений небольших доз. Следует отметить, что полные ремиссии были получены только в случаях однократного применения высоких разовых доз. Длительность ремиссий у больных, получавших однократные инъекции БХНМ, была также больше, чем у больных, леченных по еженедельной схеме (51—771 день и 40—144 дня соответственно).

Для БХНМ, так же как и для НММ, характерно быстрое наступление улучшения в случаях чувствительных опухолей. Уже через несколько дней после начала лечения больные отмечают улучшение самочувствия, уменьшение или исчезновение симптомов заболевания, уменьшение опухолевых узлов. Однако в ряде случаев улучшение может наступать в более поздние сроки — в течение первых 2 мес. В среднем улучшение можно отметить через 12 дней после начала лечения [6, 8].

Применение БХНМ оказывается эффективным у больных лимфогранулематозом, ранее леченных другими препаратами и ставших к ним резистентными. В основном это показано для эмбихина, циклофосфана и винкалколоидов [8, 11] (табл. 59).

Видно, что БХНМ эффективна как у больных, ранее результативно леченных алкилирующими препаратами и ставших затем к ним резистентными, так и у больных, имевших опухоли, первоначально нечувствительные к циклофосфану и эмбихину.

В ряде случаев эффективность БХНМ у больных, ранее неэффективно леченных другими алкилирующими препаратами, оказывается ниже по сравнению с эффективностью у больных, у которых предшествующее лечение алкилирующими соедине-

Таблица 59

Эффективность БХНМ у больных лимфогранулематозом, ранее леченных другими противоопухолевыми препаратами [11]

Предшествующее лечение и его результаты	Число больных	Результаты применения БХНМ	
		объективный эффект	без эффекта
Циклофосфан			
с эффектом	9	4	5
без эффекта	13	5	8
Эмбихин			
с эффектом	18	6	12
без эффекта	6	4	2

ниями и их комбинациями приводило к ремиссиям. Тем не менее отсутствие эффекта от применения стандартных противоопухолевых препаратов не означает обязательно сниженной чувствительности опухоли у этого больного к БХНМ [8].

Поддерживающее лечение с помощью БХНМ (по 200 мг/м² каждые 3 мес) не приводит к удлинению ремиссий, индуцированных полихимиотерапией (в частности, сочетанием эмбихина,

Таблица 60

Эффективность ЦГНМ при лимфогранулематозе

Число больных	Число больных, леченных с эффектом		Длительность ремиссии	Источник
	полные ремиссии	частичные ремиссии		
26	5	13	71 день*	[10]
7	1	1	9—13 мес	[14]
3	—	1	35 нед*	[15]
25	1	6	1—7 мес.	[16]
61	7 (11,1%)	21 (34,4%)		

* Средняя длительность ремиссии.

винкристина, натулана и преднизолона — схема МОПП). Длительность жизни больных, получавших такое поддерживающее лечение, не отличается от выживаемости больных, которым для продления ремиссии применяли схему МОПП или вообще поддерживающей терапии не проводили [13].

Результаты изучения эффективности ЦГНМ при лимфогранулематозе приведены в табл. 60. Эти данные показывают, что эффективность ЦГНМ примерно такая же, как и БХНМ. Однако в специальном сравнительном исследовании эффективности ЦГНМ и БХНМ при лимфогранулематозе обнаружено, что при-

менение ЦГНМ дает значительно более высокие результаты, чем лечение БХНМ [10, 17]. Ниже приведены сравнительные данные об эффективности БХНМ и ЦГНМ при лечении распространенных форм лимфогранулематоза (III и IV стадии) [10]:

	БХНМ	ЦГНМ
Число больных	28	26
Число больных с ремиссией		
полной	1	5
частичной	9	13
Эффективность лечения, % объективного улучшения	36	69
Средняя длительность ремиссий, дни	23	71

Частота объективного улучшения значительно выше при применении ЦГНМ, причем лечение ЦГНМ привело к полной регрессии опухоли у 5 из 26 больных, тогда как при применении БХНМ полная ремиссия наблюдалась только в одном случае. О преимуществах ЦГНМ свидетельствует и значительно бо́льшая длительность полученных ремиссий.

Вместе с тем токсичность ЦГНМ в этом исследовании превышала токсичность БХНМ, т. е. возможно, что БХНМ была

Таблица 61

Эффективность MeЦГНМ при лимфогранулематозе

Число больных	Число больных, леченных с эффектом		Длительность ремиссии	Источник
	полные ремиссии	частичные ремиссии		
2	—	2	1—2 мес.	[18]
74	2	17		[19]
6	1	2	3—9 мес.	[20]
37	2	11		[21]
119	5 (4,2%)	32 (26,9%)		

применена в недостаточных дозировках. Кроме того, в группе больных, леченных ЦГНМ, оказалось меньше больных, получавших ранее химиотерапию другими препаратами, чем в группе, леченной БХНМ (80,9 и 86,8% соответственно), т. е. в ней было меньше больных, которые обычно хуже реагируют на лечение [16].

Изучение эффективности MeЦГНМ при лимфогранулематозе проведено в единичных исследованиях; полученные данные показывают, что при этом заболевании MeЦГНМ уступает по эффективности другим НАМ (табл. 61).

В специальном сравнительном исследовании обнаружено, что MeЦГНМ при лимфогранулематозе уступает ЦГНМ. Из 20

больных, леченных МеЦГНМ, объективное улучшение наступило у 5 (26%), тогда как среди 33 больных, получавших ЦГНМ, лечение оказалось эффективным у 14 (42%) [19].

Стрептозотоцин при лимфогранулематозе значительно менее эффективен, чем другие НАМ. При лечении 16 больных, ранее получавших другие виды лечения, полная ремиссия длительностью 3 мес получена у одного больного, частичные ремиссии длительностью в среднем 2 мес — у шести [22]. У четырех больных, леченных с успехом стрептозотоцином, предшествующее применение БХНМ не привело к объективному улучшению.

Таким образом, исследования, направленные на изучение эффективности НАМ при лимфогранулематозе, позволяют заключить, что эта опухоль чувствительна к производным нитрозомочевины. Полученные разными клиниками результаты показывают, что как по частоте получаемых ремиссий, так и по их глубине и продолжительности НАМ не уступают препаратам, принятым в качестве стандартных при лечении этого заболевания [2, 3, 6, 8, 16, 19]. Хотя необходимы еще дальнейшие сравнительные исследования, однако из ряда соображений следует, что вывод этот достоверен. Действительно, результаты, свидетельствующие об эффективности НАМ, получены в основном при лечении больных с генерализованными, далеко зашедшими стадиями заболевания. Большинство больных до назначения НАМ длительное время получали лечение облучением и другими препаратами. Наконец, показанием к лечению НАМ обычно служит прогрессирование процесса, что, как правило, сопровождается снижением чувствительности опухоли к терапии и, кроме того, необходимостью лечить больных, находящихся в более тяжелом состоянии, нежели больные, получавшие первое лечение. Вследствие этого можно полагать, что применение НАМ в качестве первоначального препарата у больных лимфогранулематозом, нуждающихся в химиотерапии, приведет к еще более высоким результатам.

Среди НАМ, изученных клинически, наибольшей активностью при лимфогранулематозе обладает НММ, которая эффективна почти при всех клинических проявлениях заболевания, быстро купирует его общие симптомы, обуславливающие тяжесть состояния больных, и вызывает регрессию периферических, медиастинальных и интраабдоминальных пораженных лимфатических узлов, а также многих органных поражений. Эта особенность препарата дает основания считать особенно целесообразным его применение в случаях быстро прогрессирующего процесса, когда фактор времени может иметь решающее значение для возможности получения ремиссии. Быстрота появления терапевтического эффекта имеет важное значение и потому, что он наступает раньше, чем может развиться угнетение гемопоэза. В результате к моменту появления лейкопении и тромбоцитопении состояние больных существенно улучшается, что дает возможность быстрее

и эффективнее купировать миелодепрессию, вызванную препаратом.

Хлорэтильные производные нитрозомочевнины уступают НММ как по частоте достижения ремиссий, так и по их глубине и продолжительности. Наиболее эффективна среди них ЦГНМ.

Важным свойством всех НАМ, подтвердившимся при их клиническом изучении, является отсутствие перекрестной резистентности с другими противоопухолевыми препаратами, эффективными при лимфогранулематозе. Это дает основание рекомендовать для лечения больных лимфогранулематозом применение НАМ в сочетании с облучением и включать их в различные схемы полихимиотерапии.

«Нелимфогранулематозные лимфомы». Термином «нелимфогранулематозные лимфомы» обычно обозначают ряд нелейкемических опухолей кроветворной ткани, кроме лимфогранулематоза. К этим опухолям относят лимфосаркому, ретикулосаркому, лимфому Беркитта, гистиоцитарную лимфому и некоторые другие опухоли.

При проведении второй фазы клинического изучения НАМ были применены почти при всех формах нелимфогранулематозных лимфом, однако в большинстве случаев лечение проводили у ограниченного числа больных и поэтому окончательных выводов об эффективности всей этой группы препаратов, а также о различиях между отдельными соединениями пока сделать нельзя. В ряде случаев удавалось получить выраженные полные и частичные ремиссии, но, в общем, следует отметить, что при нелимфогранулематозных лимфомах НАМ менее активны, чем при лимфогранулематозе.

Таблица 62

Эффективность БХНМ при нелимфогранулематозных лимфомах

Лимфосаркома			Ретикулосаркома			Лимфома Беркитта			Источ-ник
число больных	лечение с эффектом		число больных	лечение с эффектом		число больных	лечение с эффектом		
	полная ремиссия	частичная ремиссия		полная ремиссия	частичная ремиссия		полная ремиссия	частичная ремиссия	
3	0	0	—	—	—	—	—	—	[5]
13	0	3	7	0	2	—	—	—	[6]
—	—	—	1	0	0	—	—	—	[7]
11	0	2	—	—	—	—	—	—	[9]
7	0	2	4	—	1	—	—	—	[11]
—	—	—	—	—	—	13	0	5	[23]
4	0	0	—	—	—	—	—	—	[24]
38	0	7 (18,5%)	12	0	3 (25%)	13	0	5 (38,5%)	

Наиболее изучена в отношении этих опухолей БХНМ (табл. 62). Видно, что объективное улучшение отмечено у 20—30% больных, однако во всех случаях оно носило характер лишь частичной ремиссии. По сводным данным [25], при лечении 24 больных ретикулосаркомой объективное улучшение от применения БХНМ наступило у 24%, а среди 63 больных лимфосаркомой объективный эффект отмечен у 12 (19%), в том числе у двух больных имела место полная ремиссия, а у остальных — частичная.

БХНМ эффективна также в отношении лимфомы Беркитта. Положительные результаты от применения БХНМ при этом заболевании достигаются в основном у нелеченных больных, тогда как у больных, ранее получавших другие цитостатики, лечение БХНМ малоэффективно [23].

По сводным данным, ЦГНМ также менее эффективна при нелимфогранулематозных лимфомах по сравнению с лимфогранулематозом. Имеются сведения о результатах лечения 36 больных, где объективное улучшение было достигнуто у 10 (28%), в том числе у 4 наступила полная ремиссия длительностью от 1,5 до 4 мес [16].

МеЦГНМ по эффективности при различных злокачественных лимфомах, так же как и при лимфогранулематозе, уступает ЦГНМ. Из 77 больных объективный эффект достигнут у 13 (17%), в том числе у 5 получена кратковременная полная ремиссия [19—21].

НММ применялась для лечения 8 больных ретикулосаркомой [4, 26]. Объективное улучшение, выражавшееся в полном исчезновении опухоли наблюдалось у одного больного лимфоретикулосаркомой кишечника и у одного больного ретикулосаркомой яичка. Ремиссии у этих больных продолжались 19 и 14 мес.

Результаты изучения эффективности стрептозотоцина при лимфомах приведены в табл. 63. Препарат малоактивен при этих

Таблица 63

Эффективность стрептозотоцина при нелимфогранулематозных лимфомах

Число больных	Лечение с эффектом		Число больных	Лечение с эффектом		Число больных	Лечение с эффектом		Источник
	полная ремиссия	частичная ремиссия		полная ремиссия	частичная ремиссия		полная ремиссия	частичная ремиссия	
	Лимфосаркома		Лимфома Беркитта		Гистиоцитарная лимфома				
2	0	0	1	0	0	—	—	—	[27]
11	1	2	12	0	1	3	0	0	[22]
7	0	2	—	—	—	3		0	[28]
20	1 (5%)	4 (20%)	13	0	1 (7,7%)	6	0	0	

опухолях, хотя небольшое число больных не позволяет пока считать этот вывод окончательным. Полная ремиссия длительностью 2 мес получена только у одного больного лимфосаркомой. Частичные ремиссии, длительностью 3—4 мес, наблюдались также у единичных больных лимфоцитарной лимфомой и лимфомой Беркитта.

Имеющиеся в настоящее время сведения показывают, что применение НАМ для монокимиотерапии нелимфогранулематозных лимфом, по-видимому, нецелесообразно, так как их эффективность при этих опухолях ниже эффективности алкилирующих препаратов. Однако возможно, что включение НАМ в некоторые схемы полихимиотерапии лимфом может улучшить обычно плохие результаты лекарственного лечения больных этими опухолями.

Рак легкого. Рак легкого в настоящее время одна из наиболее распространенных злокачественных опухолей. Основными методами лечения этого заболевания остаются хирургический и лучевой, однако значительное число больных к моменту диагностики имеют уже распространенные опухоли, не подлежащие этим видам терапии, а у оперированных и облученных больных в дальнейшем часто развиваются рецидивы и метастазы. Единственным методом лечения таких больных остается химиотерапия, начинающая играть в последние годы все возрастающую роль.

Рак легкого относится к злокачественным новообразованиям, при которых химиотерапия относительно малоэффективна, хотя и отмечен ряд случаев успешного ее применения [29, 30].

Эффективность применения современных противоопухолевых препаратов при раке легкого во многом определяется гистологическим строением опухоли.

В последние годы появляется все больше свидетельств того, что рак легкого — понятие собирательное, включающее несколько различных форм этого заболевания, значительно различающихся по клиническому течению и прогнозу.

Одним из наиболее важных признаков, отличающих эти формы и определяющих выбор метода лечения, оказывается гистологическое строение опухоли. Принято различать четыре основные гистологические формы рака легкого — плоскоклеточный, мелкоклеточный (овсяноклеточный), аденокарцинома и крупноклеточный рак. Недифференцированные формы (мелкоклеточный, овсяноклеточный) отличаются быстрым ростом, ранним и обширным лимфогенно-гематогенным метастазированием и плохим прогнозом даже в тех случаях, когда удается выполнить «радикальную» операцию. У значительной части больных, имеющих подобные опухоли, первыми проявлениями заболевания при чрезвычайно коротком анамнезе выступают симптомы, связанные с наличием обширного метастазирования. Поэтому операбельность при недифференцированном раке легкого значи-

тельно ниже, чем при других формах рака легкого. Даже при своевременной диагностике отдаленные результаты хирургического лечения этих больных остаются плохими: 5-летняя выживаемость после радикальных операций не превышает 5—10% [31—33].

В связи с этим большинство онкологов приходит к заключению, что при недифференцированных формах рака легкого оперативное лечение не показано, за исключением редких случаев начальных стадий. Лучшие результаты дают облучение и химиотерапия [34, 35].

Важность разработки лекарственных методов лечения этих больных показывает также и значительная распространенность недифференцированных форм рака легкого, которые составляют 15—40% всех случаев рака легкого [31, 33].

Дифференцированные формы рака легкого (плоскоклеточный, аденокарцинома) имеют более медленное развитие, позднее метастазируют и лечатся в основном хирургическим и лучевым методами.

Наиболее чувствительны к химиотерапии, как правило, недифференцированные формы опухолей, эффективность лекарственного лечения плоскоклеточного рака и аденокарцином значительно меньше.

Различия в клинике, течении и прогнозе разных форм рака легкого связаны, очевидно, с определенными биологическими отличиями этих опухолей. Различаются они, в частности, по параметрам клеточной кинетики, величине пролиферирующего пула и другим параметрам [36], что, вероятно, и обуславливает разную реакцию этих опухолей на химиотерапевтическое воздействие.

Все это привело к тому, что обязательным условием изучения эффективности различных противоопухолевых препаратов при раке легкого считается отдельный анализ результатов их применения в зависимости от вида опухоли. В соответствии с этим эффективность НАМ рассмотрим далее отдельно для недифференцированных и для дифференцированных форм рака легкого.

В табл. 64 приведены результаты применения НММ у больных раком легкого. Видно, что препарат наиболее эффективен при недифференцированном раке легкого, объективное улучшение наблюдалось у 75% больных, причем в 6 случаях (16,7%) имела место полная регрессия опухоли. Объективно регистрируемое уменьшение размеров опухоли во всех случаях сопровождалось значительным субъективным и симптоматическим улучшением (ликвидация или уменьшение болей, кашля, одышки, лихорадки), которое, так же как при лимфогранулематозе, наступало после первых инъекций препарата.

Продолжительность полученных объективных ремиссий колебалась от 1 до 10 мес, в среднем составляла 2,9 мес. Ремис-

Таблица 64

Эффективность НММ при раке легкого

Гистологическая форма опухоли	Число больных	Оценка объективного эффекта			
		3	2	1	0
Недифференцированный рак	36	12	9	6	9
Плоскоклеточный рак	14	—	—	2	12
Аденокарцинома	8	—	1	1	6
Гистологически неясная форма	5	—	1	—	4
Всего	63	12	11	9	31

сии при значительной регрессии опухоли были более длительными (в среднем 4 мес) [32, 37].

Весьма наглядно эффективность НММ при недифференцированном раке легкого иллюстрируют рентгенограммы больной раком легкого (медиастильная форма) с метастазами в шейные и надключичные лимфатические узлы с обеих сторон, с левосторонним гидротораксом (рис. 26).

При прогрессировании процесса после успешного применения НММ 10 больным проводили повторные курсы лечения НММ. Объективный эффект отмечен у 4 больных, но выражен он был гораздо меньше, чем при первом курсе [32].

При других гистологических формах рака легкого эффективность НММ оказалась значительно ниже — объективные ремиссии достигались редко и были, как правило, незначительными и кратковременными [26, 37].

Суммированные результаты применения хлорэтильных производных нитрозомочевины при раке легкого в разных клиниках приведены в табл. 65.

Все три препарата также наиболее активны при мелкоклеточном раке, однако уступают НММ — объективный эффект, в том числе и полная регрессия опухоли достигались значительно реже, чем при применении НММ. С помощью ЦГНМ и МеЦГНМ удавалось добиться также положительного результата у больных с плоскоклеточным раком и аденокарциномой легкого, причем в единичных случаях эффект заключался в полной регрессии опухоли. Эффективность БХНМ при раке легкого меньше эффективности ЦГНМ и МеЦГНМ, которые в свою очередь по эффективности при раке легкого примерно равны.

Среди всех имеющихся в настоящее время противоопухолевых препаратов при плоскоклеточном раке наиболее эффективной считается ЦГНМ, менее эффективны и уступают некоторым другим препаратам НММ и БХНМ. При мелкоклеточном

Таблица 65

Эффективность хлорэтильных производных нитрозомочевины при раке легкого

Препарат	Число леченных больных	Число больных, леченных с эффектом		Число леченных больных	Число больных, леченных с эффектом	
		полная регрессия	частичная регрессия		полная регрессия	частичная регрессия

Плоскоклеточный рак

Мелкоклеточный
(овсяноклеточный) рак

БХНМ	23	0	0	20	2 (10%)	1 (5%)
ЦГНМ	79	1 (1,3%)	8 (10,1%)	74	3 (4,1%)	11 (14,9%)
МгЦГНМ	199	2 (1,0%)	25 (12,6%)	88	1 (1,1%)	10 (11,4%)
Всего	301	3 (1,0%)	33 (11,0%)	182	6 (3,3%)	22 (12,1%)

Препарат	Число леченных больных	Число больных, леченных с эффектом		Число леченных больных	Число больных, леченных с эффектом		Источник
		полная регрессия	частичная регрессия		полная регрессия	частичная регрессия	

Аденокарцинома

Прочие формы рака

БХНМ	6	0	0	2	0	0	[5,38]
ЦГНМ	87	1 (1,1%)	7 (8,0%)	31	0	3 (9,7%)	[15,16,39—43]
МгЦГНМ	141	1 (0,7%)	7 (5,0%)	53	1 (1,9%)	7 (13,2%)	[19,21,42,44]
Всего	228	2 (0,9%)	14 (6,1%)	86	1 (1,2%)	10 (11,6%)	

раке НММ признана наиболее эффективной среди всех изученных в клинике препаратов и превосходит по эффективности БХНМ и ЦГНМ. При аденокарциноме НАМ уступают ряду известных препаратов, причем ЦГНМ более активна, чем БХНМ [30].

Обнаружено, что активность некоторых НАМ при раке легкого может зависеть от иммунологического состояния организма больных больше, чем от гистологического типа опухоли [41]. В этом исследовании эффект от применения ЦГНМ наблюдали только у больных плоскоклеточным раком и аденокарциномой и не наблюдали при мелкоклеточном раке. Возможно, это свя-

зано с тем, что у больных плоскоклеточным раком была чаще сохранена иммунологическая реактивность (оценивалась по кожному тесту замедленной гиперчувствительности). При положительном тесте эффект от лечения достигнут у 70,5% больных, при отрицательном только у 5,5%.

В ряде работ результаты применения НАМ при раке легкого не анализировали в зависимости от гистоструктуры опухоли. Суммируя эти сведения с данными табл. 65, получаем, что при применении БХНМ объективный эффект наблюдали у 10 из 124 больных (8%) [9, 42, 45], при применении ЦГНМ — у 51 из 351 (14,5%) [14, 16, 46], при применении МеЦГНМ — у 57 из 568 (10,0%) [19, 47].

По сводным данным нескольких клиник США [10], среди 83 больных раком легкого, леченных БХНМ, объективный эффект отмечен у 11%, а среди 90 больных, получавших ЦГНМ, — у 20%.

При применении хлорэтильных производных нитрозомочевины объективное и субъективное улучшение отмечается после первого введения препарата, максимум эффекта наблюдается через 22—42 дня (в среднем через 29 дней) [15], ремиссии длятся от 1 до 12 мес, в среднем 3 мес.

Важным показателем эффективности противоопухолевых препаратов следует считать их воздействие на скорость роста опухоли. Наблюдаемое клинически уменьшение размеров опухоли представляет собой конечный результат одновременного протекания нескольких процессов, среди которых можно выделить гибель клеток в результате воздействия препарата, лизис и исчезновение из опухоли погибших клеток, продолжение пролиферации клеток, оставшихся неповрежденными. Различное соотношение скоростей этих процессов может вести к разнообразным изменениям кинетических кривых роста опухолей — от быстрой регрессии сразу после начала лечения до продолжения роста с прежней скоростью [48].

Изменение скорости роста опухоли в результате какого-либо воздействия можно установить путем анализа повторных рентгенограмм опухолей, имеющих правильную геометрическую форму [48].

На рис. 27, взятом из работы [49], приведены кривые роста первичных опухолей легких у больных, леченных ЦГНМ по 75 мг/м² каждые 3 нед. Видно, что в результате воздействия этого препарата может возникнуть быстрая регрессия опухоли, начинающаяся сразу после его приема. Эта регрессия носит временный характер, через 1—3 мес рост возобновляется с прежней скоростью, но в одном случае опухоль не росла 4 мес. В ряде случаев применение ЦГНМ привело к замедлению скорости роста опухолей и стабилизации процесса на 3—4 мес.

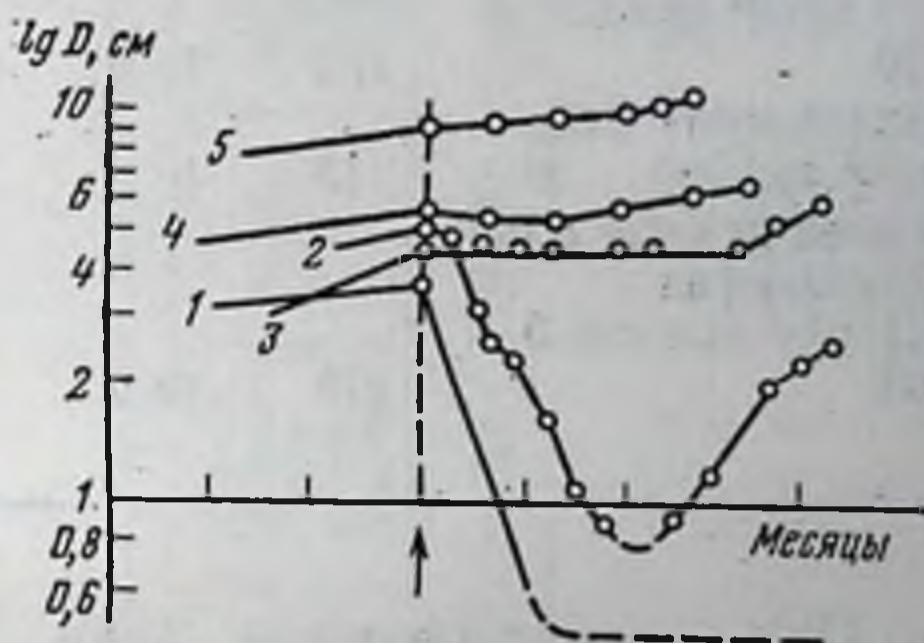
Проведенный анализ кинетических кривых роста опухолей позволил точнее оценить активность препарата: случаи замед-

ления скорости роста, являющиеся несомненным показателем эффективности лечения, при обычном анализе были бы расценены как случаи неэффективного лечения.

Связи между темпом роста опухоли до лечения и эффективностью ЦГНМ не выявлено, и это дало основание полагать, что фактором, ограничивающим эффективность этого препарата, является соотношение в опухоли чувствительных и резистентных к нему клеток, а не пролиферирующих и покоящихся [49].

Рис. 27. Изменение размеров опухолей легкого при лечении ЦГНМ

- 1, 2 — регрессия опухоли;
- 3, 4 — замедление роста опухоли;
- 5 — продолжение роста опухоли с прежней скоростью; стрелкой показано начало лечения ЦГНМ



Данные этой же работы показывают, что применение ЦГНМ по 75 мг/м^2 каждые 3 нед при раке легкого столь же эффективно, как и применение стандартной схемы — по 130 мг/м^2 каждые 6 нед.

Сравнительную эффективность различных НАМ при раке легкого можно оценить также по выживаемости больных, леченных этими препаратами.

Все три хлорэтильных производных нитрозомочевины не увеличивают достоверно выживаемости больных различными формами рака легкого по сравнению с выживаемостью больных, получавших плацебо. Исключение составляет лишь применение ЦГНМ при мелкоклеточном раке [50].

В специальном рандомизированном исследовании сопоставлена эффективность при распространенном раке легкого БХНМ и циклофосфана, ставшего в настоящее время стандартным лекарственным средством для лечения больных раком легкого [51]. Эффективность лечения оценивалась по средней длительности жизни больных (табл. 66).

Из проведенного исследования следует, что БХНМ не имеет преимуществ перед циклофосфаном при всех гистологических типах опухоли, за исключением увеличения выживаемости у больных раком легкого с невыясненной гистоструктурой. В то же время БХНМ обладает большей миелотоксичностью, особенно по отношению к тромбоцитопозу. Аналогичные результаты получены в работе [45]

Таблица 66

Сравнительная эффективность БХНМ и циклофосфана при распространенном раке легкого [51]

Препарат и схема его применения	Число больных	Средняя длительность жизни больных, недели				
		плоскоклеточный рак	мелкоклеточный рак	аденокарцинома	крупноклеточный рак	опухоли с невыясненной гистологической структурой
БХНМ (185 мг/м ² каждые 6 нед)	132	11,8	18,0	9,9	14,1	35,8
Циклофосфан (300 мг/м ² в день) (5 дней каждые 5 нед)	119	10,8	11,7	7,3	13,8	20,4
Циклофосфан (1,1 г/м ² каждые 3 нед)	149	19,2	20,3	20,6	8,5	18,5

При локализованном раке легкого (опухоль ограничена одним гемитораксом) применение БХНМ менее эффективно, чем облучение при плоскоклеточном раке, но не уступает по эффективности результатам облучения при других гистологических типах опухоли (табл. 67) [52].

Результаты сравнения эффективности ЦГНМ, стрептозотодина и ряда других препаратов, в том числе циклофосфана у больных распространенным раком легкого, также оцененные по средней длительности жизни больных, приведены в табл. 68 [52]. Как видно, при всех гистологических формах применение циклофосфана оказалось наиболее эффективным.

При сравнении отдаленных результатов применения различных хлорэтилзамещенных НАМ можно отметить несколько большую выживаемость больных плоскоклеточным раком легкого, леченных БХНМ, и больных аденокарциномой, леченных МеЦГНМ. Средняя длительность жизни этих больных оказалась также больше продолжительности жизни аналогичных больных, получавших циклофосфан (табл. 69).

Имеющиеся клинические данные свидетельствуют о несомненной активности НАМ при раке легкого, особенно при недифференцированных формах.

Дальнейшие сравнительные исследования должны определить место НАМ в лекарственном лечении рака легкого. Весьма перспективным может оказаться использование НАМ в комбинированной терапии этого заболевания.

Опухоли мозга. Опухоли мозга относятся к тем злокачественным новообразованиям, химиотерапия которых до последнего времени считалась малоперспективной и практически не

Таблица 67

Сравнительная эффективность БХНМ и облучения при локализованном раке легкого [52]

Метод лечения	Плоскоклеточный рак		Мелкоклеточный рак		Аденокарцинома		Крупноклеточный рак		Прочие формы	
	Число больных	Средняя длительность жизни, недели	Число больных	Средняя длительность жизни, недели	Число больных	Средняя длительность жизни, недели	Число больных	Средняя длительность жизни, недели	Число больных	Средняя длительность жизни, недели
БХНМ (по 185 мг/м ² каждые 6 нед)	24/27	25,0	18/20	27,9	9/10	22,0	5/7	35,3	13/16	59,2
Облучение (суммарно 4000—5000 рад)	27/32	60,1	13/14	22,0	9/9	17,4	11/13	32,7	19/21	23,0

Примечание. Числитель — число умерших больных, знаменатель — число леченных больных.

Таблица 68

Сравнительная эффективность ЦГНМ, стрептозотоцина и циклофосфана при распространенном раке легкого [52]

Препарат и схема его применения	Плоскоклеточный рак		Мелкоклеточный рак		Аденокарцинома		Крупноклеточный рак		Прочие формы	
	Число больных	Средняя длительность жизни, недели	Число больных	Средняя длительность жизни, недели	Число больных	Средняя длительность жизни, недели	Число больных	Средняя длительность жизни, недели	Число больных	Средняя длительность жизни, недели
ЦГНМ (по 300 мг/м ² каждые 6—8 нед)	22/22	11,6	13/13	9,2	12/14	10,8	12/13	10,2	19/19	11,0
Стрептозотоцин (по 1 г/м ² в нед)	27/30	9,9	15/15	5,4	20/21	12,4	21/22	9,9	64/68	9,3
Циклофосфан (по 1,1 г/м ² каждые 3 нед)	53/58	15,5	33/34	12,2	21/25	11,8	33/34	14,9	56/60	12,6

Примечание. Числитель — число умерших больных, знаменатель — число леченных больных.

Таблица 69

Сравнительная эффективность хлорэтилзамещенных нитрозомочевин и циклофосфана при распространенном раке легкого [50]

Препарат	Средняя длительность жизни, недели		
	плоскоклеточный рак	мелкоклеточный рак	аденокарцинома
Циклофосфан	14,7	14,5	11,9
БХНМ	20,7	11,5	9,2
ЦГНМ	13,2	9,8	13,2
МеЦГНМ	13,2	11,3	14,1

применялась. В принципе лекарство, предлагаемое для лечения опухолей мозга, должно обладать определенными характеристиками, которые позволили бы ему (или его активным метаболитам) свободно проникать через гемато-энцефалический барьер в концентрациях, летальных для клеток опухоли.

В связи с этим появление НАМ, обладающих такими свойствами, сразу привлекло внимание клиницистов и открыло новые возможности в лекарственном лечении этих опухолей.

Изучение эффективности новых препаратов при опухолях мозга встречает определенные трудности, связанные, во-первых, со сложностью объективной оценки степени регрессии опухоли, а во-вторых, со значительным разнообразием морфологического строения разных опухолей и, возможно, со связанной с этим различной чувствительностью к химиотерапии. Особенностью терапии больных опухолями мозга является также необходимость применения лекарственных средств после проведенных ранее операций, которые, как правило, носят паллиативный характер. В связи с этим основными критериями эффективности химиотерапии опухолей мозга считается динамика неврологической симптоматики, вызванной опухолью, что большинством исследователей рассматривается как объективное улучшение, и длительность жизни больных. В ряде работ для оценки эффекта лечения использовали скенирование мозга с помощью радиоактивных изотопов, ангиографию, однако интерпретация этих данных часто встречает значительные трудности [33, 53, 54].

Результаты применения НАМ у больных с различными первичными опухолями мозга приведены в табл. 70. Все три хлорэтильных производных нитрозомочевины активны при этих опухолях, причем эффективность БХНМ и ЦГНМ примерно одинакова, а МеЦГНМ уступает этим препаратам. Согласно суммированным данным [10], БХНМ привела к объективному улучшению у 34 из 76 больных (42%). Наиболее чувствительны к НАМ мультиформные глиомы, хотя и при других первичных опухолях мозга случаи объективного улучшения не были ред-

Таблица 70

Эффективность НАМ при первичных опухолях мозга

Препарат	Число больных	Число больных, леченных с эффектом	% эффекта	Источник
БХНМ	64	24	37,5	[53,55,56]
ЦГНМ	100	36	36	[14, 15, 16, 39, 40, 57]
МеЦГНМ	61	15	24,6	[19, 58]

костью [14, 39, 54—57]. В работе [55] показано, что из 18 больных глиобластомой объективное улучшение после лечения БХНМ наступило у 7 (33%), а из 6 больных астроцитомой — у 4 с длительностью ремиссий 1—10 мес. Положительный эффект от лечения БХНМ отмечен также при эпендимоме мозжечка, глиобластоме ствола мозга, медуллобластоме мозжечка.

Объективное улучшение достигается одинаково часто при применении БХНМ и ЦГНМ, однако последний препарат, по-видимому, более эффективен, так как указанные случаи полной регрессии опухоли мозга, подтвержденные скенированием мозга, получены в основном при лечении ЦГНМ [14, 15].

Симптоматическое улучшение больные и врачи начинают отмечать довольно быстро (через несколько дней) после начала лечения ЦГНМ [15] и несколько позже (через 3—4 нед) при лечении БХНМ [56], причем характер улучшения при применении этих препаратов иной, чем в случаях лечения кортикостероидами; последние уменьшают лишь отек мозга, обычно сопутствующий опухоли [56].

Полученные ремиссии длились от 1 до 7 мес, в среднем 3,5 мес [57]. В то же время показано, что, несмотря на улучшение с помощью НАМ состояния больных опухолями мозга, это лечение не приводит к продлению их жизни. Средняя длительность жизни больных, получивших БХНМ по 100 мг/м² в день в течение 3 дней каждые 6—8 нед, составила 20 нед, нелеченных больных — 17 нед, а больных, подвергнутых облучению, — 23 нед [59].

Улучшения отдаленных результатов лечения больных опухолями мозга можно ожидать в результате применения НАМ в сочетании с удалением опухоли и облучением.

При лечении ЦГНМ по 100 мг/м² каждые 6 нед после операции средняя длительность жизни 24 больных астроцитомами и глиобластомами была $6,7 \pm 3,9$ месяца и не отличалась от выживаемости больных контрольной группы, не получавших дополнительной химиотерапии [60]. Аналогичные результаты

получены в работе [61]; средняя длительность жизни 58 больных, леченных ЦГНМ после операции и облучения, составляла 46 нед, а больных, не получавших препарат, — 52 нед.

Возможно, что более эффективным способом применения ЦГНМ является лечение рецидивов, развившихся после удаления первичной опухоли. В пользу такого предположения свидетельствуют данные работы [62], где показано, что средняя длительность жизни больных, которых начинали лечить ЦГНМ только при появлении признаков продолженного роста опухоли, достоверно превышает выживаемость больных, получавших этот препарат сразу после операции (77 и 50 нед соответственно).

При сочетании облучения с БХНМ продолжительность жизни больных с рецидивами опухолей мозга увеличивается почти вдвое по сравнению с нелечеными больными, а также с больными, получавшими только облучение или только БХНМ [59].

Результаты применения после операции по поводу мультиформной глиомы облучения в сочетании с БХНМ по 2 мг/кг каждые 4 нед приведены ниже [63]:

Вид лечения	Число больных	Средняя длительность жизни, мес
Послеоперационное облучение	11	3,0
Послеоперационное облучение+БХНМ	16	10,0

Как видно, дополнительная химиотерапия существенно улучшила результаты лечения. В группе без химиотерапии более 12 мес прожил 1 из 7 больных (14%), а при применении БХНМ — 6 из 11 (55%) [63].

По данным о выживаемости 2099 больных установлено, что средняя длительность жизни больных злокачественными глиомами, подвергнутых только оперативному лечению, составляет 4,5 мес [33]. Сопоставление с этими данными также может свидетельствовать в пользу эффективности сочетания БХНМ с облучением у больных, оперированных по поводу опухолей мозга.

Однако в специальном рандомизированном исследовании не удалось подтвердить преимуществ дополнительной комплексной терапии больных, оперированных по поводу злокачественных глиом [64]. Средняя длительность жизни больных, получавших после операции БХНМ вместе с облучением, достоверно не превышала выживаемости больных, леченных только облучением. Аналогичные результаты получены при сочетании MeЦГНМ с облучением [64]. Ниже приведены данные о выжи-

ваемости больных злокачественными глиомами после комплексной терапии [64]:

Вид лечения	Средняя длительность жизни, нед
Операция+БХНМ (по 80 мг/м ² /день в течение 3 дней каждые 6—8 нед)	25
Операция+облучение (суммарно 5000—6000 рад в течение 6—8 нед)	37,5
Операция+БХНМ+облучение (в тех же дозах)	40,5

Необходимы дальнейшие исследования для решения вопроса о целесообразности практического применения сочетания НАМ с облучением после оперативного лечения опухолей мозга.

При аутопсии больных, умерших в разные сроки после эффективного лечения БХНМ, в опухоли находили большие очаги некроза, а при микроскопическом исследовании — дегенеративные изменения в клетках опухоли, причем в случаях сочетания БХНМ с облучением эти изменения (появление гипоцеллюлярных участков, увеличение числа гигантских и деформированных клеток, уменьшение числа митозов) встречались чаще и были более выраженными, чем у нелеченных больных и у больных, умерших после облучения [55, 65].

В ряде случаев НАМ оказались эффективными у больных с метастазами различных опухолей в головной мозг. Описано два случая успешного применения НММ (в одном случае в сочетании с циклофосфаном) при метастазах в мозг мелкоклеточного рака легкого. В результате лечения у этих больных почти полностью исчезли все симптомы опухолевого поражения мозга (параличи, афазия). Ремиссии длились 2 мес [66].

При лечении ЦГНМ 5 больных с метастатическим поражением мозга получена ремиссия длительностью 3 мес в одном случае метастаза аденокарциномы и длительностью более 1 мес у 1 из 4 больных с метастазами рака легкого [57]. Отмечен также положительный эффект от применения БХНМ при метастазах рака легкого в мозг [56]. Несмотря на положительную динамику со стороны метастатического поражения мозга, первичный опухолевый процесс у этих больных продолжал прогрессировать.

В настоящее время еще трудно решить, насколько закономерна эффективность НАМ при метастатическом поражении ЦНС, даже при опухолях, чувствительных к этим препаратам. Средняя длительность жизни больных раком легкого с поражением ЦНС, леченных циклофосфаном в различных дозах, составляла 12,7—17,3 нед, тогда как такие же больные, леченные БХНМ, жили в среднем 8,5 нед [51]. Вероятно, БХНМ не имеет

преимуществ перед циклофосфаном при лечении подобных больных.

Острый лейкоз. Современные методы интенсивной химиотерапии острых лейкозов значительно улучшили результаты лечения этих больных. Во многих случаях, особенно при остром лимфобластном лейкозе, стало возможным получение полной клинико-гематологической ремиссии и существенного продления жизни больных. Вместе с тем значительно возросло число случаев лейкемического поражения головного мозга, что, как полагают, непосредственно связано с увеличением эффективности химиотерапии — продление жизни больных привело к тому, что у них стали развиваться такие изменения, до которых раньше они не доживали [33].

Системное применение противолейкозных препаратов при специфическом поражении ЦНС оказалось неэффективным, вероятно, вследствие того, что эти препараты не могли проникать через гемато-энцефалический барьер. Для преодоления этого применяется введение метотрексата непосредственно в спинномозговую жидкость, но эффективность этого метода оказалась незначительной [33, 67].

Проблема продления жизни больных острым лейкозом, таким образом, связана и с проблемой лечения специфических поражений ЦНС.

Описанные выше особенности НАМ, а также обнаруженная в эксперименте высокая активность по отношению к менингеальным формам лейкоза L-1210, явились стимулом для изучения эффективности этих препаратов при остром лейкозе.

Уже при первом клиническом изучении БХНМ препарат был применен у 9 больных острым лимфобластным лейкозом, из них у 5 была менингеальная форма лейкоза. Препарат вводили *per os* в дозах 15—150 мг/м². Гематологической ремиссии не было получено ни в одном случае, однако все проявления специфического поражения ЦНС исчезли у всех больных [68]. При аутопсии двух больных, умерших через 2 мес после лечения БХНМ, лейкемической инфильтрации мозговых оболочек не обнаружено.

Эти наблюдения послужили основанием для дальнейшего изучения НАМ при остром лейкозе. К настоящему времени наиболее изучена при этом заболевании БХНМ.

Исследование возможностей применения БХНМ при лечении больных острым лейкозом велось в двух направлениях. На первых этапах изучения препарата исследовали его эффективность в качестве единственного лечебного средства как для индукции гематологической ремиссии, так и для лечения специфического лейкемического поражения ЦНС. Вторым направлением были поиски возможности включения БХНМ в современные сложные схемы непрерывной химиотерапии острых лейкозов.

Попытки индукции ремиссий с помощью БХНМ были, как правило, неудачными [10, 25], за исключением случаев индукции ремиссии при поражении ЦНС.

Применение БХНМ по 150 мг/м² ежедневно в течение 3 дней у 6 детей с менингеальной формой острого лимфобластного лейкоза привело к клиническому улучшению и уменьшению числа лейкемических клеток в спинномозговой жидкости у 3 больных. Улучшение наступило через 7—14 дней после начала лечения и длилось 4—22 мес. Больные, леченные без эффекта, ранее получали интратекально метотрексат [69]. Аналогичные результаты получены в работе [70], где в результате применения БХНМ наблюдалась нормализация цитоза спинномозговой жидкости у двух детей с острым лимфобластным лейкозом с менингеальным синдромом. У обоих больных, погибших через 2 мес после лечения, при аутопсии не обнаружено лейкемической инфильтрации мозговых оболочек. О возможности получения положительного результата при лейкемической инфильтрации ЦНС сообщали также в работе [71].

Стандартным методом поддержания ремиссии при лейкемическом поражении ЦНС считается интратекальное введение метотрексата. В тех случаях, когда ремиссии вызваны также введением метотрексата в спинномозговую жидкость, поддерживающее лечение с помощью этого препарата оказалось более эффективным, чем с помощью БХНМ.

Применение БХНМ не увеличило длительности ремиссии по сравнению с больными, вообще не получавшими поддерживающего лечения (в среднем 96 и 112 дней соответственно) или получавшими метотрексат (472 дня) [67].

Совместное действие БХНМ с цитозин-арабинозидом для индукции ремиссий при остром лимфобластном лейкозе взрослых оказалось неэффективным. При остром миелобластном и моноцитарном лейкозе эта комбинация незначительно превосходила эффективность одного цитозин-арабинозида [25, 72].

Сочетание ЦГНМ с цитозин-арабинозидом привело к полной ремиссии длительностью в среднем 40 нед у 18 из 61 больного острым лейкозом (30%), тогда как лечение цитозин-арабинозидом и тиогуанином дало ремиссию у 23% больных (16 из 69), длительность ремиссии в среднем была 18 нед [16].

Применение НММ у небольшого числа больных острым лейкозом оказалось неэффективным [2, 26].

МеЦГНМ была неэффективна для индукции ремиссии у 3 больных острым лейкозом [18]; применение стрептозотоцина у 9 больных также не сопровождалось положительными результатами [28].

Результаты применения НАМ для поддерживающего лечения больных острым лейкозом противоречивы. В ряде случаев включение БХНМ в различные схемы поддерживающего лече-

ния приводило к более длительным ремиссиям по сравнению с поддерживающим лечением без БХНМ [30].

Хорошие результаты получены при применении БХНМ (200 мг/м^2) и циклофосфана (1000 мг/м^2) каждые 8 нед у 29 больных с острыми нелимфобластными лейкозами для поддержания полных ремиссий, вызванных повторными курсами цитозин-арабинозида, циклофосфана и винкристина [73]. Средняя длительность жизни больных, получавших это поддерживающее лечение была 92 нед, причем некоторые больные живут более 144 нед. Средняя длительность жизни подобных больных при поддерживающем лечении другими препаратами составляла 52—86 нед. Эта комбинация, помимо своей эффективности, имеет еще ряд преимуществ, среди которых можно отметить простоту лечения (1 инъекция на 8 нед), относительно небольшое угнетение гемопоэза, сохранение чувствительности к первоначальному лечению, которое может быть с эффектом повторено при прогрессировании процесса. Некоторые авторы улучшения результатов при применении БХНМ для поддерживающего лечения не отметили [74]. Лечение больных хроническими лейкозами с помощью НАМ неэффективно [18, 25, 26].

Злокачественная меланома. Лекарственное лечение диссеминированных форм меланобластомы относится к одной из наиболее трудных задач противоопухолевой химиотерапии. Меланома малочувствительна к большинству современных противоопухолевых препаратов, объективного улучшения удается добиться лишь у отдельных больных, получаемые эффекты обычно кратковременны.

НАМ, как и другие новые противоопухолевые вещества, довольно широко изучали при злокачественной меланоме. Полученные в ряде работ результаты показали определенную эффективность этих препаратов. Особенно большие надежды возлагались на МеЦГНМ в связи с высокой активностью препарата при перевиваемой меланоме В-16, которая имеет ряд кинетических характеристик, близких к опухолям человека.

В специальном исследовании эффективности МеЦГНМ при меланоме препарат был применен у 28 больных [75]. Объективный эффект отмечен у 6 больных (21%), в том числе у больного с поражением кожи, лимфатических узлов и легких наступила полная регрессия всех опухолевых образований, продолжавшаяся 18 мес. У 5 больных достигнута частичная регрессия опухоли; ремиссии длились 2—4,5 мес. Успешное лечение сопровождалось заметным увеличением выживаемости — средняя длительность жизни больных, леченных с эффектом, была 10,6 мес, тогда как больные, леченные без эффекта, прожили в среднем 4,2 мес.

Ближкие результаты получены в работе [76]. Из 19 леченных больных регрессия опухоли отмечена у 5, причем эффект выражался не только в исчезновении кожных и подкожных пораже-

ний, метастазов в лимфатических узлах и в легких, но и метастазов в печени, которые обычно рефрактерны к терапии. Ремиссии длились 4—8 мес. В специальном рандомизированном исследовании обнаружена равная эффективность при диссеминированной меланоме МеЦГНМ и сочетания ДТІС с винкристином, которое считается одним из наиболее активных по отношению к меланобластоме. Полученные результаты дали

Таблица 71

Эффективность НАМ при злокачественной меланоме

Препарат	Число больных	Лечение с объективным эффектом		Объективный эффект, %	Источник
		полная регрессия	частичная регрессия		
НММ	21	0	0	0	[26,78]
БХНМ	274	4	52	20,4%	[5, 6, 7, 9, 77, 79, 81]
ЦГНМ	202	2	22	11,9%	[14, 16, 39, 40, 43, 77, 80, 81]
МеЦГНМ	146	4	16	13,7%	[19, 75—77]

основание отнести МеЦГНМ к числу препаратов, эффективных при этой опухоли [76].

Среди ряда хлорэтильных производных нитрозомочевины МеЦГНМ наиболее активна при меланоме и, возможно, не уступает по активности ДТІС, который считается в настоящее время самым эффективным при монокимиотерапии меланомы [77]. Эффективность лечения сильно зависит от дозы МеЦГНМ. При применении немного меньших доз (150—200 мг/м²) случаи эффективного лечения наблюдали значительно реже (0—5%).

Этим, вероятно, объясняется, что по суммированным данным разных клиник, МеЦГНМ в среднем оказывается эффективной при диссеминированной меланоме лишь в 13% случаев (табл. 71).

Обобщенные данные указывают на несколько большую активность БХНМ, которая приводит к объективной регрессии опухоли в среднем в 20% случаев (табл. 71). Ремиссии, полученные с помощью БХНМ, могут быть весьма длительными — до 18—34 мес [81]. В случаях, устойчивых к ДТІС, лечение БХНМ может сопровождаться объективным улучшением [81].

ЦГНМ уступает по эффективности и БХНМ и МеЦГНМ, положительный результат наблюдается у 8—12% больных. Длительность ремиссий у этих больных не превышает 2—4 мес [10, 77].

Объективного улучшения от применения НММ при злокачественной меланоме не наблюдали. Лечение стрептозотоцином сопровождалось кратковременной (1,0—1,5 мес) частичной регрессией опухоли у 2 из 16 больных [22].

Существенным преимуществом НАМ перед ДТІС является возможность получения с их помощью клинического улучшения у больных с метастазами меланомы в мозг, при которых ДТІС неэффективен [81].

НАМ могут, по-видимому, с успехом применяться не только при метастазах в мозг, но и при первичной меланоме глаз. О подобной возможности свидетельствует наблюдение, в котором лечение БХНМ по 60 мг/м² в неделю в течение 6 нед у больной с меланомой цилиарного тела обоих глаз и с метастазом в мозг привело к полной регрессии первичных и метастатической опухолей. Ремиссия длилась 22 мес. Следует отметить, что предшествующая телегамматерапия в суммарной дозе 2800 рад у этой больной оказалась неэффективной [79].

Рак желудка-кишечного тракта. Эффективность НАМ при злокачественных опухолях желудка-кишечного тракта невелика. Положительные результаты от лечения этими препаратами наблюдались относительно редко, были, как правило, незначительными и непродолжительными. Следует, однако, заметить, что в большинстве исследований активность НАМ в отношении опухолей желудка-кишечного тракта изучали в процессе проведения второй фазы клинической апробации препаратов, при изучении спектра их противоопухолевого действия, т. е. эти работы не были направлены специально на изучение эффективности препаратов при опухолях органов пищеварения.

Исключение составляет серия работ [82—86], в которых детально изучена эффективность НАМ только при раке желудка-кишечного тракта. БХНМ применяли в суммарных дозах 250—375 мг/м², вводя ее в течение 3—6 дней, ЦГНМ давали больным однократно по 130 мг/м², МеЦГНМ применяли также однократно в дозе 200—250 мг/м². Результаты лечения оценивали через 8 нед после его начала.

В табл. 72 суммированы данные, полученные в этих исследованиях.

Как видно, НАМ в определенном числе случаев оказались эффективными при раке толстой и прямой кишки, желудка, поджелудочной железы, причем при раке кишечника объективный эффект наиболее часто наблюдали при применении МеЦГНМ, а при раке желудка — при лечении БХНМ.

Ремиссии у больных раком кишечника были наиболее длительными при применении МеЦГНМ (в среднем 5,5 мес), несколько меньше при лечении ЦГНМ (4,5 мес) и еще меньше при использовании БХНМ (2 мес). Следует также отметить, что полная регрессия опухоли наступила у 4 (10%) больных раком толстой и прямой кишки, леченных МеЦГНМ, у одного больного

Таблица 72

Эффективность НАМ при злокачественных опухолях желудочно-кишечного тракта [82—86]

Карцинома	БХНМ		ЦГНМ		МеЦГНМ	
	число больных	число больных, леченных с эффектом	число больных	число больных, леченных с эффектом	число больных	число больных, леченных с эффектом
толстой и прямой кишки	64	8 (12,5%)	75	7 (10%)	40	7 (17,5%)
желудка	33	6 (18,5%)	11	0	2	1
поджелудочной железы	31	0	4	2	2	1
желчного пузыря	3	2	2	0	—	—
печени	3	0	1	0	—	—
желчных путей	1	0	2	0	—	—
пищевода	—	—	10	1	—	—
тонкой кишки	—	—	2	0	—	—
Карциноид	2	0	—	—	—	—
Инсулома	—	—	1	0	2	1

среди леченных ЦГНМ, и ее не было ни в одном случае применения БХНМ.

Заключение о значительной активности МеЦГНМ при раке кишечника в других работах не подтвердилось. По сводным данным ряда клиник (табл. 73), объективный эффект при этих опухолях отмечен лишь у 13% больных, леченных МеЦГНМ, причем полная регрессия опухоли наступила только у единичных больных. Применение МеЦГНМ у больных раком желудка и раком поджелудочной железы практически неэффективно [19].

Суммированные данные разных клиник показывают, что эффективность ЦГНМ при раке толстого кишечника и желудка сопоставима с эффективностью МеЦГНМ. Несколько более высокие результаты достигаются при лечении ЦГНМ больных раком поджелудочной железы и пищевода, что, впрочем, требует подтверждения, так как показано лишь в единичных случаях [91, 92].

НММ была применена лишь у 8 больных раком желудка. Объективное улучшение, выразившееся в основном в уменьшении метастатических лимфатических узлов, наблюдалось у двух больных [26]. В одном из этих случаев объективный эффект сопровождался выраженным субъективным и симптоматическим улучшением, вплоть до полного исчезновения на 4 мес выраженного симптомокомплекса распространенного рака желудка [4].

Стрептозотонин при большинстве опухолей желудочно-кишечного тракта практически неэффективен, за исключением инсу-

Таблица 73

Результаты применения ЦГНМ и МеЦГНМ при раке желудочно-кишечного тракта

Карцинома	ЦГНМ		МеЦГНМ		Источник
	число больных	число больных, леченных с эффектом	число больных	число больных, леченных с эффектом	
толстой и прямой кишки	254	20 (12,9%)	343	27 (12,7%)	[16, 19, 21, 87—90]
желудка	58	1 (1,7%)	74	4 (5,4%)	[15, 16, 19, 21, 87, 89, 90]
поджелудочной железы	19	3 (15,8%)	48	3 (6,3%)	[16, 19, 21, 87, 89]
пищевода	19	2 (10,5%)	—	—	[16]

ломы и карциноидных опухолей. В отдельных случаях удается получить частичную регрессию опухоли при раке толстого кишечника и аденокарциноме поджелудочной железы [88, 93—95].

По отношению к злокачественному карциноиду стрептозотоцин обладает определенной активностью, причем исчезновение или уменьшение опухоли сопровождается и ликвидацией карциноидного синдрома. Следует отметить, что препарат может оказаться эффективным в тех случаях, когда предшествующее лечение другими лекарственными средствами (5-фторурацилом, винкристином, циклофосфаном) было безрезультатным [94, 96].

В настоящее время стандартными препаратами для лечения аденокарцином желудочно-кишечного тракта считаются фторированные пиримидины (5-фторурацил, 5-фтор-2'-дезоксифуридин), которые при раке толстого кишечника и желудка дают объективный эффект у 20—25% больных [97]. Возникает вопрос о соотношении эффективности при этих опухолях фторированных пиримидинов и НАМ.

В табл. 74 приведены результаты сравнительного рандомизированного анализа эффективности 5ФУ с БХНМ и МеЦГНМ [86]. БХНМ при всех наиболее часто встречающихся раках желудочно-кишечного тракта уступает 5-фторурацилу как по частоте объективного улучшения, так и по его продолжительности. Требуемым дальнейшим изучением является факт равной (даже несколько большей) эффективности МеЦГНМ по сравнению с 5ФУ при раке толстого кишечника [86], причем в отдельных случаях удается добиться с помощью МеЦГНМ улучшения у больных, рефрактерных к 5-фторурацилу [99]. О преимуществах 5-фторурацила перед НАМ, в частности ЦГНМ, при раке толстого кишечника говорит также эффективность применения 5-фторурацила у больных, леченных перед этим ЦГНМ без эффекта [86].

Таблица 74

Сравнительная эффективность 5-фторурацила, БХНМ и МеЦГНМ при некоторых опухолях желудочно-кишечного тракта

Карцинома	Препарат	Число больных			Средняя длительность ремиссии, мес.
		леченных	с полной регрессией опухоли	с частичной регрессией опухоли	
толстого кишечника	БХНМ	24	0	3 (12,5%)	1,8
	5ФУ	25	2 (8%)	6 (24%)	6,4
	МеЦГНМ	19	—	5 (26%)	—
желудка	5ФУ	21	—	3 (14%)	—
	БХНМ	27	1 (4%)	4 (15%)	4,7
поджелудочной железы	5ФУ	27	4 (15%)	8 (29,5%)	5,3
	БХНМ	25	0	—	—
	5ФУ	29	2 (7%)	4 (14%)	5,0

Эти данные можно рассматривать как одно из доказательств отсутствия перекрестной резистентности между этими препаратами. Об этом свидетельствует и примерно одинаковая эффективность НАМ у больных раком толстого кишечника, ранее леченных 5ФУ, и у нелеченных больных, в то время как наблюдается существенное снижение эффективности НАМ у больных, ранее леченных митомицином С и камптотецином [86].

Полученные данные позволяют считать, что НАМ обладают определенной активностью по отношению к некоторым опухолям желудочно-кишечного тракта. В большом обзоре, специально посвященном химиотерапии рака желудка, было отмечено, что из достаточно изученных при этом заболевании лекарственных средств только три препарата — 5-фторурацил, митомицин С и БХНМ — обладают активностью, которая может быть полезной с точки зрения клинициста [98].

К опухолям желудочно-кишечного тракта относится также инсулома, но ввиду выраженной активности и некоторых особенностей действия при этой опухоли в основном стрептозотоцина представляется целесообразным проанализировать эффективность НАМ при инсуломах специально.

Злокачественная инсулома. Одним из направлений поиска эффективных противоопухолевых препаратов является изучение веществ, вызывающих избирательное повреждение определенных нормальных тканей. Отправным положением для этого направления служит тот факт, что в ряде случаев опухолевые клетки сохраняют морфологические и биохимические особенности исходной нормальной ткани и поэтому могут оказаться чувствительными к воздействиям, токсическим для нормальных клеток. По сути дела уже первое клиническое применение азотиринов основывалось на предположении, что эти соединения, резко угнетающие нормаль-

ное кроветворение, могут оказаться эффективными при лечении злокачественных заболеваний кроветворной ткани — лейкозах, лимфомах.

Особенно плодотворным такой подход оказался по отношению к гормонально-активным опухолям, т. е. опухолям, секретирующим гормоны, характерные для пораженного органа и в норме.

Обнаружение диабетогенных свойств стрептозотоцина, связанных с избирательным поражением β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы, вполне естественно, привело к мысли применить этот препарат при злокачественных инсуломах, которые клинически проявляются в основном резко выраженной гипогликемией, вплоть до тяжелых гипогликемических кризов, что связано с повышенной секрецией инсулина клетками опухоли.

Первое сообщение об успешном применении стрептозотоцина при злокачественной инсуломе появилось в 1968 г. [100]. Больную 59 лет с метастазами злокачественной инсуломы в печень, с явлениями частых тяжелых приступов гипогликемии лечили стрептозотоцином (по 1,5—4 г каждые 3—4 нед). В результате лечения прекратились приступы гипогликемии, резко уменьшились метастазы в печени (по данным скенирования), нормализовался уровень сахара, инсулина, гастрин и глюкогена в плазме крови, нормализовалась желудочная секреция. Больная прибавила в весе 11 кг и к моменту опубликования данных 9 мес находилась в состоянии ремиссии.

В 1969 г. было сообщено еще о 5 больных злокачественной инсуломой, леченных стрептозотоцином (по 1—4 г каждые 1—3 нед), причем некоторые больные получали препарат внутривенно, путем катетеризации а. coeliacae. У трех больных был отмечен выраженный положительный эффект, заключающийся в нормализации уровня сахара крови, понижении содержания инсулина в плазме крови, в уменьшении размеров метастазов в печени. Двое из этих больных ранее безуспешно лечились другими противоопухолевыми препаратами. Однако у двух больных улучшения от применения стрептозотоцина не отмечено [27].

По суммированным данным разных клиник, стрептозотоцин применен для лечения 74 больных злокачественной метастатической инсуломой, объективное улучшение достигнуто у 41 (55,4%), в том числе у 20 (27%) получена полная ремиссия, у 21 (28,4%) — частичная. Ремиссии продолжались от 2 мес до 2 лет, в среднем около 1 года.

Лечение стрептозотоцином эффективно в ряде случаев при опухолях, резистентных к таким препаратам, как 5-фторурацил, диазоксид, кортикостероиды, а также при прогрессировании процесса после предшествующего успешного лечения этими препаратами [101].

При чувствительных опухолях применение стрептозотоцина приводит к быстрому снижению количества инсулина и повыше-

нию уровня глюкозы в плазме крови. Эти эффекты даже без поддерживающего лечения могут быть весьма длительными (рис. 28) [102]. Симптоматическое улучшение и нормализация биохимических показателей отражают изменения со стороны опухоли, которые заключаются в исчезновении первичной опухоли в поджелудочной железе и ее метастазов, в том числе в печени [22, 103—105].

В ряде случаев успешного лечения при нормализации уровня глюкозы крови содержание инсулина в плазме крови оставалось повышенным. Это несоответствие объясняют тем, что при применении стрептозотоцина может продолжаться выработка опухолью инсулина, но биологически он неактивен [106].

Цитотоксические свойства стрептозотоцина обусловлены НММ, избирательность действия на β -клетки, возможно, связана с наличием в его молекуле также глюкозы, которая может выступать в роли специфического носителя активной цитотоксической группы [107, 108]. Справедливость этого предположения может быть проверена, по крайней мере частично, изучением активности при инсуломах НММ. Однако до настоящего времени НММ для лечения этих больных не применялась.

Стрептозотонин эффективен как при инсуломах, протекающих с повышенной секрецией гормонов, так и при нефункционирующих инсуломах, не сопровождающихся гиперинсулинизмом и гипогликемией. По обобщенным данным, при лечении стрептозотоцином 39 больных функционирующей инсуломой полная нормализация уровня инсулина и глюкозы достигнута у 10, уменьшение этих показателей на 50% — у 11. При этом в одном случае имело место полное исчезновение пальпируемой опухоли, а в 6 случаях размеры опухоли уменьшились более чем на 50%. Среди 8 случаев нефункционирующей инсуломы опухоль исчезла полностью в одном, уменьшилась — в двух случаях [104].

При лечении функционирующих инсулом улучшение биохимических показателей наступает в среднем через 17 дней после начала лечения при суммарной дозе препарата в среднем 2 г/м². Максимальный эффект достигается к 35 дню, при этом суммарная доза стрептозотоцина составляет около 4 г/м².

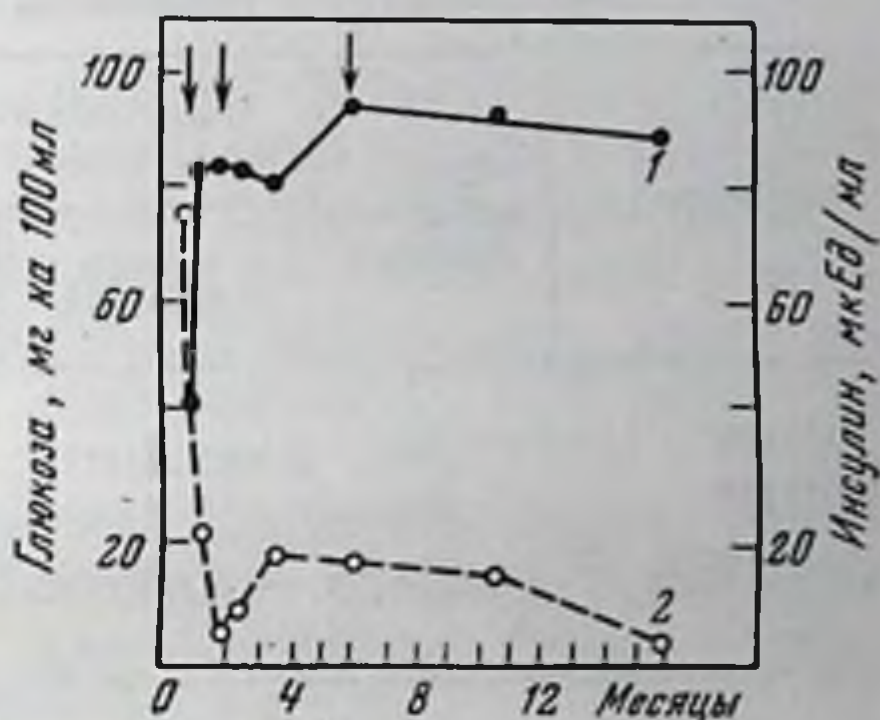


Рис. 28. Изменение содержания глюкозы (1) и инсулина (2) в плазме крови больного инсуломой при лечении стрептозотоцином

Стрелками показано введение стрептозотоцина

Эффективное лечение приводит к существенному продлению жизни; средняя длительность жизни больных, имевших ремиссию, равнялась 42 мес (при полной ремиссии — 88 мес), тогда как больные, леченные без эффекта, жили в среднем 17 мес [105].

Эффективность других НАМ при инсуломе практически не изучена. Они применялись лишь у единичных больных, в процессе проведенной второй фазы клинического изучения; заметных положительных результатов получено не было.

Таблица 75

Эффективность различных НАМ при раке молочной железы

Препарат	Число леченных больных	Число больных, леченных с объективным эффектом		Объективный эффект, %	Источник
		полная регрессия	частичная регрессия		
БХНМ	104	1	24	24	[7, 9, 109—111]
ЦГНМ	165	1	19	12,7	[14—16, 112, 113]
МеЦГНМ	121	0	5	4,1	[19, 21, 113, 114]

Рак молочной железы. Рак молочной железы относится к числу злокачественных опухолей, при которых с помощью современных химиотерапевтических и гормональных препаратов удается добиться у ряда больных существенного улучшения состояния, регрессии опухоли и продления жизни. Однако эти эффекты, как правило, имеют временный характер, а кроме того, у значительного числа больных опухоли резистентны к имеющимся средствам. В связи с этим, а также вследствие большой распространенности рак молочной железы является одной из обязательных опухолей, на которых изучается эффективность всех новых противоопухолевых препаратов.

НАМ относительно малоэффективны при раке молочной железы и существенно уступают другим препаратам. Результаты, полученные в разных исследованиях, суммированы в табл. 75, из которой видно, что среди изученных НАМ наиболее эффективна при раке молочной железы БХНМ, значительно менее активна ЦГНМ и практически неэффективна МеЦГНМ. Следует, однако, заметить, что почти во всех случаях у больных имел место значительно распространенный опухолевый процесс, большинство из них ранее получали неоднократно лечение различными препаратами, что, конечно, не могло не сказаться на эффективности НАМ.

По сводным данным [10], применение БХНМ было эффективным у 16 из 76 больных (21%), применение ЦГНМ — у 10 из 69 (15%).

БХНМ наиболее эффективна при метастазах рака молочной железы в коже и мягких тканях (регрессия опухоли в 52% случаев), менее активна при метастазах в легкие (21%) и значительно хуже результаты при метастазах в кости и печень (12%). Ремиссии у больных, леченных БХНМ, длились в среднем 3 мес [110].

При применении ЦГНМ ремиссии длились 2—5 мес (в среднем 3 мес), при лечении МеЦГНМ — 1,5 мес [15, 113].

Приведенные данные показывают, что при раке молочной железы НАМ уступают как стандартным препаратам (тиоТЭФ, циклофосфан, 5-фторурацил), так и некоторым новым (адриамицин).

В специальном рандомизированном исследовании показана большая эффективность адриамицина по сравнению с ЦГНМ и МеЦГНМ. Среди 40 больных, леченных адриамицином по 60—75 мг/м² каждые 3 нед, регрессию опухоли наблюдали у 38% (у 2 больных была полная регрессия), длительность ремиссии составляла в среднем 7 мес. При применении ЦГНМ ремиссии получены у 14% больных, при применении МеЦГНМ — у 3% [113]. О преимуществах адриамицина свидетельствуют также различия в длительности жизни больных — средняя продолжительность жизни после лечения адриамицином была 7 мес, ЦГНМ и МеЦГНМ — 4,5 и 3 мес соответственно.

Перекрестной резистентности между изученными НАМ и адриамицином, по-видимому, нет. Из 16 больных, леченных ЦГНМ или МеЦГНМ без эффекта, последующее применение адриамицина было эффективным у 3, а среди 8 больных, леченных ЦГНМ и МеЦГНМ после адриамицина, объективное улучшение отмечено у двух больных [113]. Сочетание 5-фторурацила, циклофосфана, винкристина и преднизолона оказалось эффективным у 5 из 17 больных, ранее без успеха леченных МеЦГНМ [114].

Несмотря на способность НАМ проникать через гемато-энцефалический барьер, применение ЦГНМ и МеЦГНМ у больных раком молочной железы с метастазами в мозг было безрезультатным. Однако отмечено, что у больных раком молочной железы, леченных этими препаратами, при прогрессировании процесса метастазирования в мозг не появлялось, что расценивается как основание для включения НАМ в различные схемы полихимиотерапии больных этими опухолями.

НММ и стрептозотоцин применяли лишь у единичных больных раком молочной железы, положительного эффекта в этих случаях не наблюдали [22, 26, 94].

Множественная миелома. Стандартным препаратом для лечения больных множественной миеломой считается сарколизин (мелфолан), который часто сочетается с преднизолоном. В последние годы обычно применяется циклофосфан, не уступающий сарколизину по эффективности, но менее токсичный.

Среди НАМ при множественной миеломе сравнительно подробно изучена лишь БХНМ. По суммированным данным разных

клиник, из 31 больного объективный эффект от БХНМ наблюдали у 12 (39%), что по эффективности не уступает мелфолану [25].

В специальном сравнительном исследовании установлено, что применение БХНМ в качестве единственного лечебного средства малоэффективно, но сочетание ее с преднизолоном не уступает по эффективности стандартному сочетанию мелфолана с преднизолоном (табл. 76) [10].

При сочетании с преднизолоном эффективность БХНМ оказалась одинаковой как при редком введении больших доз, так и при еженедельном применении меньших дозировок.

Таблица 76

Сравнительная эффективность БХНМ и мелфолана при множественной миеломе [10]

Препарат	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Объективный эффект, %
БХНМ (по 150 мг/м ² каждые 6 нед)	35	4	11
БХНМ (по 150 мг/м ² каждые 6 нед) + преднизолон	41	16	39
БХНМ (еженедельно) + преднизолон	18	7	39
Мелфолан + преднизолон	42	17	40
Преднизолон	27	5	19

Другие НАМ (НММ, ЦГНМ) были изучены лишь на единичных больных и без эффекта.

Саркома Капоши. Большое клиническое значение имеет обнаружение высокой активности БХНМ при саркоме Капоши. Хотя эта опухоль считается чувствительной к различным противоопухолевым препаратам, особенно к актиномицину Д, тем не менее у многих больных имеется резистентность к этим препаратам, особенно при прогрессировании процесса после первоначально успешной химиотерапии.

Среди 21 больного, леченного БХНМ, объективный эффект отмечен у 9, в том числе у 4 больных были полные ремиссии длительностью 1—2 года. Эффективность БХНМ особенно выражена у ранее нелеченных больных — из четырех случаев в трех получены полные ремиссии, продолжавшиеся более 1,5—2 лет. Среди больных, ставших резистентными к актиномицину Д, объективное улучшение от применения БХНМ отмечено в 29% случаев [115]. БХНМ оказалась более эффективна при саркоме Капоши, чем блеомицин, полученные ремиссии были более выраженными и продолжительными.

Гипернефрома. Результаты изучения НАМ при гипернефroidных опухолях почки приведены в табл. 77. У отдельных боль-

ных применение БХНМ и ЦГНМ привело к объективному улучшению, однако ремиссии, полученные с помощью БХНМ, были весьма незначительными и кратковременными [5]. Положительные результаты от применения ЦГНМ получены только в одном исследовании [116], в котором обнаружено, что ЦГНМ в обычных дозах оказалась эффективной у 4 из 20 больных с диссеминированной гипернефромой. Эффект выражался в уменьшении костных и легочных метастазов, частичной репарации костных поражений, нормализации уровня кальция крови. Улучшение отмечалось через 4—18 нед после начала лечения, ремиссии длились 3—6 мес.

Таблица 77

Эффективность НАМ при гипернефроидном раке почки

Пр парат	Число леченных больных	Число боль- ных, леченных с эффектом	Объективный эффект, %	Источник
БХНМ	14	2	14,3	[5, 25]
ЦГНМ	55	4	7	[14—16, 40, 116]
MeЦГНМ	42	0	—	[19, 21]
НММ	2	0	—	[26]

Эти результаты заслуживают внимания, поскольку имеющиеся в настоящее время противоопухолевые препараты практически не эффективны при гипернефроме. Гормонотерапия с помощью прогестеронов, андрогенов в ряде случаев дает положительные результаты, однако при этом не происходит репарации костной ткани при метастазах в кости.

Представляется целесообразным изучение эффективности сочетания ЦГНМ с гормональной терапией, хотя в других исследованиях эффективность ЦГНМ при гипернефроме пока не подтверждена.

Рак половых органов. Эффективность НАМ изучали в основном при раке яичников и раке шейки матки. Данные нескольких клиник представлены в табл. 78.

Все изученные НАМ обладают некоторой активностью при наиболее распространенных опухолях женских половых органов, причем у отдельных больных была получена полная регрессия отдаленных метастазов как рака яичников, так и рака шейки матки [15, 25]. Во всех случаях НАМ применяли у больных с далеко зашедшим опухолевым процессом, ранее многократно леченных облучением и алкилирующими препаратами. Полученные ремиссии длились от 1 до 12 мес.

При лечении опухолей мужских половых органов НАМ применяли при раке яичка и раке предстательной железы. БХНМ обусловила частичную регрессию опухоли у 4 из 8 больных

раком яичка. МеЦГНМ была неэффективна у 6 больных. У больных раком предстательной железы лечение БХНМ дало объективное улучшение в одном из семи случаев, лечение МеЦГНМ — в двух из 22 [19, 25].

Опухоли головы и шеи. Активность НАМ при этих опухолях невелика. Объективный эффект наблюдали при применении БХНМ у 4 из 25 больных (16%) [25], при лечении ЦГНМ — у 4 из 50 (8%) [16], при применении МеЦГНМ — у 6 из 53 (11%) [19]. Ремиссии были только частичными и кратковременными.

Таблица 78

Эффективность НАМ при раке яичников и раке шейки матки

Препарат	Число леченных больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Объективный эффект, %	Рак яичников		Рак шейки матки		Источник
				Число леченных больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Число леченных больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	
БХНМ	20	1	5	3	3	—	[5, 7, 9, 25, 117]	
ЦГНМ	22	7	32	5	1	20	[14—16]	
МеЦГНМ	25	0	—	32	4	13	[19]	
НММ	2	1		8	1	12,5	[26]	

Саркомы. Изучали в основном различные мягкотканые саркомы. Полученные результаты говорят о незначительной эффективности НАМ. Среди 25 больных, леченных БХНМ, частичная регрессия опухоли отмечена у одного [25], при применении ЦГНМ — также у одного из 22 больных [16], при лечении МеЦГНМ — у пяти из 90 больных [19].

Таким образом, клинические данные свидетельствуют о наличии у НАМ противоопухолевой активности по отношению к широкому спектру опухолей человека. Наиболее чувствительны к этим препаратам злокачественные лимфомы, особенно лимфогранулематоз, рак легкого, злокачественные опухоли головного мозга, инсуломы, менее чувствительны меланома, аденокарциномы желудочно-кишечного тракта, множественная миелома и некоторые другие. Имеются определенные различия в эффективности разных НАМ при некоторых опухолях, что, очевидно, связано с различиями в их химическом строении, фармакокинетике и механизмах действия. При лимфогранулематозе и недифференцированных формах рака легкого наиболее эффективна НММ, хлорэтильные производные нитрозомочевины обладают более выраженной активностью по отношению к опухолям моз-

га, меланоме, раке желудочно-кишечного тракта, стрептозотин эффективен при инсуломе.

Для других опухолей, при которых эти препараты пока применяли у относительно небольшого числа больных, полученные данные должны быть уточнены.

Несомненно, что широкое применение НАМ в клинической практике и расширение поисков новых эффективных препаратов среди химических соединений этого класса весьма целесообразны.

Особенности противоопухолевого действия НАМ, во многом отличающие эту группу химических соединений от препаратов других классов, свидетельствуют также и о целесообразности использования НАМ для целей полихимиотерапии.

Внедрение НАМ в клиническую практику существенно пополнит арсенал лекарственных средств для лечения злокачественных опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методические указания по первоначальному клиническому изучению новых противоопухолевых препаратов. М., 1966.
2. Корман Н. П. Клиническое изучение противоопухолевых свойств N-нитрозометилмочевины. Канд. диссертация. М., 1971.
3. Вермель А. Е., Корман Н. П., Магагина Г. Е., Раевский И. Г. Вопросы онкологии, 1974, 20, № 3, 8.
4. Вермель Е. М., Корман Н. П., Милонов Б. В., Евсеенко Л. С., Орлова Р. С. Вопросы онкологии, 1970, 16, № 5, 31.
5. De Vita V. T., Carbone P. P., Owens A. H., Gold G. L., Krant M. J., Edmonson J. Cancer Res., 1965, 25, p. 1, 1876.
6. Lessner H. E. Cancer, 1968, 22, 451.
7. March J. C., De Conti H. C., Hubbard S. P. Cancer Chemotherapy Repts., 1971, pt 1, 55, 599.
8. Young R. C., De Vita V. T., Serpick A. A., Canellos G. P. New England J. Med., 1971, 285, 475.
9. Ramirez G., Wilson W., Grage T., Hill G. Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 787.
10. Carter St. K. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 35.
11. Rege V. B., Owens A. H. Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 383.
12. Lessner H. E. Blood, 1967, 30, 890.
13. Anderson T., De Vita V. T., Young R. C. Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 761.
14. De Conti R. C., Hubbard S. P., Pinch P., Bertino J. R. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 1, 57, 201.
15. Hoogstraten B., Gottlieb J. A., Caoili E., Tucker W. G., Talley R. W., Hant A. Cancer, 1973, 32, 38.
16. Wasserman T. H., Slavik M., Carter S. K. Cancer Treatment Revs, 1974, 1, 131.
17. Selawry O., Hansen H. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1972, 13, 46.
18. Gailani S., Kutcher J. J. Med., 1973, 4, 209.
19. Wasserman T. H., Slavik M., Carter S. K. Cancer Treatment Revs, 1974, 1, 251.
20. Firat D., Tekuzman G. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 1, 59, 1021.
21. Trantum B. L., Haut A., Rivkin S. Cancer, 1975, 35, 1148.
22. Schein P. S., O'Connell M. J., Blom J., Hubbard S., Magrath J. T., Bergevin P., Wilrnik P., Liegler J. L., De Vita V. T. Cancer, 1974, 34, 993.

23. Clifford P., Singh S., Stjeernsward S., Klein G. *Cancer Res.*, 1967, 27, 2578.
24. Lessner H. E., Vogler W. R. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1974, pt 1, 58, 407.
25. Carter S. K., Schabel F. M., Broder L. E., Johnston T. P. *Advances Cancer Res.*, 1972, 32, 273.
26. Вермель Е. М., Корман Н. П. В кн.: Применение химических мутагенов в сельском хозяйстве и медицине. М., «Наука», 1973, с. 77.
27. Livingston R. B., Carter S. K. *Streptozolocin Chemotherapy fact sheet*, Bethesda, Md., NCI, 1969.
28. O'Connell, Wiernik P. H. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1975, 59, 443.
29. Переводчикова Н. И., Борисов В. И. *Журн. Всес. хим. об-ва им. Менделеева*, 1973, 18, № 6, 687.
30. Selawry O. S. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, pt 3, 4, 177.
31. Рак легкого (под ред. Б. Е. Петерсона). М., «Медицина», 1970, с. 123.
32. Переводчикова Н. И., Бычков М. Б., Корман Н. П. *Вестник АМН СССР*, 1972, № 10, 75.
33. *Cancer Medicine*. Holland J., Frei E. III. (Eds). Philadelphia, Lea and Febiger, 1973.
34. Пирогов А. И., Лунатов А. М. *Вестник АМН СССР*, 1967, № 5, 60.
35. Weiss W., Cooper D. A., Boncot K. P. *Ann. Internal. Med.*, 1969, 71, 59.
36. Muggia F. M., Krezoski S., Hansen H. H. *Cancer*, 1974, 34, 1683.
37. Корман Н. П., Вермель Е. М., Милонов Б. В., Орлова Р. С. *Вопросы онкологии*, 1971, 17, № 11, 35.
38. Olshin S., Siddiqui S., Firat D. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 1, 56, 259.
39. Hansen H. H., Selawry O. S., Muggia F. M., Walker M. D. *Cancer Res.*, 1971, 31, 223.
40. Broder L. E., Hansen H. H. *Europ. J. Cancer*, 1973, 9, 147.
41. Takita H., Brugarolas A. J. *Nat. Cancer Inst.*, 1973, 50, 49.
42. Eageen R. T., Carr D. T., Coles D. T., Dines D. E., Ritts R. E. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1974, pt 1, 58, 913.
43. Perloff M., Muggia E. M., Ackerman Ch. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1974, pt 1, 58, 421.
44. Takita H., Brugarolas A., Mittelman A., Vincent R. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, pt 3, 4, 257.
45. Ahmann D. L., Carr D. T., Coles D. T., Hahn R. G. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 1, 56, 401.
46. Kenis Y., Israel L. *Abstrs. 8th Intern. Congr. Chemotherapy*, Athens, 1973. N. Y., Bloomfield, 1973, C, N BVII-5.
47. Bodey G. P., Gottlieb J. A., Livingston R., Frei E. III. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, pt 3, 4, 227.
48. Эмануэль Н. М., Евсеенко Л. С. *Количественные основы клинической онкологии*. М., «Медицина», 1970.
49. Israel L., Chahinian P., Accard J. L., Choffel C., Combes P. F., Danrigal A., Germonty J., Miguerees J., Schaerer R., Sotto J. J. *Europ. J. Cancer*, 1973, 9, 789.
50. Wolf J. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 753.
51. Whittington R. M., Fairly J. L., Majima H., Patno M. E. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 1, 56, 739.
52. Kaong D. T., Wolf J., Hyde L., Lelen M. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1974, pt 1, 58, 359.
53. Koo A. H., Fewer D., Wilson C. B., Newton T. H. *J. Neurosurg.*, 1972, 37, 9.
54. Walker M. D. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, pt 3, 4, 21.
55. Wilson C. B., Boldrey E. B., Enot J. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1970, pt 1, 54, 273.
56. Walker M. D., Hurvit B. S. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1970, pt 1, 54, 263.
57. Fewer D., Wilson C. B., Boldrey E. B., Enot J. K. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 1, 56, 421.
58. Young R. C., Walker M. D., Canellos G. P., Schein P. S., Chabner B. A., De Vita V. T. *Cancer*, 1973, 31, 1164.

59. *Samuels M. L.* Cancer Bull., 1974, 26, 87.
60. *Heiss W. D., Krois J. A., Kühböck, W. P.* Abstrs 9th Intern. Congr. Chemotherapy. London, 1975, 131.
61. *Callian W. L., Brihaye J., Brochi G. S., Hildebraud J., Le Mevel B., Stroobandt G., Resche F.* Abstrs 9th Intern. Congr. Chemotherapy. London, 1975, SC-47.
62. *E. O. R. T. C., Brain Tumor Group.* Europ. J. Cancer, 1976, 12, 41.
63. *Armentrout S. A., Foltz E., Wermund H., Otis P. T.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 841.
64. *Walker M. D., Gehan E. A.* Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 713.
65. *Wilson N., Duffu P. E.* Neurology, 1974, 24, 465.
66. *Корман Н. П., Мороз Л. В.* Вопросы онкологии, 1975, 21, № 3, 98.
67. *Sullivan M. P., Vietti T. J., Haggard M. E., Donaldson M. H., Krall J. M., Gehan E. A.* Blood, 1971, 38, 680.
68. *Rall D. P., Ben M., McCarthy D. M.* Proc. Amer. Assoc. Cancer. Res., 1963, 4, 55.
69. *Iriarte P. V., Hananian J., Cortner J. A.* Cancer, 1966, 19, 1187.
70. *Nies B. A., Thomas L. B., Freireich E. J.* Cancer, 1965, 18, 546.
71. *Bering E. A., Wilson C. B., Norrele H. A. J.* Neurosurg., 1967, 27, 1.
72. *Hayes D. M., Ellison R. R.* Blood, Abstr., 1969, 34, N 6.
73. *Manaster J., Cowan D. H., Curtis J. E., Hasselback R., Bergsagel D. E.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 1, 59, 537.
74. *Holland J. F.* In: Treatment of Burkitt's tumor, UICC, Monograph Series, v. 8. J. H. Burchenal, D. B. Burkitt (Eds). Berlin, Springer — Verl., 1967, p. 163.
75. *Young R. C., Canellos G. P., Chabner B. A., Schein P. S., Brereton H. D., De Vita V. T.* Clin. Pharmacol. and Therap., 1974, 15, 617.
76. *Ahmann D. L., Hahn R. G., Bisel H. F.* Cancer, 1974, 33, 615.
77. *Luce J. K.* Cancer, 1972, 30, 1604.
78. *Мороз Л. В., Астрахан В. И., Переводчикова Н. И., Паршикова С. М.* Вестник АМН СССР, 1974, № 4, 44.
79. *Stark W. J., Rosenthal A. R., Mullins G. M., Green W. R.* Trans. Amer. Acad. Ophthalmol. and Otolaryngol., 1971, 75, 70.
80. *Ahmann D. L., Hahn R. G., Bisel H. F.* Cancer Res., 1972, 32, 2432.
81. *Hill G. J., Ruess R., Berris R., Philpott G. W., Parkin P.* Ann. Surg., 1974, 180, 167.
82. *Reitemeier R. J., Moertel C. G., Hahn R. G.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1966, 7, 59.
83. *Moertel C. G., Reitemeier R. J., Hahn R. G.* Clin. Pharmacol. and Therap., 1968, 9, 652.
84. *Moertel C. G., Schutt A. J., Reitemeier R. J.* Cancer Res., 1972, 32, 1278.
85. *Moertel C. G., Reitemeier R. J., Schutt A. J., Hahn R. G.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 551.
86. *Moertel C. G.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 27.
87. *Giles G. R., Hall R., Breunan T. G., Worthy T. S.* Brit J. Surg., 1974, 61, 950.
88. *Horton J., Mittelman A., Taylor S. G. III, Surkowitz L., Bennett J. M., Ezdinli E., Golsky J., Hanley J. A.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 1, 59, 333.
89. *Engstrom P. F., Catalano P. P., Greech R. H.* Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 285.
90. *Rossi A., Riva A., Bonadonna G.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 1, 59, 1161.
91. *Klassen D. J., Rapp E.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 667.
92. *Holyoke E. D., Chu T. M., Murphy G. P.* Cancer, 1975, 35, 830.
93. *Moertel C. G., Reitemeier R. J., Schutt A. J.* Cancer Chemotherapy Repts, 1971, pt 1, 56, 303.
94. *Stolinsky D. C., Sadoff L., Blaunwald J.* Cancer, 1972, 30, 61.
95. *Dulriest R. W. Jr., Huntington M. C., Massey W. H., Weiss A. J., Wilson W. L., Fletcher W. S.* Cancer, 1975, 35, 358.
96. *Hayes J. R., O'Connell N., O'Newill T., Fennelly J. J.* Gut, 1976, 17, 285.

97. Корман Д. Б. В сб. Итоги науки и техники. Онкология. М., ВИНТИ, 1973, 6, с. 47.
98. Comis R. L., Carter S. K. Cancer, 1974, 34, 1576.
99. Cedermark B. J., Didolkar M. S., Elias E. G. Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 235.
100. Murray-Lyon J. M., Eddleston A. L., Roger W., Brown M., Hogbin B. M., Beuneff A., Edwards J. C., Taylor K. W. Lancet, 1968, N 7574, 895.
101. Tolloczko T., Wasiutynsky A. Acta med. polon., 1974, 15, 69.
102. Cunningham G. R., Quickel K. E., Lebovitz H. E. J. Clin. Endocrinol. and Methbol., 1971, 33, 530.
103. Taylor S. G. III, Schwartz T. B., Lannini J. J. Arch. Intern. Med., 1970, 126, 654.
104. Schreiber P. H., De Koliren L. G., Arky R. A. Ann. Intern. Med., 1971, 74, 399.
105. Broder L. E., Carter S. K. Diabete. Amsterdam — New York, 1974, p. 714.
106. Stanley N. N., Marks V., Kreel L., Mc Intyre N. Brit. Med. J., 1970, N 5722, 562.
107. Schein P. S., Loflus S. Cancer Res., 1968, 28, 1501.
108. Nieschlag E., Wombacher H., Kroeger F. J., Habighorst L. V. Acta endocrinol., 1971, N 2, 67.
109. Ahmann D. L., Hahn R. G., Bisel H. F. Cancer Chemotherapy Repts, 1972, 56, 93.
110. Bonnet J. D., Brownlee R. W., Vaitkevicius V. K., Talley R. W. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 1, 57, 231.
111. Reyes E. S., Talley R. W., O'Bryan R. M., Gastesi R. A. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, p. 1, 57, 225.
112. Cunningham Th. J., Nemoto T., Rosner D., Knight E., Taylor S., Rosenbaum Ch., Horton J., Dao T. Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 677.
113. Gottlieb J. A., Rivkin S. E., Spigel S. C., Hoogstraten B., O'Bryan R. M., Delaney F. C., Singhakowinta A. Cancer, 1974, 33, 519.
114. Ahmann D. L., Bisel H. F., Hahn R. G. Cancer Res., 1974, 34, 27.
115. Vogel Ch. L., Lements D., Wanume A. K., Toya Th., Primack A., Kyalwaru S. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 1, 57, 325.
116. Mittelman A., Albert D. J., Murphy G. P. JAMA, 1973, 225, 32.
117. Jorgensen E. O., Molkasian G. D., Wibb M. J., Hahn R. C. Amer. J. Obstetr. and Gynecol., 1973, 116, 769.

КЛЕТОЧНАЯ КИНЕТИКА В ОПУХОЛЯХ
И ДЕЙСТВИЕ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Для последнего десятилетия характерно интенсивное развитие исследований клеточных механизмов действия противоопухолевых препаратов. В результате этого стала возможной количественная оценка действия противоопухолевых препаратов на клеточном уровне, открылись новые пути для научной разработки рациональной химиотерапии опухолей [1—13].

Такого рода исследования базируются на учении о клеточном цикле и результатах изучения кинетики клеточной пролиферации.

В основе разделения клеточного цикла на фазы лежит представление о дискретном характере синтеза ДНК в интерфазе. В соответствии с этим клеточный цикл, под которым понимают период жизнедеятельности клетки между двумя последовательными делениями, разбивают на четыре фазы. Пресинтетическая фаза G_1 — период между делением и началом синтеза ДНК. Фаза S , в течение которой происходит редупликация ДНК. Постсинтетическая фаза G_2 — период подготовки клеток к делению, ограниченный с одной стороны завершением процесса репликации ДНК, с другой — вступлением клетки в митоз. Митотическая фаза M — деление клетки.

Временно непролиферирующие, но сохранившие способность к размножению клетки находятся в так называемой фазе пролиферативного покоя G_0 . Этот общепринятый термин подразумевает отсутствие движения клеток по циклу, но не «биологический покой» вообще.

Применение метода автордиографии в онкологических исследованиях позволило получить сведения о клеточном цикле и кинетике клеточной популяции большинства опухолей животных, а также многих новообразований человека [2, 3, 9—11].

Параметры клеточной кинетики экспериментальных опухолей существенно различаются. Эти различия определяются такими факторами, как этиология, гистогенез, локализация, «возраст» опухоли, ее размеры, длительность пассирования, условия кровоснабжения и питания опухолевых клеток (центр или периферия опухолевого узла, солидная или асцитная форма

развития). Длительность клеточного цикла (T_c) большинства перевиваемых опухолей животных составляет 12—20 ч, увеличиваясь в отдельных случаях для спонтанных опухолей (или их первых генераций) до 35—50 ч. Продолжительность фазы G_1 — 2—12 ч (T_{G_1}). Фаза S более чем у 80% перевиваемых опухолей длится 7—11 ч (T_S), т. е. занимает основную часть цикла. Средняя продолжительность фазы G_2 (T_{G_2}) находится в интервале 0,5—7 ч [3].

Природа и интенсивность биохимических процессов, протекающих в клетке, изменяются на протяжении цикла [8]. Характер этих изменений весьма важен для химиотерапии, так как колебания чувствительности клеток к противоопухолевым препаратам в течение цикла определяются, вероятно, именно этими биохимическими изменениями.

В течение фазы S изменяется скорость синтеза основной и сателлитной ДНК и ДНК различных структур (хромосомы, ядрышко, гетерохроматин), нуклеотидный состав ДНК и интенсивность процессов транскрипции.

У большинства типов клеток в этот период происходит постепенное нарастание синтеза ДНК, и максимальная скорость синтеза достигается во второй половине фазы S [14]. Разные хромосомы, а следовательно, и разные гены, реплицируются в разные периоды фазы S . Общей закономерностью синтеза ДНК является то, что в начале фазы S происходит репликация только генетически активной ДНК эухроматина, а в конце фазы S — репликация только ДНК гетерохроматина, в которой генетическая информация подавлена. В середине фазы S синтезируются ДНК хроматина обоих типов.

Синтез РНК, в отличие от синтеза ДНК, происходит в течение всего клеточного цикла, прерываясь лишь в митозе [15]. Основные типы РНК синтезируются равномерно в течение цикла [16]. Скорость синтеза РНК возрастает в течение цикла, причем это возрастание происходит либо постепенно, либо резко при переходе клеток в фазу S [15, 16].

Существенны данные об изменении в течение цикла величины пула предшественников нуклеиновых кислот. Они важны для понимания особенностей торможения синтеза нуклеиновых кислот противоопухолевыми препаратами. Все дезоксирибонуклеозидтрифосфаты деградируют в митозе, не обнаруживаются в фазе G_1 и появляются перед началом синтеза ДНК, причем величина их пула возрастает в течение фазы S [17]. Соотношение величин пула предшественников варьирует в клетках разного типа. Во всех изученных видах клеток дезоксирибонуклеозидтрифосфаты в каждый момент фазы S содержатся в клетке в количестве, достаточном для синтеза лишь 1% и менее всей ДНК. Этим можно объяснить быстрое торможение синтеза ДНК при действии препаратов, влияющих на синтез предшественников.

Синтез белков, так же как и синтез РНК, происходит в течение всей интерфазы. Скорость синтеза различных белков изменяется в течение цикла. Так, гистоны синтезируются в основном в фазе S , а кислые белки хроматина — в основном в фазе G_1 [18]. Общий клеточный белок образуется с наибольшей скоростью в конце фазы S и в фазе G_2 и распадается во всех фазах, кроме середины и конца фазы S [19].

Таким образом, каждая фаза цикла характеризуется своими биохимическими особенностями, что является основным фактором, определяющим изменение чувствительности клеток к противоопухолевым препаратам в течение клеточного цикла.

Влияние химиотерапевтических агентов на клеточную кинетику сводится к двум главным эффектам — нарушениям в цикле и гибели клеток.

Нарушения в цикле проявляются в виде торможения движения клеток по циклу, блокирования перехода из одной фазы в другую, в результате чего замедляется или прекращается пролиферация. Тип блокирующего действия — важная характеристика препарата.

Гибель клеток проявляется в потере ими способности к длительному размножению, определяемому по изменению способности к образованию колоний в культуре или по титрованию на опухолеобразующую активность у животных. Такими методами устанавливается доля клеток, сохранивших способность к длительной пролиферации, так называемая «выжившая фракция клеток». Выжившая фракция клеток — важнейший количественный показатель действия противоопухолевых препаратов, поскольку именно ею определяется степень противоопухолевого эффекта, вероятность и быстрота рецидивирования опухоли после лечения.

Многочисленными экспериментами с препаратами разных классов показано, что чувствительность клеток к цитотоксическому летальному действию изменяется на протяжении цикла. Поэтому при исследовании клеточных механизмов действия новых химиотерапевтических агентов особое значение имеет определение фаз цикла, наиболее чувствительных или устойчивых к препарату.

ВЛИЯНИЕ НАМ НА КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ ОПУХОЛЕЙ

Характер действия НММ на клеточный цикл опухолей установлен при изучении вызываемых ею нарушений в клетках лейкемии L1210, а также при исследовании влияния препарата на интенсивность включения 3H -тимидина и число клеток, синтезирующих ДНК, в опухолях молочных желез мышей линии СЗН [20].

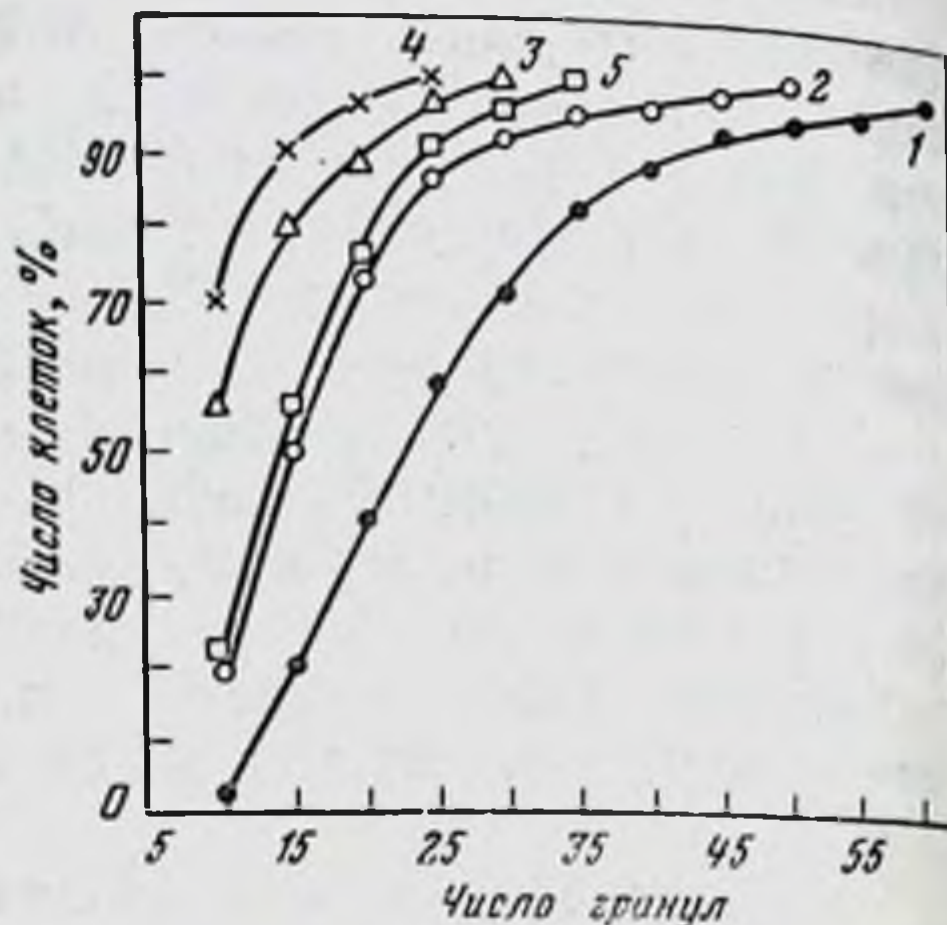
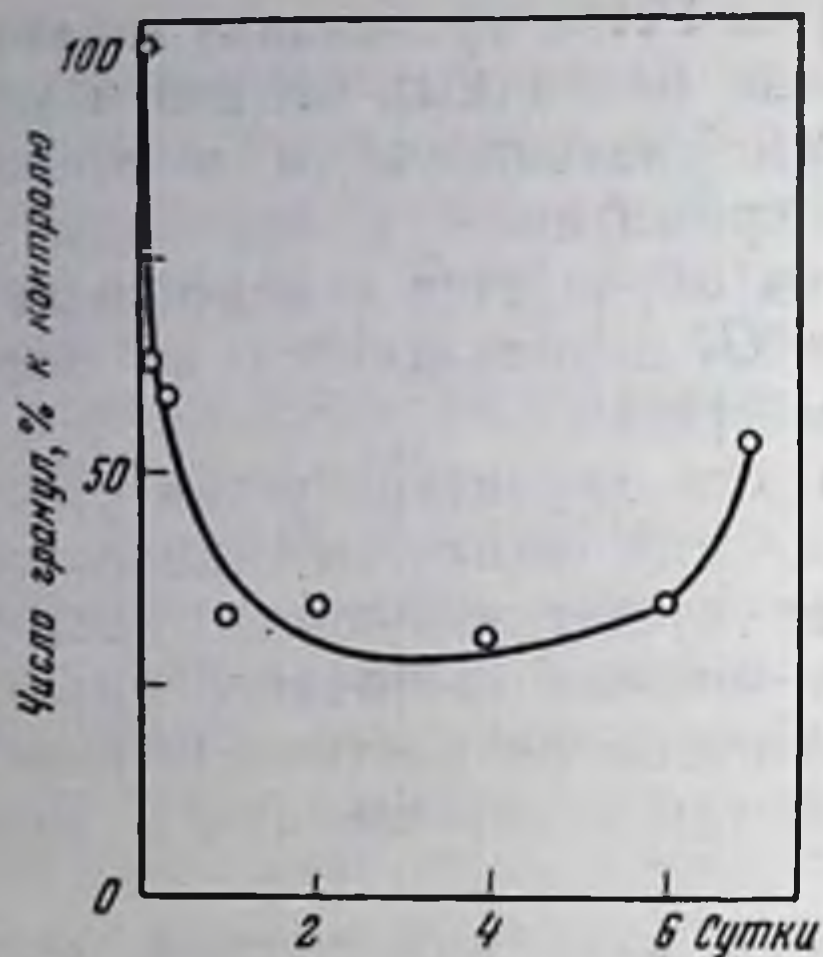


Рис. 29. Влияние НММ на интенсивность включения ^3H -тимидина в клетки асцитной лейкемии L1210

Показана зависимость среднего числа гранул (в % к контролю) от времени после введения НММ

Рис. 30. Кумулятивное распределение числа клеток с различной интенсивностью включения ^3H -тимидина в асцитной лейкемии L1210 в различные сроки после введения НММ

1.— контроль; 2 — 6 ч; 3 — 1 сут; 4 — 4 сут; 5 — 7 сут

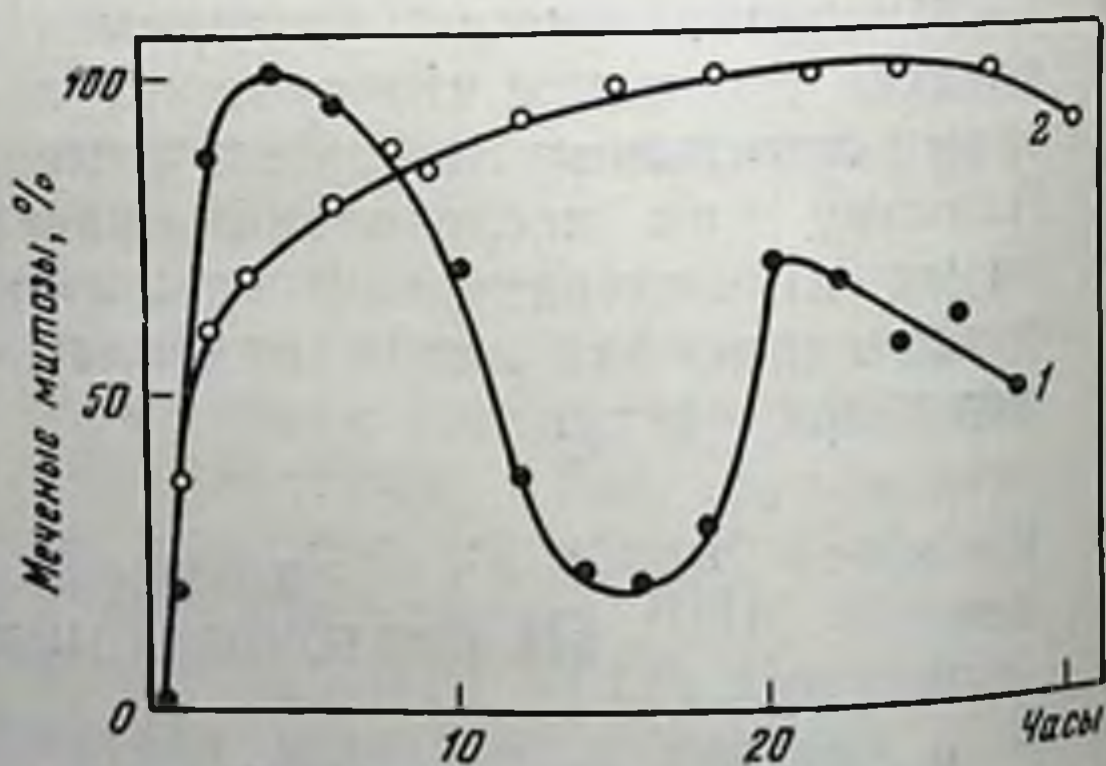
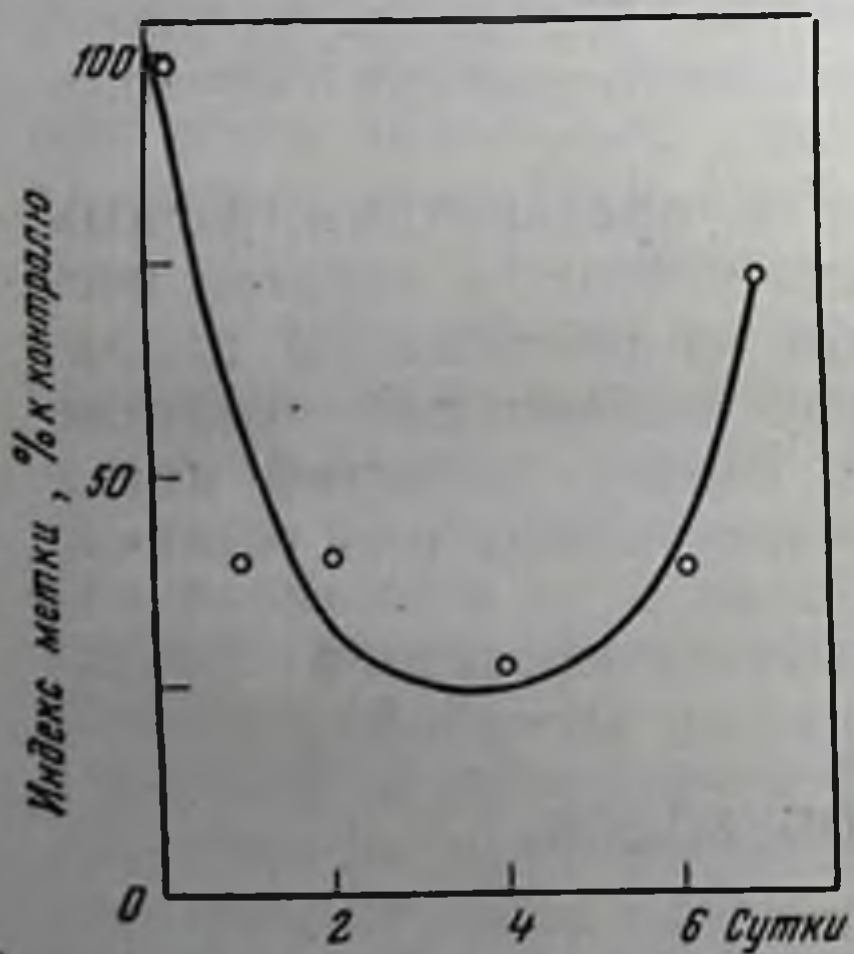


Рис. 31. Зависимость числа клеток, синтезирующих ДНК (в % к контролю), от времени после введения НММ (асцитная лейкемия L1210)

Рис. 32. Меченые митозы в асцитной лейкемии L1210 в контроле (1) и после введения НММ (2)

Выбор именно этих опухолей обусловлен их различной чувствительностью к НММ: опухоли молочных желез мышей линии СЗН (III генерация) высокочувствительны к препарату, лейкемия L1210 — умеренно чувствительна к НММ (см. главу III). Сравнение нарушений в цикле этих двух опухолей дает определенную информацию о связи наблюдаемых изменений с чувствительностью опухолей к препарату и о роли этих нарушений в противоопухолевом эффекте.

Влияние НММ на фазы клеточного цикла лейкемии L1210 проявляется прежде всего в торможении синтеза ДНК и в замедлении прохождения клетками фазы S.

На это указывает резкое уменьшение интенсивности включения ^3H -тимидина, которая достигает минимального уровня (около 30% по сравнению с исходным) через сутки после введения НММ, находится на этом низком уровне в течение 6 сут и начинает медленно восстанавливаться только на 7-е сут после воздействия (рис. 29).

Препарат приблизительно в одинаковой степени тормозит синтез ДНК в клетках с различной исходной интенсивностью включения ^3H -тимидина. Об этом свидетельствует сходный характер кумулятивных кривых распределения клеток по числу гранул в контроле и в опыте в разные сроки после введения НММ (эксперименты на мышах) (рис. 30).

Следствием снижения включения изотопа в части клеток ниже порога чувствительности является уменьшение числа клеток, регистрируемых как меченные, т. е. синтезирующие ДНК. Индекс метки заметно уменьшается через сутки после введения НММ, достигает минимума (25% от исходного числа синтезирующих ДНК клеток) к 4 сут и начинает возрастать с 6 сут (рис. 31).

Замедление прохождения клетками фазы S под влиянием НММ обнаруживается также при подсчете числа меченых митозов (рис. 32). Процент меченых митозов держится на высоком уровне в течение 30 ч после введения НММ, время, за которое контрольная кривая описывает две полные волны меченых митозов. Это указывает на резкое удлинение фазы S по крайней мере до 30 ч, т. е. более чем втрое по сравнению с продолжительностью фазы S в клетках нелеченой опухоли (T_s в контроле составляет 9, 8 ч [21]).

Таким образом, НММ вызывает нарушения в процессе синтеза ДНК опухолевых клеток. Это нарушение проявляется во временном прекращении синтеза ДНК в большей части клеток и торможении синтеза ДНК в остальных клетках фазы S.

Для полной характеристики влияния препарата на синтез ДНК необходимо установить его действие на клетки, вступающие в фазу S из фазы G_1 , т. е. на инициацию синтеза ДНК.

Как показали опыты с насыщением метки, НММ лишь кратковременно блокирует переход клеток в фазу S.

Ниже приведены данные о влиянии НММ на переход клеток лейкемии L1210 в фазу S:

Индекс метки (%) при повторных введениях ^3H -тимидина каждые 2 часа	Контроль	НММ*
два введения	68,4	64,0
три введения	93,6	64,8
четыре введения	94,5	94,0

* НММ вводили через 30 мин. после первого введения ^3H -тимидина.

Так, уже через 6 ч после введения препарата индекс метки в леченой и контрольной группах животных одинаков. Следовательно, в это время практически все клетки входят из фазы G_1 в фазу S. Переход клеток в фазу S при резком торможении выхода клеток из этой фазы вследствие замедления синтеза ДНК должен был бы приводить к увеличению индекса метки. Однако через 6 ч после введения НММ индекс метки не возрастает. Это можно объяснить тем, что в значительной части клеток синтез ДНК подавлен введением препарата ниже порога, регистрируемого на радиоавтографах. Аналогичное явление наблюдалось при действии метотрексата на лейкемические клетки [22].

Таким образом, имеются существенные различия в действии НММ на инициацию синтеза ДНК и на синтез ДНК в клетках, уже вошедших в фазу S. В то время как инициация синтеза ДНК оказалась довольно устойчивым процессом и лишь временно тормозилась под влиянием препарата, во всех клетках фазы S происходило значительное угнетение синтеза ДНК.

Было изучено также действие НММ на период жизни клетки, связанный с непосредственной подготовкой к митозу — на премитотический период G_2 . НММ значительно замедляет прохождение клетками фазы G_2 , что отчетливо видно при сопоставлении кривых меченых митозов (см. рис. 32).

В то время как в контроле немеченые митозы не наблюдаются уже через 4 ч после введения изотопа, в опухоли, подвергавшейся воздействию НММ, они обнаруживаются еще через 12 ч. Следовательно, максимальная продолжительность фазы G_2 увеличилась с 4 до 12 ч.

На 4 сут после введения НММ появлялись клетки резко увеличенного размера. Очевидно, в этих клетках при длительном блокировании в фазе G_2 продолжались синтетические процессы, приводившие к значительному увеличению их массы. Число таких клеток составляло всего 4%, и на 6 сут они практически исчезали.

Таким образом, результаты изучения действия НММ на лейкемические клетки указывают на особую чувствительность клеток в фазе S. В связи с этим в опытах с опухолями молоч-

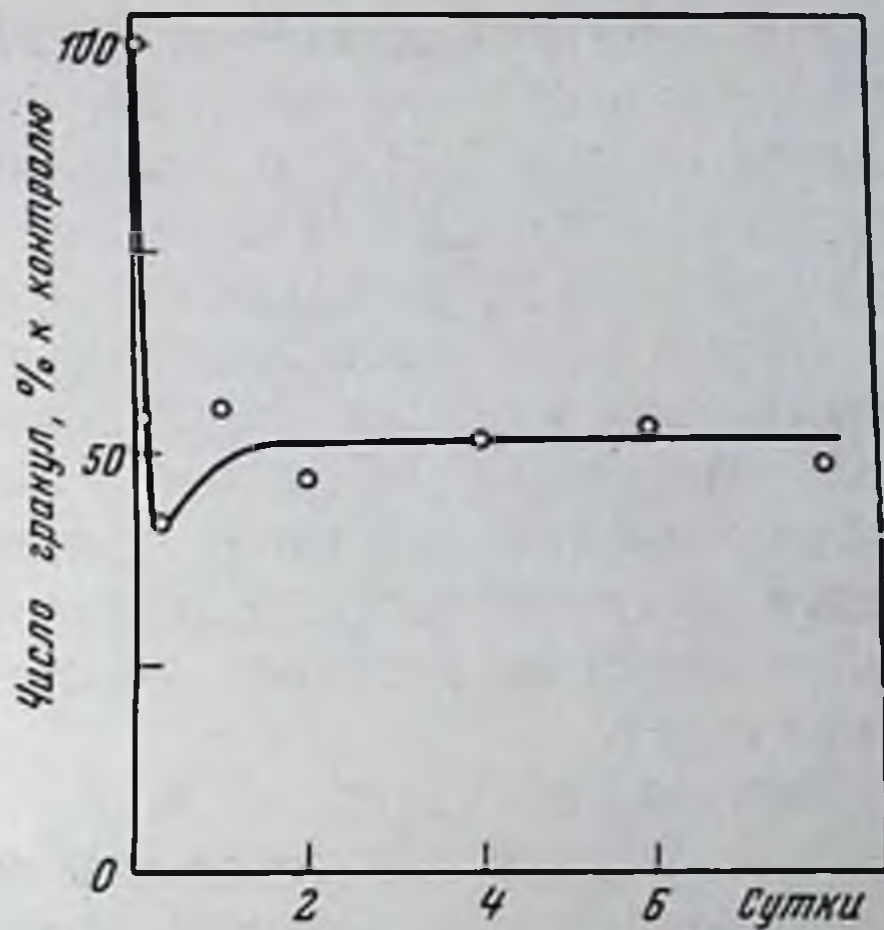
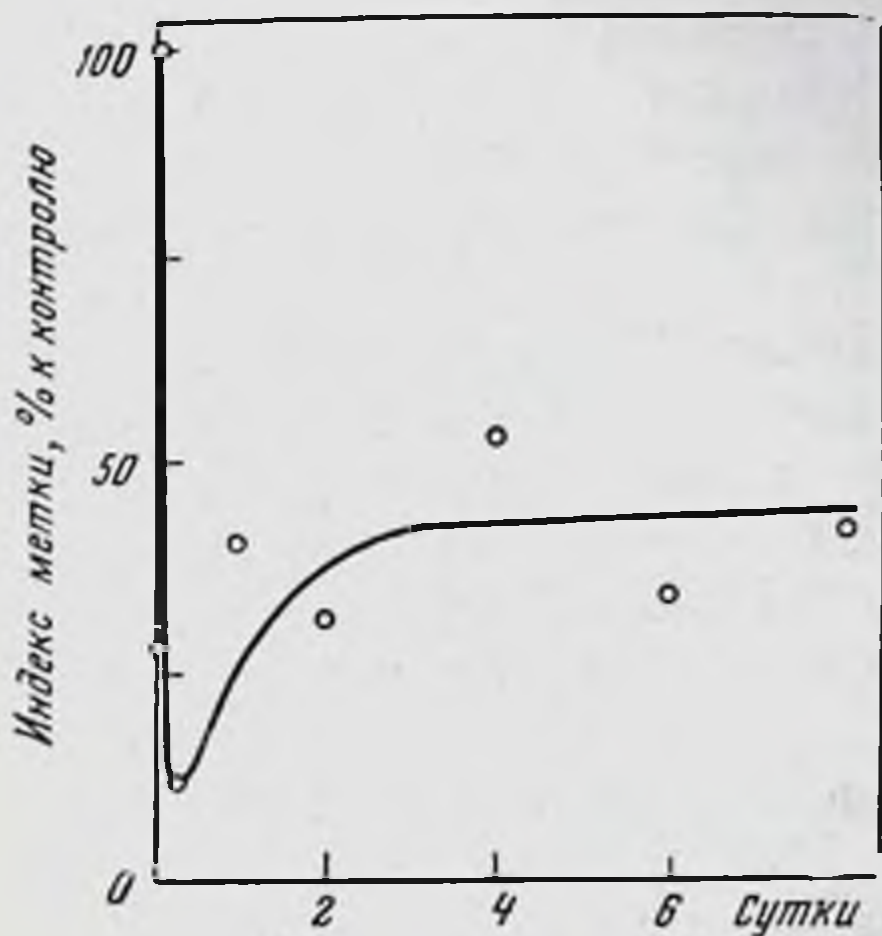


Рис. 33. Зависимость числа клеток, синтезирующих ДНК (в % к контролю), от времени после введения НММ (III генерация опухолей молочных желез мышей линии СЗН)

Рис. 34. Влияние НММ на интенсивность включения ^3H -тимидина в клетки опухоли молочной железы мышей линии СЗН (III генерация)

Показана зависимость среднего числа гранул (в % к контролю) от времени после введения НММ

ных желез особое внимание было уделено действию препарата на синтезирующие ДНК клетки.

При действии НММ на опухоли молочных желез мышей можно выделить период глубокого угнетения синтеза ДНК (6 ч после воздействия препарата) и период частичного торможения синтеза ДНК, длящийся не менее 8 сут (рис. 33, 34).

Уже через 1 ч после введения НММ число меченых клеток уменьшается примерно в четыре раза по сравнению с исходным уровнем (индекс метки в интактной опухоли составлял 11,5%) (см. рис. 33). Через 6 ч индекс метки уменьшается до минимума. В это время приблизительно в 90% клеток, которые находились в фазе S в момент введения препарата, синтез ДНК резко тормозится, и они не регистрируются как меченые.

Интенсивность включения в остальные клетки уменьшена более чем вдвое (см. рис. 34).

В период с 1 по 8 сут после введения НММ число синтезирующих ДНК клеток находится на уровне 40% по отношению к контролю (см. рис. 33).

Интенсивность включения ^3H -тимидина в течение этого времени снижена приблизительно в два раза (см. рис. 34).

Обращают внимание два различия в кинетике синтеза ДНК в изучавшихся опухолях после воздействия НММ. В то время

как в асцитной лейкемии L1210 в течение 6 ч после введения препарата во всех клетках, находящихся в фазе S, обнаруживается синтез ДНК, в большинстве клеток опухоли молочных желез синтез ДНК снижается в это время ниже уровня, регистрируемого на радиоавтографах.

Кроме того, восстановление синтеза ДНК начинается в лейкемических клетках значительно раньше, чем в клетках опухоли молочных желез. Так, через 6—7 сут после введения НММ в лейкемических клетках обнаруживается увеличение индекса метки и интенсивности включения ^3H -тимидина, а в опухолях молочных желез такого восстановления не наблюдается в течение 8 сут.

Эти данные дают основание предполагать, что более быстрое и глубокое снижение синтеза ДНК и более медленное его восстановление в клетках опухоли молочных желез по сравнению с лейкемией L1210 коррелирует с чувствительностью опухолей к НММ.

Один из ближайших аналогов НММ — НПМ, весьма эффективная в отношении лейкоза La мышей, в течение первых 18 ч после введения вызывает удлинение фазы S в лейкозных клетках и блокирование перехода клеток из фазы G_2 в митоз, интерфазную гибель клеток. Отмечается увеличение времени генерации клеток в опухоли через 48—96 ч после воздействия препарата [23].

Детальное исследование действия хлорэтилзамещенных НАМ (БХНМ, ЦГНМ, МеЦГНМ), а также антибиотиков стрептозотоцина и хлорзотоцина на клеточный цикл лейкемии L1210 [24—29] и клеточных культур [30—34] показало, что характерным для всех этих соединений является действие на клетки в фазах S и G_2 .

Введение БХНМ [24, 27] и ЦГНМ [26, 27] мышам с лейкемией L1210 приводит к увеличению продолжительности фазы S вдвое по сравнению с исходной.

МеЦГНМ увеличивает втрое длительность фазы S лейкемических клеток, причем одинаковое удлинение фазы синтеза ДНК достигается при применении низких доз МеЦГНМ, составляющих 12,5 и 25% от оптимальной дозы (4 и 8 мг/кг), и высокой дозы БХНМ — 125% от оптимальной дозы препарата [29].

Результаты, полученные при изучении влияния БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ на культуру клеток китайского хомячка (линия СНО), полностью подтверждают данные опытов *in vivo* [33]. Обработка клеток препаратами приводит к увеличению продолжительности фазы S в 3,6 раза. После постепенного прохождения фазы синтеза ДНК клетки накапливаются в фазе G_2 . Результат задержки клеток в фазе G_2 — появление гигантских клеток [31, 33]. Торможение инициации синтеза ДНК было лишь кратковременным (наиболее заметным оно было при воз-

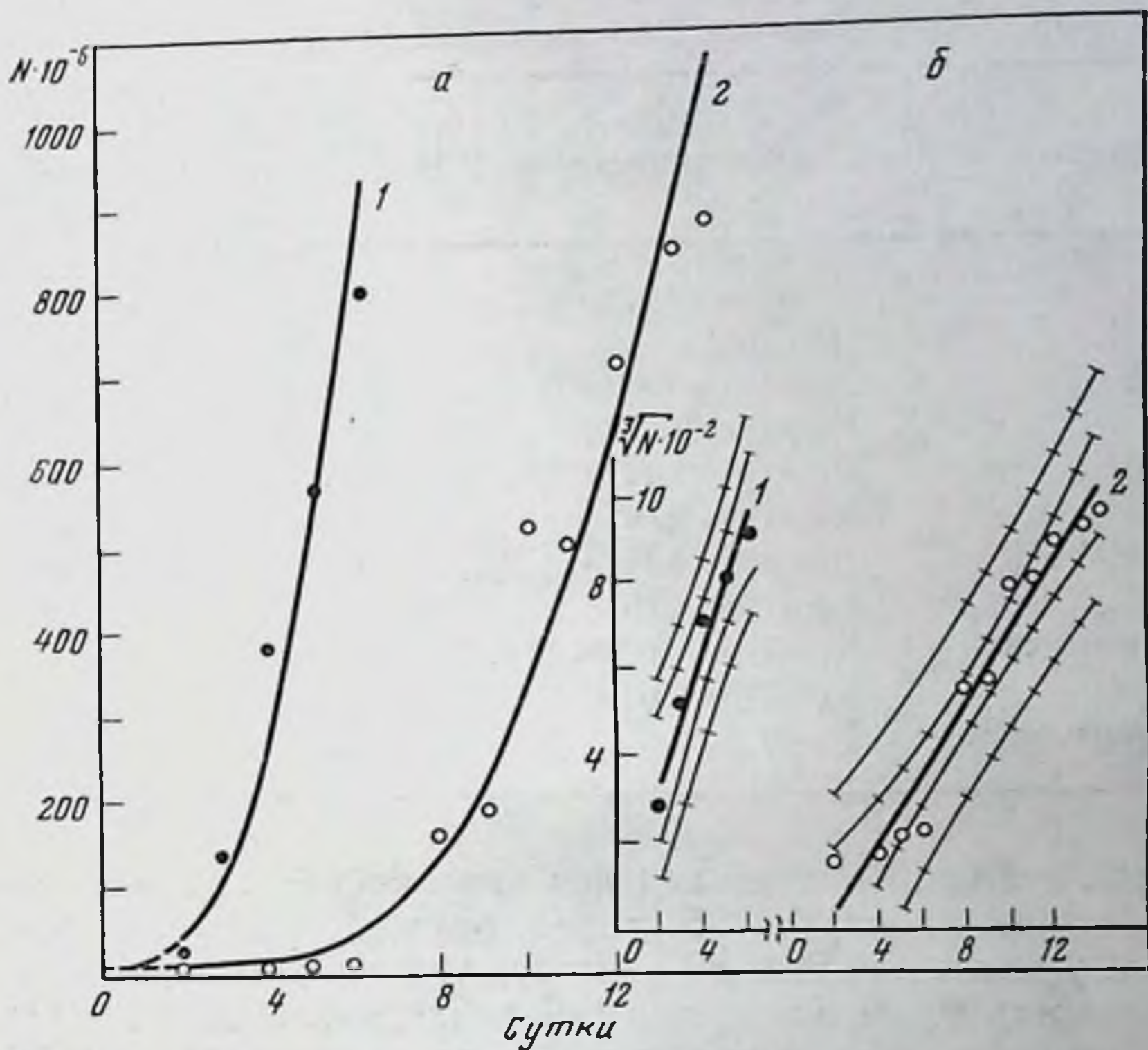


Рис. 35. Кинетические кривые роста числа опухолевых клеток и их линейные анаморфозы при развитии лейкемии L1210

а: 1 — контроль; 2 — перевивка от мышей, получавших НММ пятикратно по 20 мг/кг/сут; б — линейные анаморфозы соответствующих кривых с доверительными зонами для линейной регрессии и для экспериментальных величин

действию БХНМ) и все клетки, подвергавшиеся воздействию НАМ, вступают в фазу S [33].

Стрептозотоцин в культуре клеток лейкемии L1210 полностью блокирует переход клеток из фазы G_2 в митоз и тормозит синтез ДНК [30], а в культуре клеток китайского хомячка (линия СНО) удлиняет продолжительность фазы S и блокирует клетки в фазе G_2 [34].

Хлорозотоцин также существенно удлиняет фазу S и полностью блокирует клетки в фазе G_2 (линия СНО) [34].

Характерная особенность действия препаратов на клеточную кинетику — изменение длительности клеточного цикла в опухолях, рецидивирующих после химиотерапии.

На замедленное восстановление нарушений, вызываемых БХНМ, указывает стойкое — на протяжении 8 сут после воздействия препарата — торможение синтеза ДНК в лейкемических клетках [36], а также изменение пролиферативной актив-

Таблица 79
Влияние НАМ на клеточный цикл

Препарат	Объект исследования	Блокирование клеточного цикла в фазе	Источник
НММ	Лейкемия L1210	S и G ₂	[20]
НПМ	Лейкоз La	G ₂	[23]
БХНМ	Лейкемия L1210	S и G ₂	[24, 27]
»	Культура СНО	S и G ₂	[32, 33]
ЦГНМ	Лейкемия L1210	S	[26, 27]
»	Культура СНО	S и G ₂	[33]
МеЦГНМ	Лейкемия L1210	S	[29]
»	Культура СНО	S и G ₂	[33]
Стрептозотоцин	Культура клеток L1210	G ₂	[30]
»	Культура СНО	G ₂	[34]
Хлорозотоцин	То же	G ₂	[34]

ности опухоли, развивающейся из клеток, подвергавшихся воздействию препарата. В такой опухоли растущая фракция клеток уменьшается до 80% по сравнению с исходной, продолжительность фазы S и время генерации увеличиваются [24, 28].

В опухоли, рецидивировавшей после введения МеЦГНМ, также наблюдается увеличение времени генерации клеток [29].

Изменения в кинетике развития лейкемии L1210, перевитой от мышей, получивших суммарно 100 мг/кг НММ, по сравнению с кинетикой роста числа лейкемических клеток, не подвергавшихся какому-либо воздействию, указывают на то, что и этот препарат, подобно БХНМ, вызывает стойкие нарушения в пролиферации опухолевых клеток (рис. 35). Свидетельством тому является удлинение периода индукции и снижение почти вдвое скорости роста опухоли [37].

Таким образом, основным эффектом действия всех НАМ, установленным в опытах *in vivo* и *in vitro* для различных типов клеток животных, является угнетение синтеза ДНК, удлинение времени прохождения фазы S и фазы G₂, накопление клеток в поздней интерфазе (табл. 79).

В связи с этим можно считать целесообразной попытку сочетания НАМ с агентом, обладающим S- и G₂-специфическим цитотоксическим действием. Применять этот циклоспецифический препарат имеет смысл, по-видимому, через 24—30 ч после введения НАМ, т. е. в период частичной синхронизации популяции опухолевых клеток в поздней интерфазе [33].

ГИБЕЛЬ РАЗМНОЖАЮЩИХСЯ И ПОКОЯЩИХСЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Действие БХНМ на выживаемость клеток, синхронизированных в разных фазах цикла, изучено в культуре фибробластов хомячка [39], культуре клеток линии СНО хомячка [38] и в культуре клеток лимфомы человека [40].

Наиболее чувствительными фазами цикла в культурах клеток хомячков являются переход $G_1 \rightarrow S$ и начало или середина фазы S , наименее чувствительными — поздняя фаза S , а в случае линии СНО — также и ранняя фаза G_1 [38, 39]. В клетках лимфомы человека наиболее чувствительны клетки, переходящие из фазы G_1 , в фазу S , а также находящиеся в фазе G_2 , наименее чувствительны — клетки в фазах G_1 и S [40]. В периоды повышенной чувствительности к «цитотическому» действию БХНМ гибнет в 10—100 раз больше клеток, чем в других фазах жизненного цикла.

Аналогичным образом действует на клетки ЦГНМ, вызывая максимальную их гибель (культура фибробластов хомячка) на границе фаз G_1 и S и в начале фазы S , а минимальную гибель — в поздней фазе S [39].

Следовательно, для летального действия НАМ на синхронизированные культуры типичны высокая чувствительность перехода $G_1 \rightarrow S$ и ранней фазы S и относительная устойчивость поздней фазы S (схема 1).

Вопрос о чувствительности клеток, временно находящихся вне цикла (фаза G_0), к лечебным воздействиям весьма важен в терапии опухолей. Многие исследователи связывают несостоятельность химиотерапии большинства солидных опухолей с наличием фракции неделящихся, но жизнеспособных клеток, находящихся *in vivo* в условиях гипоксии [41—44]. Предполагается, что эти клетки резистентны ко многим из применяющихся противоопухолевых агентов и вносят основной вклад в репопуляцию и рецидивирование опухолей после лечения. Очевидно, что выявление веществ, избирательно влияющих на жизнеспособность клеток, находившихся в момент воздействия в фазе G_0 , необходимо для разработки эффективных схем комбинированной химиотерапии опухолей.

Экспериментальной моделью для изучения способности цитостатиков вызывать гибель жизнеспособных, но не размножающихся клеток является культура клеток млекопитающих в стационарный период роста (фаза плато). Культивируемые *in vitro* клетки, как известно, последовательно проходят lag-период, период экспоненциального роста и стационарный период роста, наступающий вследствие истощения питательной среды или контактного ингибирования. Значительная часть клеток фазы плато оказывается синхронизированной в фазе G_1 и может быть возвращена в цикл при замене среды на свежую или добав-

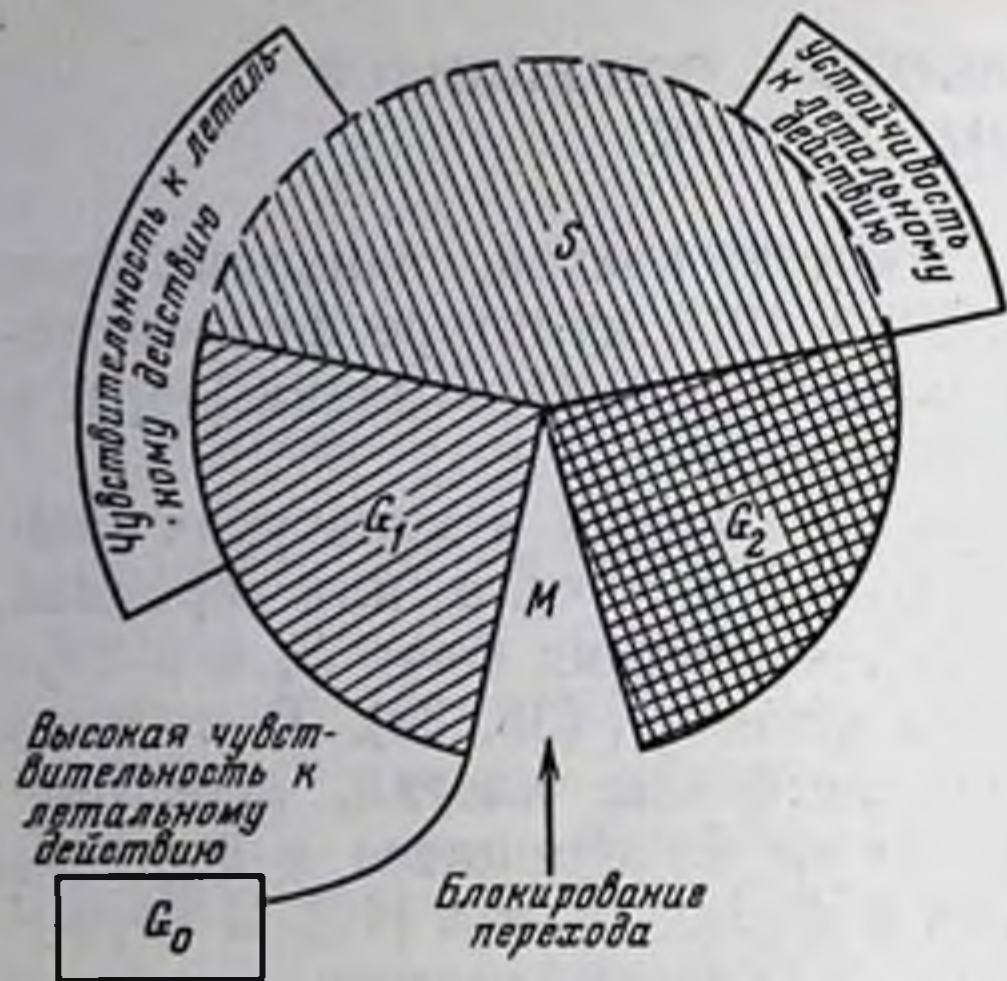


Схема 1. Влияние НАМ на клеточный цикл и жизнеспособность опухолевых клеток

Распределение чувствительности по циклу: к блокирующему действию наиболее чувствителен переход $G_1 \rightarrow M$ и фаза S ; к летальному действию — переход $G_1 \rightarrow S$, ранняя фаза S и фаза «покоя» G_0

лении в среду одного из питательных компонентов, например, изолейцина [33, 38, 42]. Клетки, заблокированные *in vitro* в фазе G_1 , рассматриваются как модель фазы покоя G_0 , так как они обнаруживают большое сходство с покоящимися стволовыми клетками костного мозга и не размножающимися, но жизнеспособными клетками солидных опухолей [38, 45, 46].

Характерная особенность НАМ, отличающая их от большинства известных противоопухолевых препаратов, — способность вызывать гибель значительного числа клеток в стационарной культуре.

Так, например, опухолевые клетки культуры LL в стационарной фазе роста высокочувствительны к летальному действию НММ. Значения D_0 (дозы, вызывающей гибель 37% клеток на экспоненциальном участке кривой «доза — эффект») для клеток стационарной культуры значительно меньше, чем для клеток экспоненциально растущих культур — 0,027 и 0,042 мг/мл соответственно [47].

При исследовании влияния БХНМ на выживаемость культивируемых клеток китайского хомячка (линия СНО) установлена исключительная избирательность действия препарата на клетки в фазе плато. Так, в дозе 25 мкг/мл БХНМ приводила к уменьшению выжившей фракции клеток в стационарной культуре до 0,02%, но совершенно не влияла на жизнеспособность экспоненциально растущих клеток [38].

Значительная чувствительность клеток в стационарной фазе роста к БХНМ отмечается и в других исследованиях, проведенных на той же модели, однако различие между реакцией экспоненциально растущих и покоящихся клеток на воздействие препарата было не столь разительным [33, 42, 43, 48].

Культура клеток опухолей молочных желез мышей ЕМТ6/М/СС в стационарной фазе роста более чувствительна к

действию БХНМ (в концентрации 0—20 мкг/мл), чем экспоненциально растущие клетки [49].

При действии БХНМ на культуру клеток мастоцитомы мыши Р815Х2 в различные периоды ее роста препарат в концентрации 10 мкг/мл (экспозиция 15 мин) приводит к гибели 99,95% и 90% клеток, находившихся в момент воздействия соответственно в фазах плато и экспоненциального роста [41].

Таким образом, можно считать доказанной высокую чувствительность неделящихся клеток в системе *in vitro* к БХНМ.

Способность избирательно повреждать клетки в фазе покоя проявляется не только при действии НММ и БХНМ, но также при применении других активных НАМ. В культуре клеток линии СНО неделящиеся клетки в фазе плато намного чувствительнее к действию БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ, чем делящиеся клетки, причем наиболее существенные различия наблюдаются в популяциях клеток, подвергавшихся обработке МеЦГНМ [33].

При воздействии МеЦГНМ (10 мкг/мл, экспозиция 1 ч) выжившая фракция клеток, находившихся в фазе плато в момент инкубации с препаратом, в 128 раз меньше выжившей фракции экспоненциально растущих клеток. После воздействия ЦГНМ соответствующие фракции различаются лишь в пять раз [50].

Более высокая по сравнению с другими хлорэтилзамещенными нитрозомочевинами избирательность цитотоксического действия МеЦГНМ на покоящиеся клетки [33, 50] косвенным образом подтверждается ее относительно большей эффективностью в отношении солидных опухолей: карциномы Льюис и меланомы В-16 мышей [44, 51].

Сопоставляя действия антибиотиков из этой группы на клетки млекопитающих, следует отметить, что стрептозотоцин в высоких концентрациях оказывает одинаковое цитотоксическое действие на делящиеся и неделящиеся клетки. К низким концентрациям препарата более чувствительны клетки в логарифмическом периоде роста [34]. Таким образом, в отличие от других НАМ, стрептозотоцин не проявляет избирательности цитотоксического действия на покоящиеся клетки культуры. Однако другой антибиотик — хлорозотоцин — вдвое более токсичен для непролиферирующих, чем для пролиферирующих клеток линии СНО [34], что соответствует его более значительной терапевтической активности.

Следовательно, все препараты ряда НАМ (за исключением стрептозотоцина) проявляют преимущественную цитотоксическую активность в отношении покоящихся клеток по сравнению с размножающимися клетками культур. Очевидно это свойство отражает фундаментальные особенности биологического действия препаратов.

Существенное значение имело бы установление такого же действия в условиях *in vivo*. Однако окончательных данных по этому вопросу нет. Имеющиеся немногочисленные исследования показывают, что *in vivo* избирательность цитотоксического действия НАМ на покоящиеся клетки может не проявляться из-за особенностей анатомического строения опухоли и фармакокинетики препаратов.

Так, в экспериментах на животных при комбинации БХНМ и облучения установлено, что препарат избирательно щадит гипоксические клетки меланомы В-16 [44].

В условиях *in vivo* более высокая эффективность БХНМ в отношении опухолевых клеток в стационарном периоде роста по сравнению с экспоненциально растущими отмечается лишь для асцитной опухоли. При введении БХНМ в дозе 15 мг/кг на 5-й день развития асцитной мастоцитомы Р815Х2 (стационарная фаза роста) фракция выживших клеток, определенная при подсчете числа образующих колонии клеток, составляет 0,5%, что в 10 раз меньше выжившей фракции клеток, подвергнутых воздействию препарата на 2-е сут развития опухоли (экспоненциальная фаза роста). Подобная гибель клеток при введении БХНМ на 2-е сут могла быть вызвана лишь вдвое большей дозой препарата (30 мг/кг).

Та же опухоль, но растущая в солидной форме, с увеличением размеров и «возраста» (от 84 мг на 6-е сут до 354 мг на 10-е сут) утрачивала чувствительность к БХНМ, однако по мере дальнейшего роста (до 892 мг на 18-е сут) резистентность не нарастала. При введении БХНМ в дозе 60 мг/кг на 6-е сут выжившая фракция составляла 1% клеток, при введении препарата на 10-е сут выживало уже более 10% клеток, а при введении на 18-е сут — около 5% клеток [41].

Таким образом, анализ кинетики развития одной и той же опухоли, но растущей в разных формах: в культуре клеток, в асцитной и солидной форме, и количественное сопоставление эффективности воздействия БХНМ на опухолевые клетки в зависимости от условий и фазы развития опухолевого процесса показали, что наиболее выраженным является различие между чувствительностью солидной опухоли, с одной стороны, и чувствительностью асцитных и культивируемых клеток, с другой стороны, т. е. солидная опухоль относительно более резистентна к препарату [41].

Подобное колебание в чувствительности превосходит различия в выживаемости клеток, подвергнутых воздействию препарата на разных этапах роста опухолей. Это свидетельствует о том, что недостаточная эффективность химиотерапии солидных опухолей может быть связана не только с рефрактерностью клеток в фазе G_0 к терапии, но и с особенностями строения опухоли, ее сосудистой недостаточностью, обуславливающей неравномерность распределения препарата в опухоли. Кроме того,

возможно, что в условиях *in vivo* препарат не достигает гипоксических клеток в необходимых концентрациях вследствие короткого времени существования и быстрого метаболизма.

Стволовые клетки костного мозга, пролиферирующие с различной интенсивностью, являются моделью для определения *in vivo* зависимости эффективности действия препаратов от интенсивности пролиферации.

Согласно имеющимся данным [51, 53, 54], скорость пролиферации стволовых клеток-предшественников костного мозга существенно не влияет на выраженность летального действия БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ. Только в работе [52] показана более высокая чувствительность размножающихся стволовых клеток.

Таким образом, в этом отношении НАМ также отличаются от большинства других противоопухолевых препаратов, действие которых усиливается с возрастанием скорости пролиферации кроветворных клеток. Эти особенности биологического действия НАМ, проявляющиеся в их независимости от пролиферативного состояния или в возрастании активности по отношению к покоящимся клеткам, по-видимому, могут быть использованы в химиотерапии опухолей.

Изучалась также способность клеток восстанавливать повреждения, индуцированные НАМ. При этом проявилась другая уникальная особенность соединений рассматриваемой группы. Так, в культуре клеток не происходит восстановления потенциально летальных повреждений, вызванных НАМ, в том числе НММ, ЦГНМ и МеЦГНМ, как среди популяции, находившейся в момент воздействия в стационарной фазе роста, так и среди экспоненциально растущих клеток [50, 55].

При изучении репарации повреждений была установлена более высокая чувствительность к НАМ неделящихся клеток, в которых сильнее выражены сублетальные повреждения, чем в размножающихся клетках. Об этом свидетельствует тот факт, что при фракционированном введении препаратов гибель клеток в стационарной культуре выше, чем при однократном воздействии [50].

Необратимость вызванных НАМ нарушений в клетках, вероятно, связана с особенностями метаболизма препаратов, которые разлагаются с образованием высокореакционноспособных продуктов, в частности, изоцианатов, ингибирующих ферменты репарации в пораженных НАМ клетках [24, 35, 36].

Вероятно, способность НАМ тормозить репарацию повреждений в клетках может иметь существенное значение для их использования в комбинированной химиотерапии.

Имеющиеся экспериментальные данные позволяют считать НАМ активными цитотоксическими препаратами, оказывающими летальное действие и вызывающими значительные нарушения в жизнедеятельности как пролиферирующих, так и по-

коящихся клеток. Характерным для действия НАМ на активно пролиферирующие клетки является гибель клеток преимущественно при переходе из фазы G_1 в фазу S и в начале фазы S , а также удлинение фаз S и G_2 и временное блокирование клеток в поздней интерфазе (см. схему 1).

По-видимому, высокая чувствительность покоящихся клеток к НАМ является одним из факторов, определяющих значительную активность этих соединений в отношении далеко зашедших, относительно медленно растущих солидных опухолей животных с низким пролиферативным пулом (рак молочной железы, опухоль легких Льюис, меланома В-16 мышей), а также ряда солидных новообразований человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bruce W. R., Valeriote F. A. In: The proliferation and spread of neoplastic cells. Baltimore, Williams and Wilkins Co, 1968, p. 409.
2. Baserga R. In: Recent results cancer res., v. 52. Berlin, 1975, p. 149.
3. Франкфурт О. С. Клеточный цикл в опухолях. М., «Медицина», 1975.
4. Hoffman J., Post J. In: Drugs and cell cycle. New York — London, 1973, p. 219.
5. De Vita V. T. Cancer Chemotherapy Repts, 1971, pt 3, 2, 23.
6. Cooper E. H., Bedford A. J., Kenny T. E. In: Advances cancer research, v. 21. New York, 1975, 59.
7. Hill B. T., Baserga R. Cancer Treatment Revs, 1975, 2, 159.
8. Франкфурт О. С. Клеточные механизмы химиотерапии опухолей. М., «Медицина», 1976.
9. Skipper H. E., Schabel F. M., Jr. In: Cancer medicine J. F. Holland, E. III Frei (Eds). Philadelphia, Lea and Febiger, 1974, p. 629.
10. Steel G. G. In: Cancer medicine. J. F. Holland, E. III Frei (Eds). Philadelphia, Lea and Febiger, 1974, p. 125.
11. Mendelsohn M. L., Dethlefsen L. A. In: The proliferation and spread of neoplastic cells. Baltimore, Williams and Wilkins Co, 1968, p. 197.
12. Rajewsky M. F. In: Recent results cancer research, v. 52. Berlin e. a., 1975, p. 156.
13. Tubiana M. Rev. Med., 1974, 15, 301.
14. Cleaver J. E. Thymidine metabolism and cell kinetics. Amsterdam, 1967.
15. Terasima T., Tolmach L. J. Exptl Cell Res., 1963, 30, 344.
16. Pfeiffer S. E. J. Cell Physiol., 1968, 71, 95.
17. Walters R. A., Tobey R. A., Ratliff R. L. Biochim. et biophys. acta, 1973, 319, 336.
18. Stein G. S., Borun T. W. J. Cell Biol., 1972, 52, 292.
19. Stubblefield E., Klevecz R., Deaven L. J. Cell Physiol., 1967, 69, 345.
20. Островская Л. А., Франкфурт О. С. Вопросы онкологии, 1977, № 2.
21. Гончарова С. А., Коновалова Н. П., Липчина Л. П., Франкфурт О. С., Шевцова В. Н. Вопросы онкологии, 1973, 19, № 11, 60.
22. Гончарова С. А., Франкфурт О. С. Цитология, 1975, 17, № 9, 1051.
23. Гончарова С. А., Липчина Л. П., Франкфурт О. С. Докл. АН СССР, 1967, 173, 718.
24. Young R. C., De Vita V. T. Cancer Res., 1970, 30, 1789.
25. Shirakawa S., Frei F. III. Cancer Res., 1970, 30, 2173.
26. Bray D. A., Oliverio V., Adamson R., De Vita V. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1970, 11, 12.
27. Bray D. A., De Vita V. T., Adamson R., Oliverio V. T. Cancer Chemotherapy Repts, 1971, pt 1, 55, 215.

28. *De Vita V. T., Bray D. A., Bostick F., Bagley C. M.* Cell Tissue Kinet., 1972, 5, 459.
29. *Young R. C.* Cell Tissue Kinet., 1973, 6, 35.
30. *Bhuyan B. K.* Cancer Res., 1970, 30, 2017.
31. *Wheeler G. P., Bowdon B. J., Adamson D. I., Vail M. H.* Cancer Res., 1970, 30, 1817.
32. *Barranco S. C., Humphrey R. M.* Cancer Res., 1971, 31, 191.
33. *Tobey R. A., Crissman H. A.* Cancer Res., 1975, 35, 460.
34. *Tobey R. A., Oka M. S., Crissman H. A.* Europ. J. Cancer, 1975, 11, 433.
35. *Bono V. H., Jr.* Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 699.
36. *Rosenoff S. H., Bostick F., Young R. C.* Biochem. Pharmacol., 1974, 23, 3097.
37. *Кукушкина Г. В., Соколова И. С., Островская Л. А., Горбачева Л. Б.* Известия АН СССР, серия биол., 1972, № 5, 731.
38. *Barranco S. C., Novak J. K., Humphrey R. M.* Cancer Res., 1973, 33, 691.
39. *Bhuyan B. K., Scheidt L. G., Fraser T. I.* Cancer Res., 1972, 32, 398.
40. *Drewinko B., Brown B. W., Gottlieb J. A.* Cancer Res., 1973, 33, 2732.
41. *Hageman R. F., Schenken L. L., Leshner S. J.* Nat. Cancer Inst., 1973, 50, 467.
42. *Ray G. R., Hahn G. M., Bagshow M. A., Kurkjian S.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, p. 1, 57, 473.
43. *Hahn G. M., Gordon L. F., Kurkjian S. D.* Cancer Res., 1974, 34, 2379.
44. *Hill R. P., Stanley J. A.* Cancer Res., 1975, 35, 1147.
45. *Mendelsohn M. L.* Science, 1962, 135, 213.
46. *Mendelsohn M. L.* J. Nat. Cancer Inst., 1962, 28, 1015.
47. *Афанасьев Г. Г., Готлиб В. Я., Пелевина И. И.* Радиобиология, 1977 (в печати).
48. *Wheeler K. H., Tel N., Williams M. E., Sheppard S., Levin V. A., Kabra P. M.* Cancer Res., 1975, 35, 1464.
49. *Twentyman P. R., Bleehen N. M.* Brit. J. Cancer, 1973, 28, 500.
50. *Barranco S. C., Novak Y. K., Humphrey R. M.* Cancer Res., 1975, 35, 1194.
51. *Blackett N. M., Courtenay V. D., Mayer S. M.* Cancer Chemotherapy Repts, 1975, p. 1, 59, 929.
52. *Van Putten L. M., Lelieveld P., Kram-Idsenga L. K. J.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, 56, 691.
53. *Preisler H. D., Henderson E. S.* J. Nat. Cancer Inst., 1971, 47, 971.
54. *Pittilio R. F., Schabel F. M., Jr., Skipper H. E.* Cancer Chemotherapy Repts, 1970, 54, 137.
55. *Готлиб В. Я., Хвыля Л. А., Пелевина И. И.* Цитология, 1977 (в печати).
56. *Kann H. E., Jr., Kohn K. W., Lyles J. M.* Cancer Res., 1974, 34, 398.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ДЕЙСТВИЯ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Крупнейшие открытия в области молекулярной биологии, сделанные за последние четверть века, создали научную основу для изучения механизма действия лекарственных препаратов.

Открытие в 1953 г. Уотсоном и Криком двуспиральной структуры ДНК позволило сформулировать общий принцип переноса генетической информации от ДНК через РНК к белку: ДНК \rightarrow РНК \rightarrow белок.

В 1970 г. после открытия фермента обратной транскриптазы была окончательно доказана также возможность переноса генетической информации от РНК к ДНК.

Три основных процесса обеспечивают хранение и передачу генетической информации: репликация — копирование ДНК с образованием идентичных молекул, транскрипция или «переписывание» генетической информации, заключенной в ДНК, в РНК и, наконец, трансляция — процесс, в результате которого генетическая информация переводится на язык белковых структур.

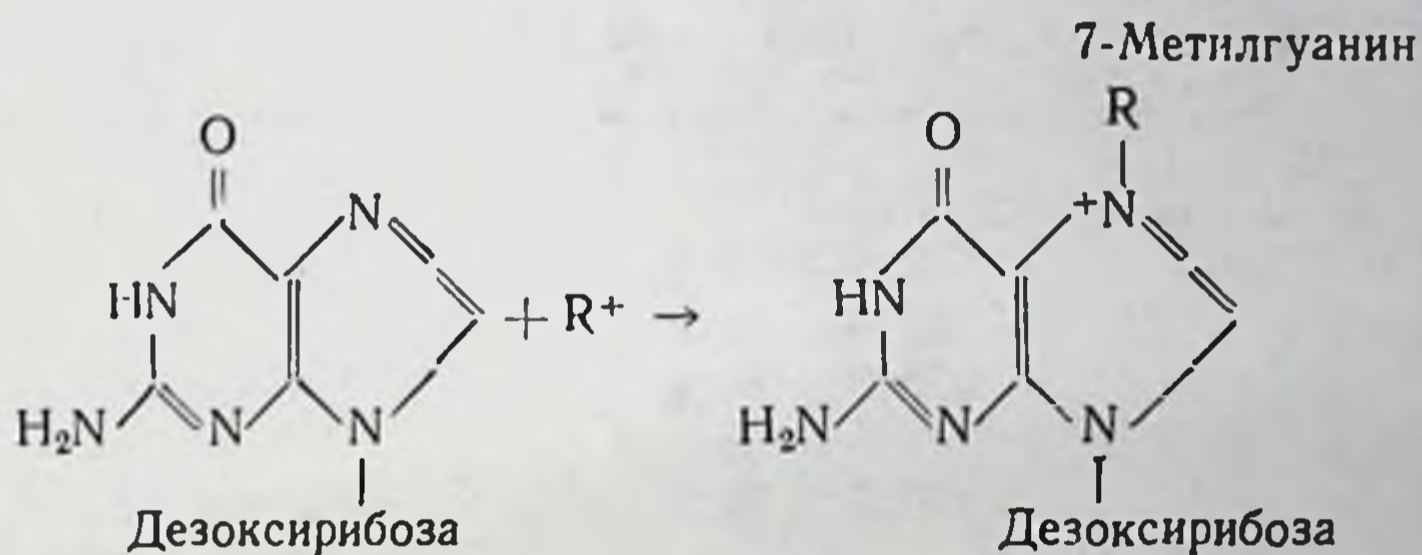
Введение активных противоопухолевых препаратов из класса НАМ приводит к нарушениям процессов репликации, транскрипции и трансляции в опухолевых клетках.

Эти нарушения могут осуществляться двояким путем: 1) НАМ алкилируют или карбамоилируют основания ДНК, и вследствие этого происходит аномальное спаривание оснований при репликации ДНК, что в свою очередь способствует нарушению специфичности транскрипции и трансляции; 2) НАМ непосредственно повреждают белки рибосом, различные регуляторные белковые факторы или ферменты (ДНК- и РНК-полимеразы); за счет этих процессов происходит нарушение специфичности транскрипции или трансляции.

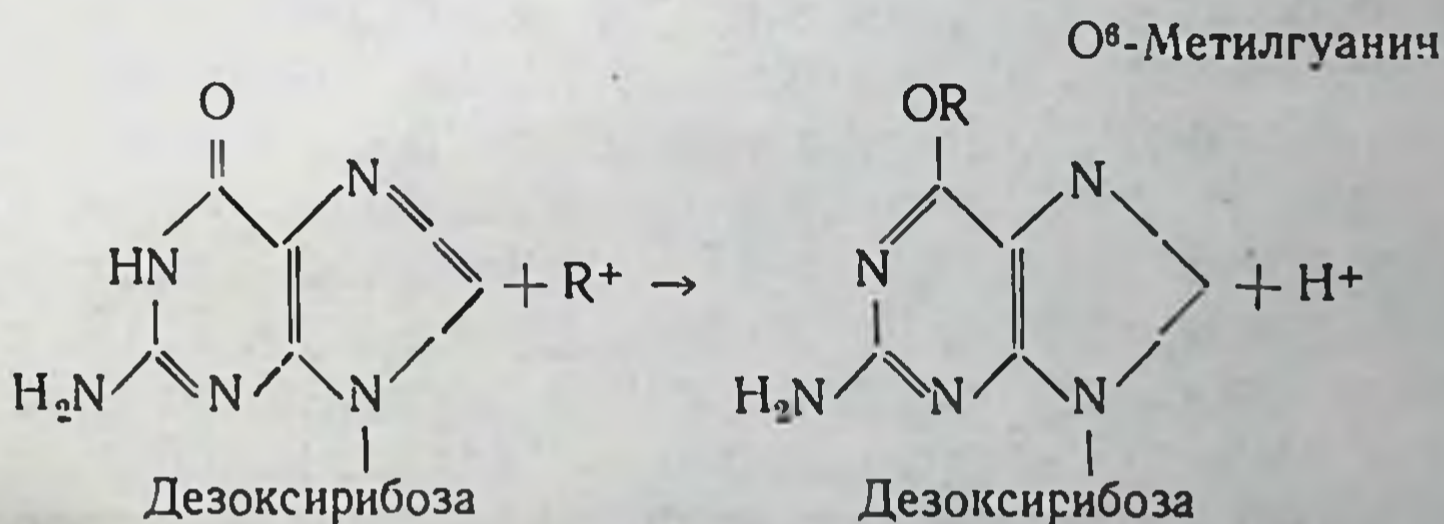
Специфичность действия НАМ на синтез ДНК, РНК и белка во многом зависит от их стабильности *in vivo* и от реакционной способности продуктов разложения, таких как карбониевые ионы и изоцианаты. Природа заместителей у N-1 и N-3 также может влиять на биологическую активность этих соединений.

РЕАКЦИИ АЛКИЛИРОВАНИЯ И КАРБАМОИЛИРОВАНИЯ

При разложении НАМ в водных растворах образуются метилвинил- и хлорэтилкарбониевые ионы (см. главу I, стр. 29), которые реагируют с нуклеофильными центрами ДНК, РНК и белков. Алкилирование макромолекул осуществляется прямым переносом алкильных радикалов к нуклеиновым кислотам и белкам [1—4]. При взаимодействии НММ с ДНК или РНК основным продуктом метилирования является 7-метилгуанин; среди минорных компонентов обнаружены 3-метилгуанин, 1,3- и 7-метиладенин, O⁶-метилгуанин [5, 6].



Существуют экспериментальные доказательства, определяющие значение реакции алкилирования гуанина в положении O⁶ для мутагенной и канцерогенной активности НАМ [7, 8].



Предполагается, что алкилирование биомacroмолекул играет также важную роль и в противоопухолевой активности НАМ. На этом основании некоторые авторы относят их к классу алкилирующих соединений [9—12]. Однако в отличие от классических алкилирующих веществ НАМ вызывают интенсивное карбамоилирование белков и липидов, и поэтому их следует рассматривать как самостоятельную группу противоопухолевых препаратов.

Получены противоречивые результаты о значении реакции алкилирования для противоопухолевой активности НАМ. Животным-опухоленосителям вводили активный противоопухолевый препарат — НММ и неактивный метилирующий агент — ДМНА. Метилирование РНК клеток ретикулосаркомы и

карциномы Уокера (образование 7-метилгуанина) наблюдается только в первом случае [13]. Однако сравнительное изучение связывания ЦГНМ, меченной ^{14}C по этильной группе, с ДНК, РНК и белками чувствительных и резистентных клеток лимфомы TLX5 *in vitro* не обнаружило существенных различий (табл. 80) [14].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что высокую противоопухолевую активность НАМ нельзя объяснить только

Таблица 80

Связывание ^{14}C -ЦГНМ макромолекулами клеток лимфомы TLX5
(в имп/мин/мг сухого веса)

Фракция	Чувствительные клетки	Резистентные клетки
ДНК	85,5 ± 8,7	56,9 ± 12,3
РНК	227,7 ± 119,6	137,9 ± 116,1
Общий белок	135,4 ± 38,2	236,6 ± 98,6
Ядерный белок	378,3 ± 86,4	513,8 ± 230,9
Цитоплазматический белок	135,3 ± 38,2	236,6 ± 98,6

способностью к алкилированию макромолекул. Это подтверждается данными об отсутствии перекрестной резистентности между циклофосфамидом и рядом НАМ, установленной на экспериментальных моделях (лимфолейкоз L1210, меланома В-16, опухоль легких Льюис [15, 16]), и при лечении больных с лимфогранулематозом [17, 18], а также приведенными ранее данными о несовпадении действия НАМ и некоторых алкилирующих агентов на фазы клеточного цикла. Кроме того, НАМ различаются между собой по алкилирующей активности: БХНМ обладает более высокой способностью к алкилированию, чем ЦГНМ и MeЦГНМ, хотя все три препарата характеризуются высокой противоопухолевой эффективностью, установленной на широком спектре экспериментальных опухолей.

Поскольку при действии НАМ на ДНК, РНК и белки возникают повреждения, не связанные с реакциями алкилирования макромолекул, то логичнее эти изменения связать с наличием реакции карбамоилирования.

Изоциановая кислота и ее эфиры — продукты распада НАМ — реагируют с разнообразными функциональными группами белков и нуклеиновых кислот. Цианат взаимодействует с цистеиновыми и цистиновыми остатками белков с образованием S-карбамоилпроизводных, которые нестабильны, разлагаются при pH выше 6 и имеют период полураспада от 1 до 2 ч при 30° и pH 6,8 [19]. Установлено наличие обратной реакции с

имидазолом с образованием N-карбамоилимидазола [20] и с карбоксильными группами с образованием ангидридов [21]. Сделан вывод о том, что изоцианат практически не взаимодействует с гидроксильными группами серина или гликолевой кислоты при рН 7,0 [22], однако он легко реагирует с α - и ϵ -группами аминокислот и пептидов с образованием наиболее стабильных карбамоилированных производных. Карбамоилирование ϵ -аминогрупп остатков лизина происходит труднее, чем α -аминогрупп [23].

Таблица 81

Связывание ^{14}C -ЦГНМ с нуклеиновыми кислотами и белками

	Радиоактивность, пмоли/мг					
	$^{14}\text{C}_1$ -ЦГНМ			$^{14}\text{C}_2$ -ЦГНМ		
	РНК	ДНК	белки	РНК	ДНК	
Мозг	2,2	—	88,7	17,4	—	10,4
Печень	0,6	1,1	125,4	18,5	20,6	17,5
Клетки лейкоза L1210	1,1	0,4	431,6	26,3	26,0	18,5

НАМ (НММ, ЦГНМ и БХНМ), введенные в терапевтических дозах животным-опухоленосителям и в опытах *in vitro*, вызывают интенсивное карбамоилирование белков. В табл. 81 и приведенных ниже данных показаны результаты опытов по связыванию ЦГНМ, меченной ^{14}C по циклогексильной ($^{14}\text{C}_1$ -ЦГНМ) и этильной ($^{14}\text{C}_2$ -ЦГНМ)-группам, с ДНК, РНК и белками *in vivo* и *in vitro* [24].

Ниже приводятся данные о связывании ^{14}C -ЦГНМ с нуклеиновыми кислотами и белками клеток лейкоза L1210 (*in vitro*):

Радиоактивность, пмоли/мг	$^{14}\text{C}_1$ -ЦГНМ	$^{14}\text{C}_2$ -ЦГНМ
РНК	0	57,5
ДНК	1,2	24,0
Белки	2006,7	32,0

Введение ЦГНМ, меченной ^{14}C по циклогексильной группе, мышам с лимфолейкозом L1210 вызывает интенсивное карбамоилирование белков, так же как и в опытах *in vitro*, в то время как карбамоилирование ДНК и РНК — незначительно. Следует отметить также умеренное и равномерное алкилирование информационных макромолекул *in vivo* и *in vitro*.

Обращает на себя внимание не только значительное преобладание реакций карбамоилирования белков над реакциями алкилирования, но и преимущественное связывание радиоактивных

циклогексильных остатков опухолевыми клетками (см. табл. 81). Наблюдаемый эффект может быть результатом как непосредственного контактного действия противоопухолевого препарата, который вводили внутривенно, так и различной восприимчивости нормальных и опухолевых клеток. Ряд данных свидетельствует в пользу второго предположения [25]. Была обнаружена большая чувствительность к токсическому действию НММ культуры ряда животных клеток, предварительно трансформированных канцерогенами, вирусами или спонтанно неопластических, по сравнению с нормальными клетками. НММ в отличие от β -хлорэтиламина и ММС в 50 раз более токсична в культуре опухолевых клеток (HeLa) по сравнению с культурой нормальных клеток китайского хомячка [26].

In vitro (суспензия и культура клеток лейкоза L1210) БХНМ, так же как и ЦГНМ, интенсивно карбамоилирует клеточные белки [23, 27]. Максимальное карбамоилирование (опыты с БХНМ и ЦГНМ, мечеными ^{14}C по карбонильной и циклогексильной группам) обнаружено в группе лизинбогатых гистонов (Н1), наиболее лабильной фракции белков, которые играют важную роль в сохранении структуры хроматина. С другой стороны, негистоновые так называемые кислые белки хроматина карбамоилируются и алкилируются в незначительной степени, что, вероятно, связано с низким содержанием лизина в этой фракции белков и стерическими факторами [27]. N^6 -(2-2-хлорэтилкарбамоил)-лизин — продукт реакции лизина с 2-хлорэтилизотиоцианатом — идентифицирован методами хроматографии и электрофореза [28]. Образование N^6 -циклогексилкарбамоиллизина показано в серии модельных опытов при взаимодействии ЦГНМ, меченной ^{14}C по карбонильной группе, с альбумином и поли-L-лизинном [29].

НММ вызывает быстрое карбамоилирование макромолекул и липидов после однократного введения животным-опухоленосителям (мыши с гепатомой 22а) в терапевтической дозе. Через час после введения НММ, меченной ^{14}C по карбонильной группе, радиоактивность в гепатоме составляет 3000, печени — 13 000, селезенке — 4400, мозгу — 17 500, почках — 7300 и эпителии тонкого кишечника — 4400 имп/мин/мг ДНК. Анализ распределения радиоактивности по фракциям (ДНК, РНК, белки, липиды) обнаруживает самый высокий уровень во фракции белков и липидов. Низкая радиоактивность обнаружена в РНК печени и селезенки через 1 ч после введения ^{14}C -НММ. Однако химический анализ модифицированных оснований (см. главу 2) свидетельствует о том, что в данном случае действительно имеет место карбамоилирование РНК, что было показано впервые. Наиболее высокая радиоактивность фракции липидов может служить указанием на участие реакций карбамоилирования в обеспечении высокой проницаемости НАМ через различные мембраны и гематоэнцефалический барьер [30].

Алкилизоцианаты, образующиеся при распаде НАМ, специфично повреждают ферменты: октилизоцианат подавляет активность химотрипсина, но не действует на эластазу, хотя оба эти фермента содержат в составе активного центра серин; предполагается, что ингибирование происходит благодаря карбамоилированию гидроксильных групп серина. С другой стороны, бутилизоцианат инактивирует оба фермента, но эластазу в большей степени. По всей вероятности, размеры цепей и свойства носителей изоцианановых групп могут оказывать существенное влияние на карбамоилирование белков [31].

Высокая противоопухолевая активность НАМ и их отличие от обычных алкилирующих агентов создают благоприятные предпосылки для исследования молекулярных механизмов их биологической активности. Детальный анализ соотношения химических, физико-химических свойств и противоопухолевой активности 17 производных в ряду НАМ позволил предложить критерии противоопухолевой эффективности этих соединений: низкая карбамоилирующая активность, сравнительно невысокая стабильность и высокая способность к алкилированию биомолекул [32]. По-видимому, противоопухолевая эффективность НАМ обусловлена сочетанием их алкилирующей и карбамоилирующей активности.

РЕДУПЛИКАЦИЯ

Ингибирование синтеза ДНК в опухолевых клетках — основной биохимический критерий эффективности действия противоопухолевых препаратов.

Стрептозотозин и НММ *in vitro* в большей степени ингибируют синтез ДНК, чем синтез РНК и белков в опухолевых клетках (лейкоз L1210, асцитная карцинома Эрлиха, фибробласты китайского хомячка [33—35]). Такие же результаты получены и в опытах *in vivo* при изучении механизма действия БХНМ (мышь с солидной формой лейкоза L1210 и асцитной карциномой Эрлиха) [34—36].

Введение НПМ в очень низкой дозе (10 мг/кг) мышам с асцитной карциномой Эрлиха быстро вызывает ингибирование включения ¹⁴C-формиата натрия во фракцию ДНК опухолевых клеток (рис. 36). Подобные эффекты обнаружены и при изучении действия НПМ на синтез ДНК в клетках гепатомы 22а [37]. В опытах на мышах с асцитной карциномой Эрлиха при введении НПМ в малой дозе (10 мг/кг, 30 мин) включение меченого предшественника в ДНК активируется во всех случаях, кроме асцитных клеток, где сразу отмечается ингибирование синтеза ДНК.

Введение НПМ приводит к нарушениям синтеза ДНК также и в органах животных-опухоленосителей: через 60 мин после введения препарата (50 и 100 мг/кг) отмечается торможение

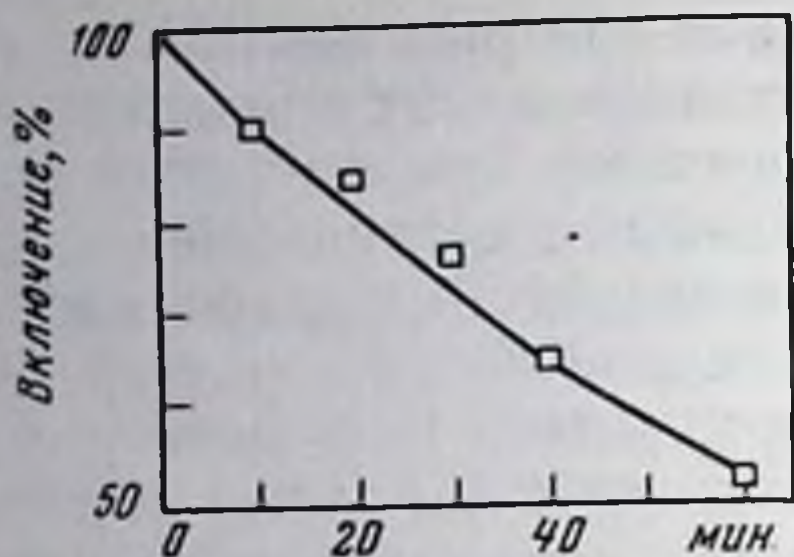


Рис. 36. Влияние НПМ на кинетику включения ^{14}C -формиата в ДНК асцитной карциномы Эрлиха (in vivo)

Доза НПМ 10 мг/кг

синтеза ДНК в клетках гепатомы 22а, печени и селезенке (табл. 82) [37].

Активация включения меченых предшественников (^3H -тимидин, ^{14}C -формиат) в ДНК (клетки костного мозга, эпителия тонкого кишечника, печени и лейкоза L1210) имеет место также и после введения БХНМ (10^{-6} — 10^{-3} М). По-видимому, это зависит не от активации собственно синтеза ДНК, а от ингибирования синтеза пуринов и пиримидинов de novo [34, 38]. Увеличение концентрации этого препарата до 10^{-2} М приводит к глубокому торможению включения меченых предшественников в ДНК. Аналогичное действие наблюдается и при добавлении в суспензию опухолевых клеток на 30 мин НПМ (табл. 83).

Практически полное ингибирование синтеза ДНК в органах здоровых крыс отмечается через 6 ч после внутрибрюшинного введения НММ [39]. Полученные экспериментальные данные характеризуют изменения в синтезе ДНК при однократном введе-

Таблица 82

Влияние НПМ на включение ^{14}C -формиата натрия в ДНК асцитных клеток, гепатомы, печени и селезенки мышей (в % к контролю)

Орган и опухоль	НПМ, мг/кг	Время после введения НПМ, мин		
		30	60	120
Асцитная карцинома Эрлиха	10	80	—	—
	200	30	—	—
Гепатома 22а	50	50	37	16
	100	46	51	15
	10	134	—	—
	50	53	43	39
Печень	100	63	30	32
	200	43	—	—
	10	186	—	—
	50	72	50	56
Селезенка	100	62	26	23
	200	40	—	—

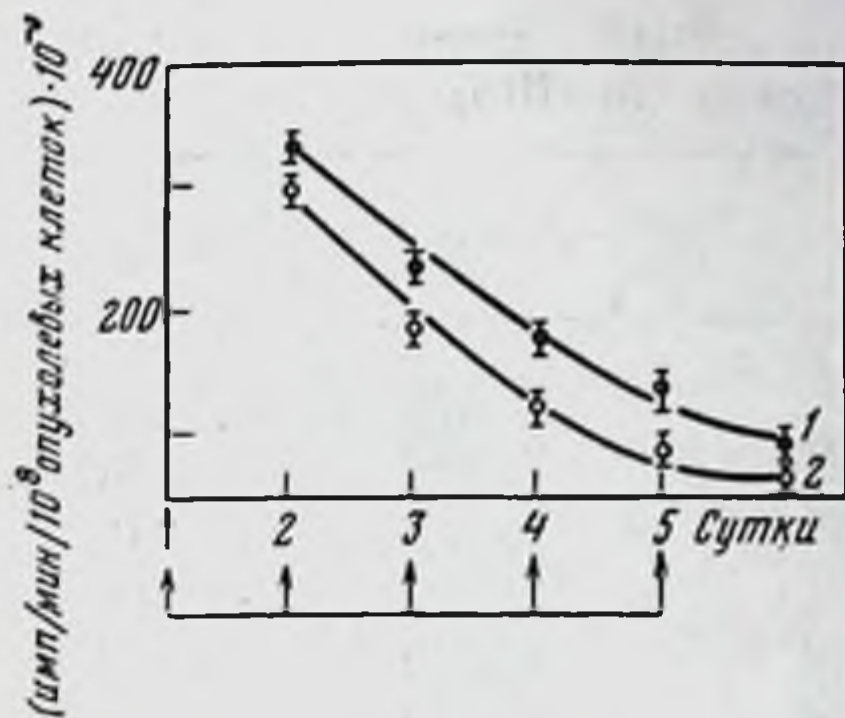


Рис. 37. Изменение включения ^{14}C -тимидина в ДНК опухолевой клетки при развитии лейкоза L1210

1 — контроль; 2 — мыши, леченные НММ

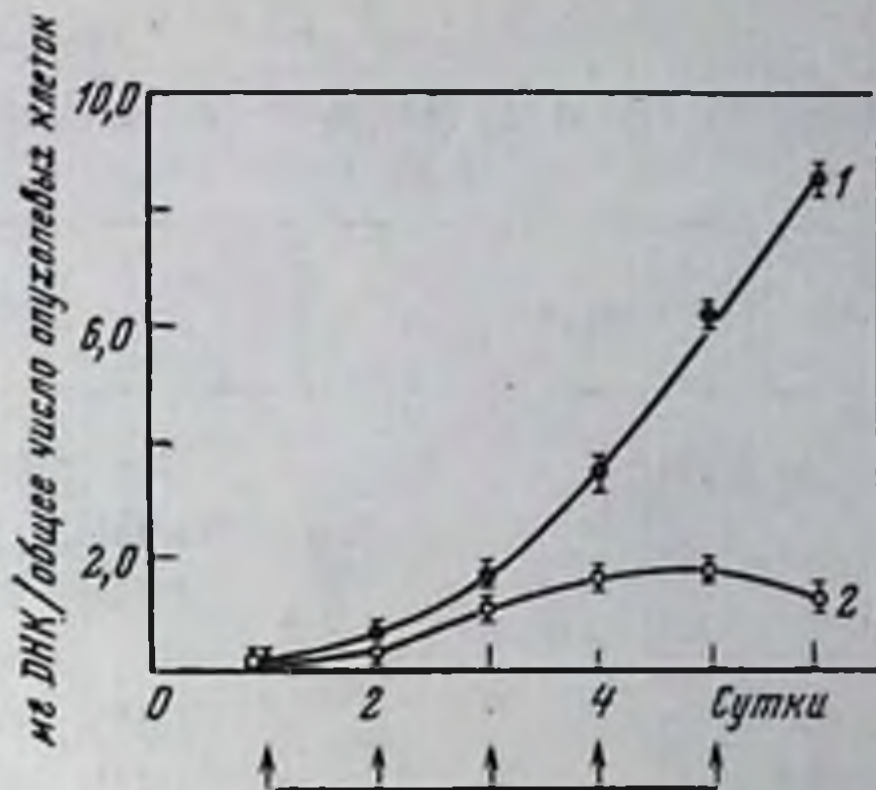
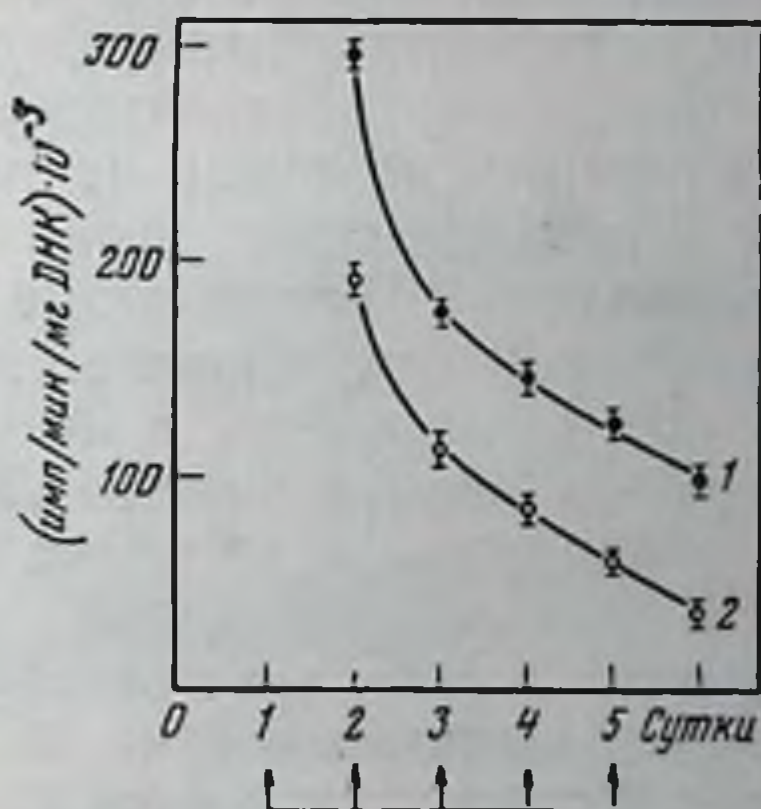


Рис. 38. Изменение содержания ДНК в опухоли при развитии лейкоза L1210

1 — контроль; 2 — мыши, леченные НММ

Рис. 39. Изменение удельной радиоактивности ДНК опухолевых клеток при развитии лейкоза L1210

1 — контроль;
2 — мыши, леченные НММ



нии НАМ на терминальной стадии развития опухолевого процесса.

Изменения в интенсивности включения ^{14}C -тимидина в клетки лейкоза L1210 при многократном введении НММ (20 мг/кг \times 5) ежедневно, начиная со следующих суток после прививки опухолевых клеток, т. е. в условиях заметного терапевтического эффекта, показывают, что на всем протяжении развития опухоли включение радиоактивного предшественника в ДНК достоверно снижено (рис. 37, кривая 2). Было обнаружено также некоторое повышение содержания ДНК [40], что, естественно, приводит к снижению показателя удельной радиоактивности при введении НММ (рис. 39, кривая 2).

Таблица 83

Влияние НПМ на включение ^{14}C -формата в ДНК клеток лейкоза L1210 и асцитной карциномы Эрлиха (in vitro)

Тип клеток	Добавки	Имп/мин/мг	% к контролю
Лейкоз L1210	Без добавок	1456	100
	НПМ, 10^{-4} М	1080	74
	НПМ, 10^{-3} М	150	10
Асцитная карцинома Эрлиха	Без добавок	5200	100
	НПМ, 10^{-4} М	2240	47
	НПМ, 10^{-3} М	1000	20

Ингибирующее действие этого препарата на синтез ДНК становится более очевидным, если в качестве контроля принять исходный уровень удельной радиоактивности ДНК (2 сут). В таком случае пятикратное введение НММ приводит к 90%-ному торможению синтеза ДНК в опухолевых клетках. Кинетика включения ^{14}C -тимидина в ДНК клеток печени и селезенки животных-опухоленосителей после введения НММ у контрольных животных показана на рис. 40, а, б. В процессе развития лейкоза L1210 в обоих органах наблюдается заметное увеличение включения ^{14}C -тимидина в ДНК, что, возможно, связано как с активацией иммунокомпетентных клеток, так и с инфильтрацией лейкозных клеток в печень и селезенку по мере развития лейкоза. Активация синтеза ДНК в селезенке, печени и почках крыс обнаружена в процессе развития быстрорастущей гепатомы [41]. Под действием НММ включение ^{14}C -тимидина тормозится и всегда несколько ниже уровня нормы, присущего интактным животным (рис. 40, а, б, кривые 2). Аналогичные закономерности наблюдаются при определении суммарной радиоактивности низкомолекулярных предшественников ДНК с той лишь разницей, что в присутствии НММ значение радиоактивности несколько выше уровня нормы (рис. 41, а, б, кривые 2). Содержание ДНК в органах контрольных животных практически не изменяется с ростом опухоли, а под действием препарата к концу лечения снижается, особенно в селезенке (около 25%) [40].

Следовательно, при многократном введении НММ мышам с лейкозом L1210 в условиях заметного терапевтического эффекта происходят глубокие нарушения синтеза ДНК как в опухолевых клетках, так и в органах животных-опухоленосителей; последние, однако, менее выражены. Причины избирательного действия НАМ могут быть различными. Это может быть следствием избирательного концентрирования НАМ в опухолевых клетках или

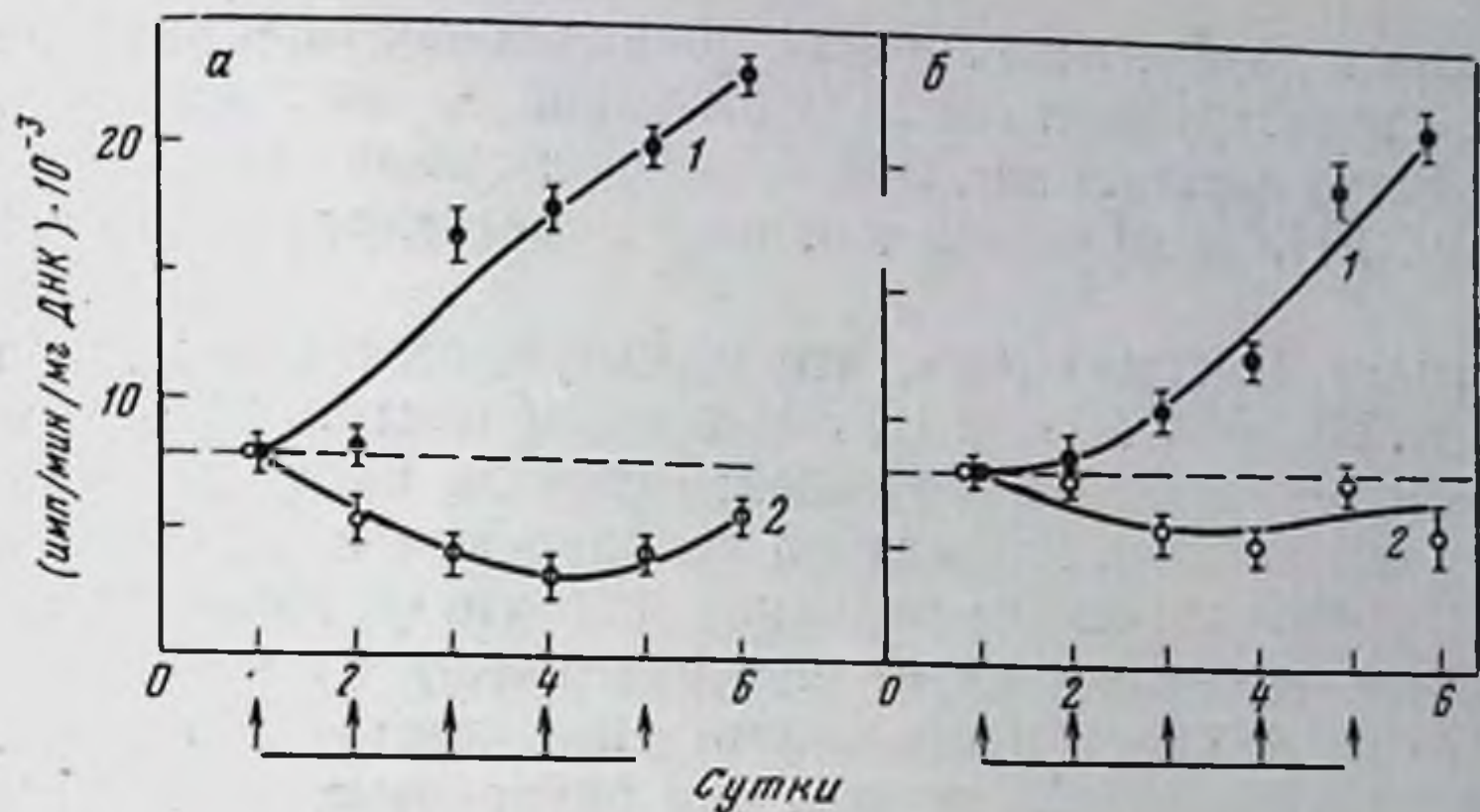


Рис. 40. Изменение включения ^{14}C -тимидина в ДНК клеток селезенки (а) и печени (б) при развитии лейкоза L1210

1 — контроль; 2 — мыши, леченные НММ

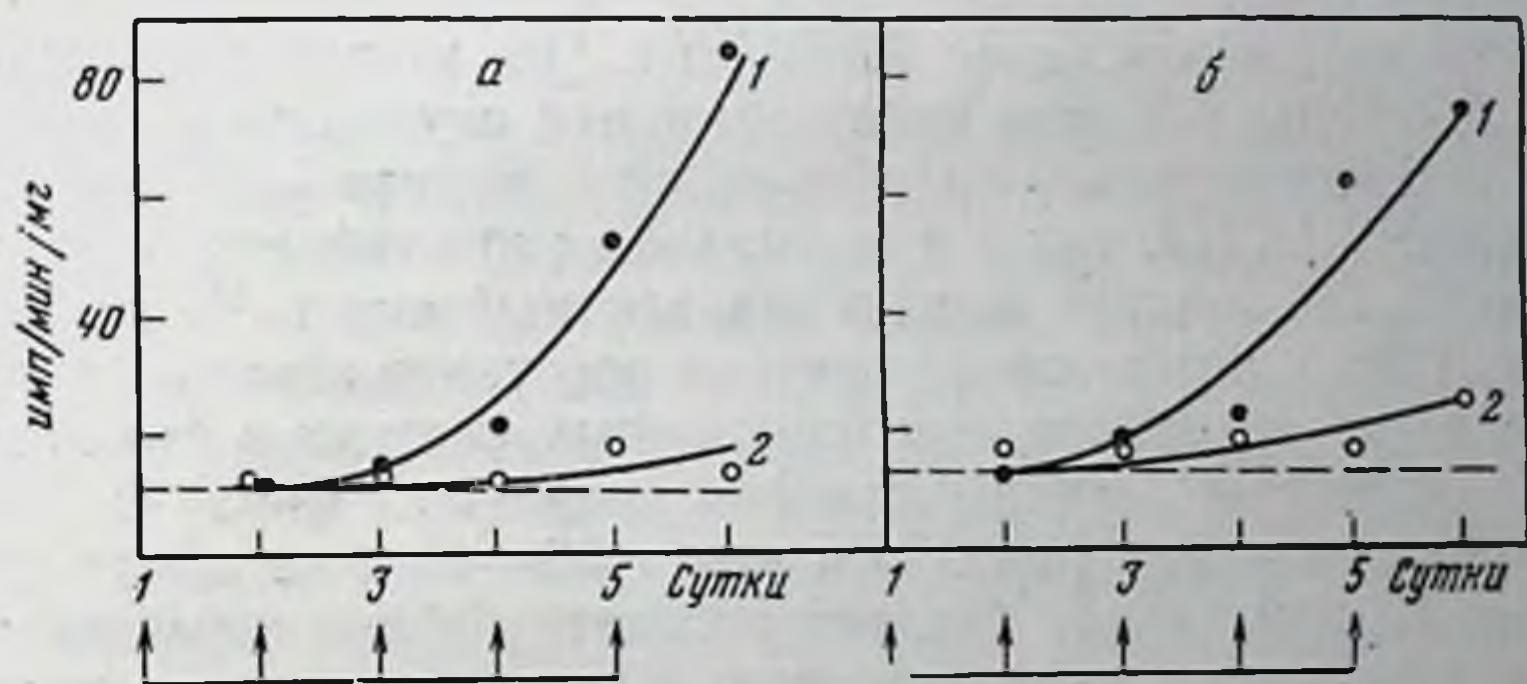


Рис. 41. Изменение включения ^{14}C -тимидина в кислоторастворимую фракцию клеток селезенки (а) и печени (б) при развитии лейкоза L1210

1 — контроль; 2 — мыши, леченные НММ

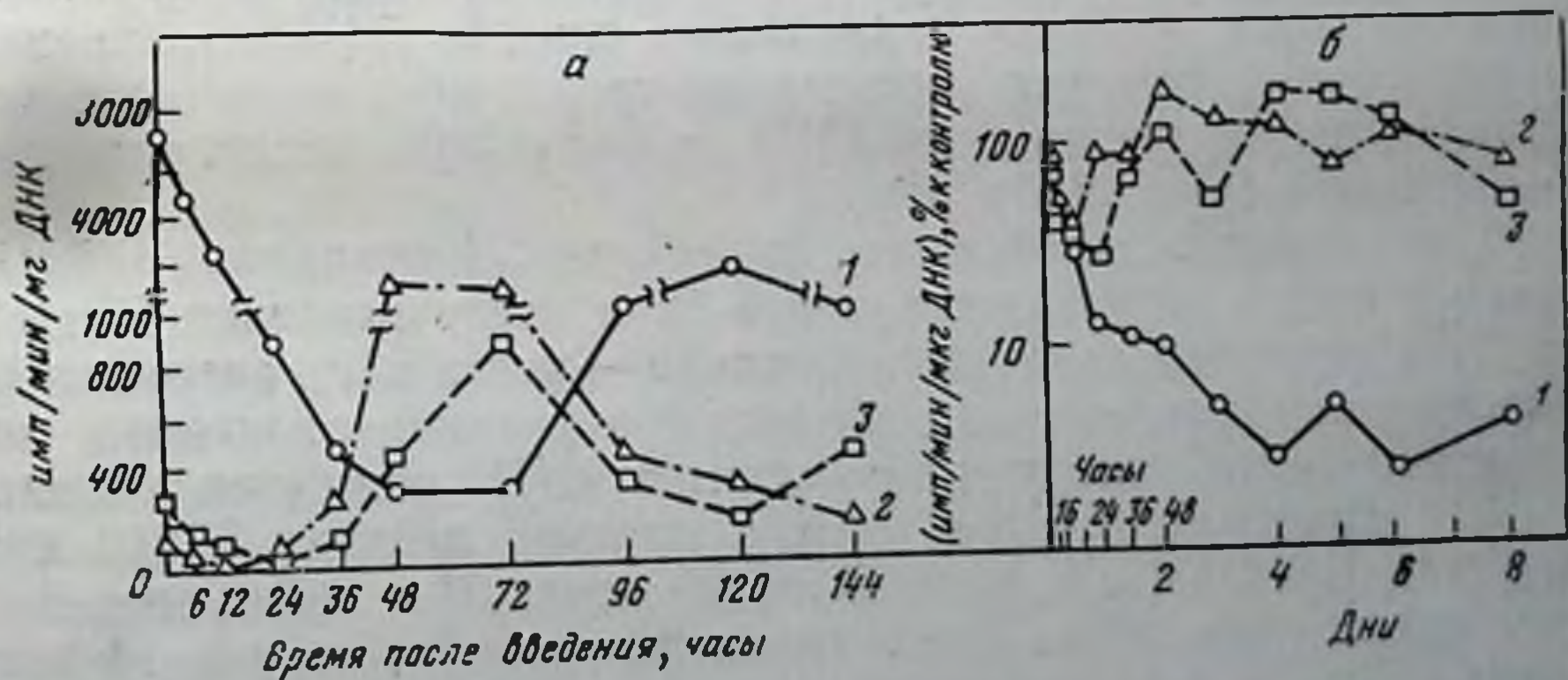


Рис. 42. Действие однократной дозы МеЦГНМ (16 мг/кг) (а) и БХНМ (16 мг/кг) (б) на синтез ДНК

1 — в клетках лейкоза L1210; 2 — костного мозга; 3 — эпителия тонкого кишечника

различий в глубине и скорости повреждения аппарата редупликации, транскрипции или трансляции и, наконец, различий в скоростях репарации ДНК и освобождения от повреждений молекул РНК и белков и замена их синтезированными *de novo* [42].

В главе II отмечалось, что преимущественное концентрирование НММ, БХНМ или ЦГНМ в опухолевых клетках не имеет места. Более глубокое торможение синтеза макромолекул в различных опухолевых клетках по сравнению с нормальными вряд ли имеет определяющее значение для избирательного действия НАМ. В этой связи следует еще раз подчеркнуть описанное ранее явление — способность нормальных клеток органов животных-опухоленосителей быстрее, чем опухолевых клеток освобождаться от метилированных и карбамоилированных макромолекул. Эти результаты подтверждаются новыми данными о различной способности нормальных и опухолевых клеток восстанавливать повреждения в синтезе ДНК, вызываемые введением различных НАМ.

Однократное введение МеЦГНМ (16 мг/кг) мышам с лейкозом L1210 на 6-й день после прививки опухолевых клеток приводит к существенному ингибированию синтеза ДНК как в клетках лейкоза L1210, так и в нормальных пролиферирующих клетках (эпителий тонкого кишечника, костный мозг). Через 36—48 ч синтез ДНК в нормальных клетках восстанавливается и активируется выше исходного, а в опухолевых клетках в это же самое время достигает минимального значения (рис. 42, а) [43]. Повторное введение МеЦГНМ через 36—48 ч не имеет смысла, так как в этом случае следует ожидать гибели нормальных делящихся клеток, а не опухолевых. С другой стороны, повторная инъекция МеЦГНМ через 120 ч, т. е. в условиях частично восстановленного синтеза ДНК в лейкозных клетках и нормальных клетках, наиболее благоприятна для проявления химиотерапевтического эффекта [43]. Подобные закономерности обнаружены и при изучении кинетики торможения синтеза ДНК в лейкемических клетках, клетках костного мозга и эпителия тонкого кишечника после введения БХНМ в широком интервале доз (4—32 мг/кг) (рис. 42, б) [38].

Максимальное торможение включения ^3H -тимидина в ДНК костного мозга наблюдается через 12 ч после введения БХНМ, а в ДНК эпителия тонкого кишечника — через 24 ч, затем после полного восстановления и небольшой активации включения радиоактивного предшественника синтез ДНК снижается до значений в контроле. Синтез ДНК в клетках лейкоза L1210 под влиянием БХНМ (4, 8, 16 и 32 мг/кг) через 24 ч после введения ингибируется на 90%. Этот глубокий ингибирующий эффект сохраняется до 8-го дня после введения БХНМ (16 мг/кг) (см. рис. 42, б). Сопоставление противоопухолевой активности БХНМ при разных режимах введения препарата показывает, что тера-

терапевтическую эффективность можно увеличить, если вместо однократного введения препарата в дозе 32 мг/кг на 6-е сутки после прививки опухолевых клеток вводить два раза по 16 мг/кг в период максимального торможения синтеза ДНК в клетках организма-хозяина или сразу же после полного восстановления в них синтеза ДНК.

Терапевтическая активность резко снижается, если повторное введение проводить в период, когда нормальные делящиеся клетки активно пролиферируют (период активации включения ^3H -тимидина в ДНК) или в случае слишком длительного интервала времени между двумя дозами, когда синтез ДНК в опухолевых клетках восстанавливается [38]. Введение БХНМ и MeЦГНМ здоровым хомячкам и опухоленосителям с плазмоцитомой вызывает неустойчивое ингибирование включения ^3H -тимидина в ДНК печени, селезенки, почек, легких и мозга и более устойчивое (по крайней мере в течение 168 ч) торможение синтеза ДНК в опухолевых клетках. Аналогичные результаты получены в опытах на мышах с опухолью легких Льюиса с той лишь разницей, что практически не было замечено ингибирования включения меченого предшественника в печень, почки и мозг. Установлена корреляция между глубиной ингибирования включения ^3H -тимидина в ДНК опухоли Льюиса и противоопухолевой активностью ЦГНМ и MeЦГНМ: последний сильнее тормозит синтез ДНК в опухолевых клетках и более эффективен при лечении [44]. Более длительное и устойчивое торможение синтеза ДНК в опухолевых клетках (лейкоз L1210, саркома 180), чем в нормальных активно делящихся (костный мозг, селезенка, лимфоузлы, эпителий тонкого кишечника), наблюдается при введении БХНМ [45], MeЦГНМ [46], ЦГНМ и 3-(тетраацетилглюкопираноз-2-ил-1-2-хлорэтил)-1-нитрозомочевины [47].

Следовательно, различная способность нормальных и опухолевых клеток к восстановлению синтеза ДНК от повреждений НАМ, очевидна. Причины этого явления не вполне ясны. В частности, экспериментально показано, что клетки гепатомы 22a в отличие от клеток печени могут интенсивно использовать предварительно алкилированные метаболиты для синтеза ДНК, РНК и белков [48]. Влияние БХНМ и ЦГНМ на синтез ДНК исследуется в бесклеточной ДНК-полимеразной системе с неочищенными и чистыми формами фермента ДНК-полимеразы. Сырой бесклеточный гомогенат из клеток лейкоза L1210 после инкубации с БХНМ, ЦГНМ или 2-хлорэтилизоцианатом (2-ХЭИЦ) теряет ДНК-полимеразную активность. При предварительной обработке препаратов ДНК с БХНМ матричная активность в ДНК-полимеразной реакции практически не меняется [49].

Аналогичные результаты по ингибированию синтеза ДНК НАМ и продуктами их разложения получены в ДНК-полимеразной системе с очищенными формами ферментов, ДНК-полимеразой I и ДНК-полимеразой II, выделенными из печени и гепа-

томы Новикова. Активность немитохондриальной ДНК-полимеразы I не зависит от скорости пролиферации опухолей (опыты с набором минимально отклоненных гепатом с различной скоростью роста), в то время как активность ДНК-полимеразы II положительно коррелирует с пролиферативной активностью ткани и по некоторым другим признакам принадлежит к истинным репликазам. БХНМ, ЦГНМ, МеЦГНМ, а также соответствующие изоцианаты, 2-ХЭИЦ и циклогексизоцианат (ЦГИЦ) ингибируют активность только ДНК-полимеразы II [50]. Данные ингибирования (в %) активности ДНК-полимераз I и II печени крысы НАМ и изоцианатами (1 мМ) приведены ниже:

Препарат	ДНК-полимераза I	ДНК-полимераза II
БХНМ	0	54±5
ЦГНМ	2±2	60±4
МеЦГНМ	0	61±7
2-ХЭИЦ	0	93±0
ЦГИЦ	0	93±1

Преинкубация фермента со всеми препаратами (кроме ЦГИЦ) в концентрации 1 мМ существенно усиливает ингибирующий эффект; ЦГИЦ при добавлении в ДНК-полимеразную реакцию (без преинкубации) тормозит синтез ДНК-продукта на 92% (табл. 84).

НАМ и изоцианаты ингибируют *in vitro* синтез ДНК, взаимодействуя с ферментом ДНК-полимеразой II, а не ДНК-матрицей. Другие продукты распада НАМ, такие как 2-хлорэтиламин и циклогексиламин, алкилирующие белки, не влияют на активность ДНК-полимеразы II. Предполагается, что карбамоилирование аминокетильной группы ДНК-полимеразы II ответственно за наблюдаемые эффекты [50—52].

Следует отметить, что 2-ХЭИЦ в большей степени, чем исходный препарат БХНМ, ингибирует процессы репарации одиночных разрывов в молекуле ДНК культуры клеток лейкоза L1210, предварительно облученной рентгеновскими лучами (1000 рад). Ингибирование репарации ДНК наблюдается при низких концентрациях 2-ХЭИЦ (0,25 мкМ), когда не удается

Таблица 84

Влияние преинкубации препаратов с ДНК-полимеразой II и ДНК-матрицей

Преинкубированный компонент системы	Ингибирование НАМ, %				
	БХНМ	ЦГНМ	МеЦГНМ	2-ХЭИЦ	ЦГИЦ
Без преинкубации	28±6	42±12	45±7	76±6	92±2
ДНК-полимераза II	54±5	60±4	61±7	93±0	93±1
ДНК-матрица	29±11	36±8	26±5	0	31±11

обнаружить торможения синтеза и процессинга РНК, а также каких-либо изменений в структуре ДНК [53].

Таким образом, изоцианаты (2-ХЭИЦ и ЦГИЦ), не обладающие противоопухолевой активностью, карбамоилируют ДНК-полимеразу II и, возможно, другие ферменты репарации и вносят свой вклад не только в общую токсичность, но также и в противоопухолевую эффективность НАМ.

ТРАНСКРИПЦИЯ И ПРОЦЕССИНГ

НАМ вызывает серьезные нарушения в синтезе РНК. БХНМ *in vitro* в низких концентрациях (5—10 мг/кг) активирует включение ^{14}C -аденина и ^{14}C -урацила в РНК клеток асцитной карциномы Эрлиха и лейкоза L1210. Увеличение концентрации БХНМ приводит к глубокому ингибированию синтеза пуририбонуклеотидов и РНК в опухолевых клетках [34, 36]. Изменение синтеза пуринов *de novo* под влиянием БХНМ проявляется в стимулировании включения ^{14}C -формиата и 3- ^{14}C -серина в аденин и гуанин и ингибировании включения 2- ^{14}C -гистидина в пурины РНК лейкозных клеток мышей и человека [54]. БХНМ в отличие от β -хлорэтиламинов преимущественно ингибирует синтез ядрышковой РНК в культуре клеток лейкоза L1210 [55].

Нарушение синтеза РНК в опухолевых клетках, органах животных-опухоленосителей и здоровых мышей при введении НММ и НПМ систематически исследуется в опытах *in vivo* (мыши с асцитной карциномой Эрлиха и солидной гепатомой 22а).

На рис. 43 представлены кинетические кривые зависимости включения ^{14}C -формиата натрия в тотальную РНК асцитных клеток в зависимости от времени воздействия и дозы препарата НПМ. Введение препарата в очень малой дозе (10 мг/кг) быстро вызывает кратковременную активацию включения меченого предшественника в тотальную РНК, которая затем сменяется глубоким торможением. Увеличение концентрации НПМ приводит к тому, что уже не удается наблюдать активацию включения ^{14}C -формиата в РНК, а сразу наступает глубокое торможение синтеза.

Подобный характер зависимости был обнаружен также и в опытах на мышах линии СЗНА с солидной гепатомой 22а (табл. 85) [37].

Разделением препаратов тотальной РНК в градиенте концентрации сахарозы при ультрацентрифугировании (асцитный рак Эрлиха) или методом термического фракционирования фенолом (гепатома 22а мышей) определяются фракции РНК, наиболее чувствительные к действию НММ и НПМ (рис. 44, табл. 86).

Введение НПМ в дозе 200 мг/кг на 240 мин вызывает торможение синтеза рРНК и тРНК; аналогичные данные были

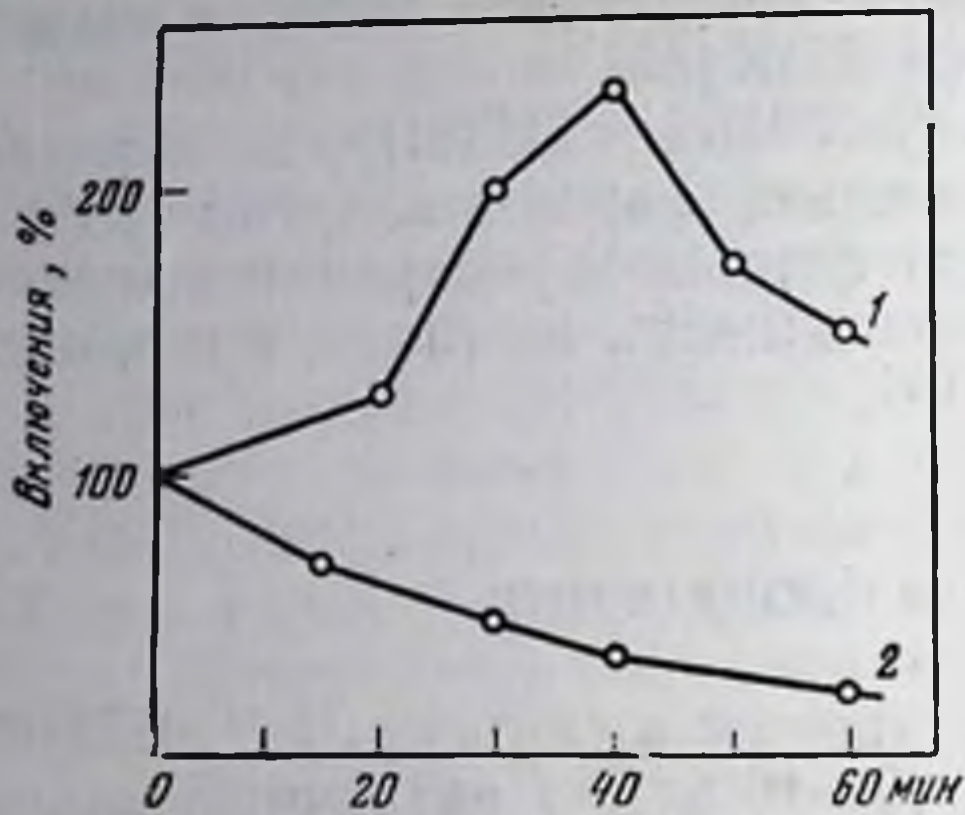


Рис. 43. Влияние НПМ на кинетику включения ^{14}C -формата в РНК асцитной карциномы Эрлиха (in vivo)

1 — НПМ (10 мг/кг);
2 — НПМ (200 мг/кг)

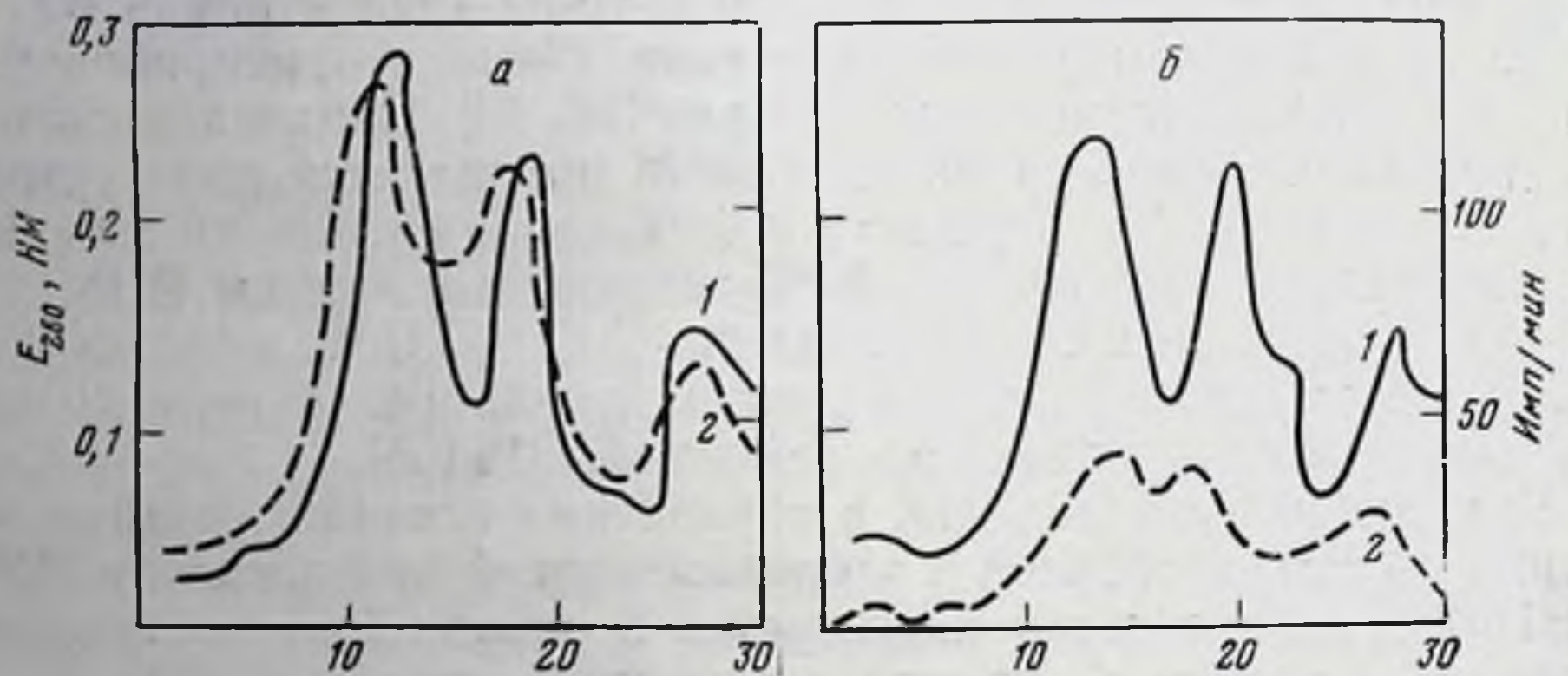


Рис. 44. Фракционирование тотальной РНК асцитной карциномы Эрлиха в градиенте сахарозы

Экспозиция животных с $\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$ в течение четырех часов; а — контроль; б — животных выдерживали с НПМ (200 мг/кг) 4 ч: 1 — поглощение УФ-света; 2 — радиоактивность

получены и при препаративном разделении рРНК и тРНК. Введение НПМ в дозе 200 мг/кг на 4 ч не вызывает распада предсуществующих РНК.

Полученные данные свидетельствуют о равномерном торможении синтеза различных классов РНК (цитоплазматических и ядерных) при несколько большей чувствительности фракции ДРНК₂, которая является метаболически лабильной и распадается в клеточном ядре.

Введение НПМ сразу же отражается на интенсивности синтеза РНК не только в опухолевых клетках, но и в органах животных-опухоленосителей и здоровых мышей (табл. 87 и 88).

Как у здоровых мышей, так и у животных-опухоленосителей уже через 60 мин НПМ в концентрации 50 и 100 мг/кг вызывает торможение синтеза РНК в опухолевых клетках, а также в печени и селезенке. В опытах на мышах с асцитной карциномой

Таблица 85

Влияние НПМ на включение ^{14}C -формината в РНК гепатомы 22а

РНК*	Концентрация НПМ, мг/кг	Время после введения, мин			
		30		60	
		имп/мин	% к контролю	имп/мин	% к контролю
Контроль	10	510	100	980	100
Опыт		632	124	680	69
Контроль	100	612	100	850	100
Опыт		430	70	400	47
Контроль	200	737	100	—	—
Опыт		365	50		

* Образцы РНК выделены из гепатомы контрольной группы мышей и из гепатомы животных, которым вводили НПМ.

Таблица 86

Влияние НММ через 60 мин после введения на включение ^{14}C -уридина в различные фракции РНК клеток гепатомы 22а

Фракции РНК	Контроль	НММ (80 мг/кг), имп/мин/мг	В % к контролю
pРНК	2956	1428	48,3
ДРНК ₁	3412	2335	68,5
ДРНК ₂	563	205	37,2

Эрлиха при введении очень малой дозы НПМ (10 мг/кг, 30 мин) наблюдается активация включения меченых предшественников в РНК почти во всех случаях (кроме РНК селезенки здоровых мышей). Причина этой кратковременной активации неясна. Подобное явление наблюдалось и при воздействии БХНМ на синтез РНК *in vivo* [34, 36], а также в опытах *in vitro* (табл. 89) [37].

Следовательно, *in vitro*, также как и *in vivo*, наблюдается существенное ингибирование включения меченых предшественников в тотальную РНК опухолевых клеток.

Приведенные выше результаты опытов *in vivo* о действии НММ, НПМ и БХНМ на синтез РНК были получены при введении этих препаратов животным-опухоленосителям только на терминальной стадии развития опухолевого процесса, что неадекватно условиям лечения больных в клинике. В этой связи перспективной представляется другая постановка опытов. Прежде всего была выбрана модель — лейкоз L1210, развитие которого удовлетворительно воспроизводит течение острых лимфолейкозов человека. НММ вводится мышам в дозе 20 мг/кг/сут еже-

Таблица 87

Влияние НПМ через 30 мин после введения на включение ^{14}C -формината натрия в РНК

НПМ, мг/кг	Нормальные мышцы		Мыши-опухолесители	
	имп/мин/мг	% к контролю	имп/мин/мг	% к контролю
Печень				
Не вводили	172	100	180	100
10	418	243	265	147
200	53	31	67	37
Селезенка				
Не вводили	2904	100	2071	100
10	2149	74	4140	200
200	784	27	642	31
Асцитная карцинома Эрлиха				
Не вводили	—	—	4200	100
10	—	—	6720	160
200	—	—	1470	35

Таблица 88

Влияние НПМ на включение 2- ^{14}C -уридина в РНК (в % к контролю)

Орган	Концентрация НПМ, мг/кг					
	50			100		
	30 мин.	60 мин.	120 мин.	30 мин.	60 мин.	120 мин.
Гепатома	124	69	47	69	55	50
Селезенка	90	80	50	63	63	51
Печень	72	64	61	55	50	50
Почки	97	74	63	61	63	60

дневно, начиная со следующих суток после прививки опухоли. В этом случае отмечается заметный терапевтический эффект: увеличение сроков жизни мышей более чем вдвое по сравнению с контролем [40].

С фактом торможения роста опухоли под влиянием НПМ хорошо согласуются данные об ингибирующем действии препарата на содержание РНК в опухолевых клетках (рис. 45). Аналогичный характер имеют кинетические кривые включения ^{14}C -уридина в РНК с той лишь разницей, что в период с трех суток до гибели животных (6-е сут) включение меченого предшественника в РНК клеток лейкоза L1210 контрольной группы животных практически не изменяется (рис. 46, а, кривая 1).

При оценке действия НПМ на включение ^{14}C -уридина в РНК отдельной опухолевой клетки также выявляется снижение этого

Таблица 89

Влияние НПМ на синтез РНК *in vitro* (время инкубации с НПМ — 30 мин)

Тип клеток	Добавки	Включение ¹⁴ С-уридина	
		имп/мин/мг	% к контролю
Лейкоз L1210	Без добавок	4830	100
	НПМ, 10 ⁻⁴ М	6800	140
	НПМ, 10 ⁻³ М	2118	43
Асцитная карцинома Эрлиха	Без добавок	5275	100
	НПМ, 10 ⁻⁴ М	7915	150
	НПМ, 10 ⁻³ М	2110	50

показателя по мере роста опухоли (за исключением 6 сут). Однако уровень включения радиоактивности в РНК при воздействии НММ (рис. 46, б, кривая 2) в течение всего периода роста опухоли несколько выше чем в контроле (кривая 1), что особенно выражено на 6-е сут, т. е. после окончания лечения. Это увеличение можно связать с повышением радиоактивности кислоторастворимой фракции опухолевых клеток после воздействия НММ. В частности, резко повышена радиоактивность УТФ — непосредственного предшественника синтеза РНК. Так, включение ¹⁴С-уридина в УТФ под влиянием НММ увеличивается в 4,6 раза по сравнению с контролем. Ниже приводятся данные о влиянии НММ на включение ¹⁴С-уридина во фракцию рибонуклеотидфосфатов (РНФ) (в имп/мин · 10⁶ опухолевых клеток):

РНФ	Контроль	НММ
УТФ	1062	4934
УДФ	3268	16 858
УМФ	2951	30 016

Наблюдаемый эффект может быть обусловлен либо активацией всей системы синтеза РНФ, либо торможением собственно синтеза РНК, которое уменьшает утилизацию УТФ и приводит к накоплению метки в кислоторастворимой фракции.

На более ранних этапах развития лейкоза (2—5 сут) ингибирующее действие НММ на синтез РНК маскируется активацией синтеза низкомолекулярных предшественников под влиянием препарата в течение всего периода роста опухоли.

Величина удельной радиоактивности РНК при воздействии НММ существенно ниже контрольных значений, особенно в ранние сроки действия препаратов (см. рис. 47, кривая 2). Удельная радиоактивность РНК под влиянием НММ постоянно снижается во времени. Наблюдаемый эффект свидетельствует, очевидно, о замедлении процессов синтеза РНК в опухолевых клетках под действием НММ. Кинетические кривые, описывающие

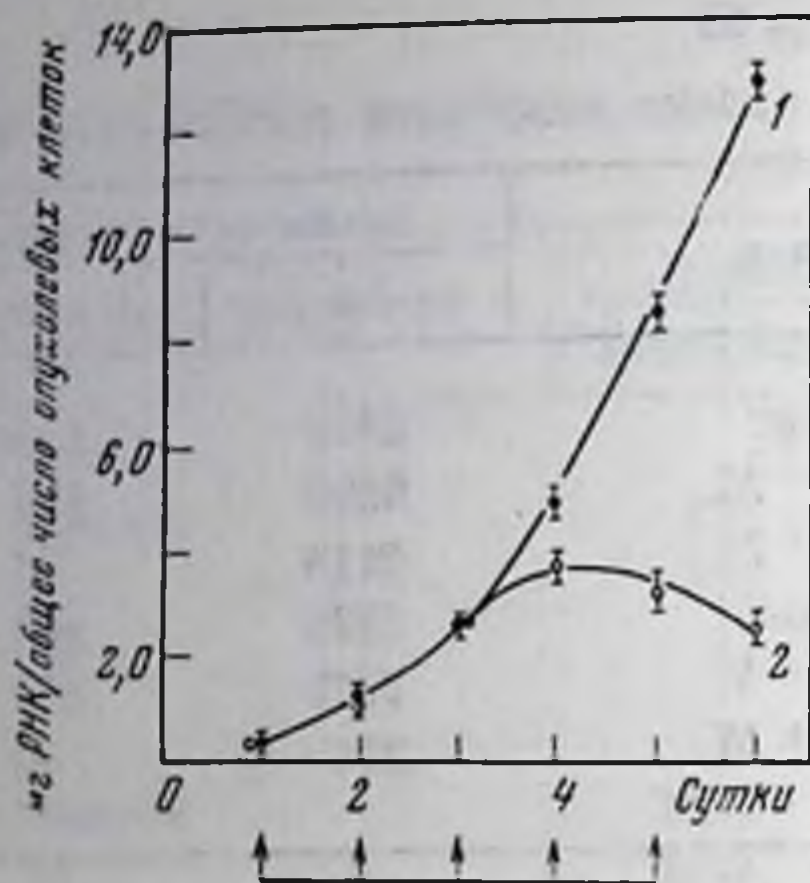
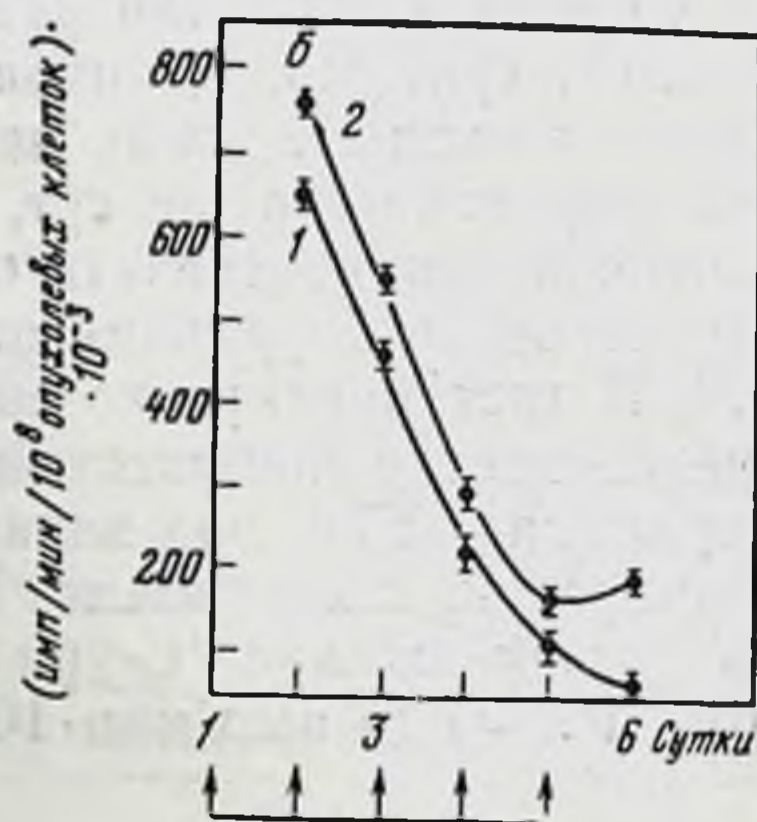
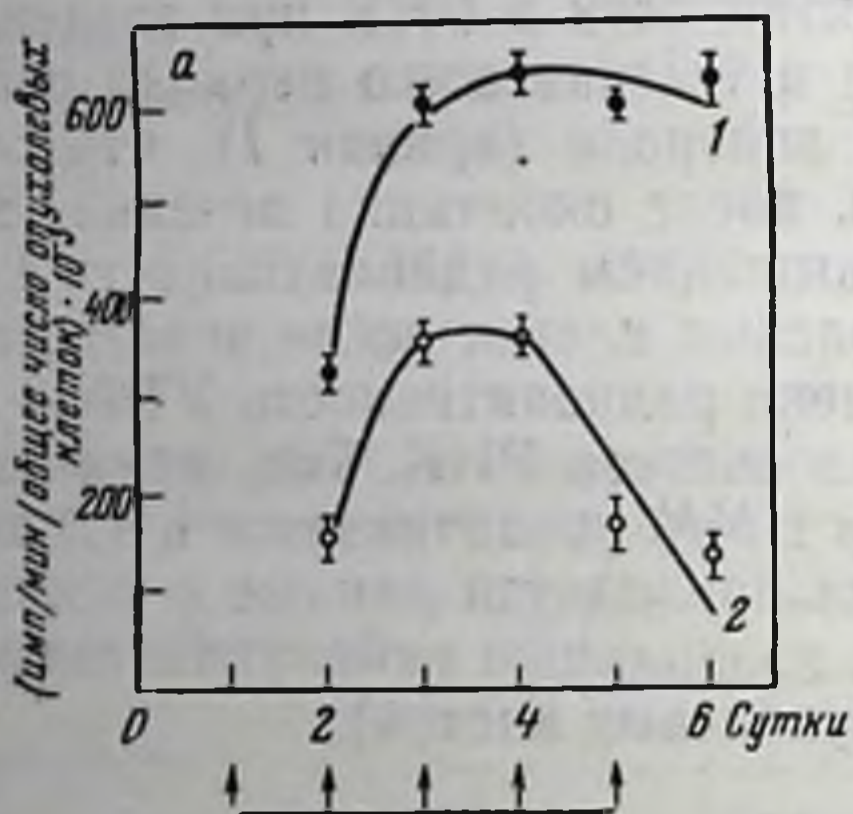


Рис. 45. Изменение содержания РНК в опухоли при развитии лейкоза L1210

1 — контроль;
2 — мыши, леченные НММ

Рис. 46. Изменение включения ^{14}C -уридина в РНК в опухоли (а) и опухолевой клетке (б) при развитии лейкоза L1210

1 — контроль;
2 — мыши, леченные НММ



этот процесс, имеют S-образный характер, что может означать, что в период введения препарата (2—5-е сут) замедление синтеза РНК выражено наиболее резко.

Ингибирующее действие НММ на синтез РНК клеток лейкоза L1210 становится особенно очевидным, если в качестве контроля принять исходный уровень радиоактивности РНК (2-е сут) (рис. 47). Подобное сравнение представляется уместным и наиболее показательным, поскольку в описываемых опытах синтез РНК существенно меняется по мере роста опухоли. При таком методе оценки эффекта синтез РНК ингибируется на 80%.

Изменение содержания РНК под влиянием препарата (рис. 48) наблюдается и при воздействии ряда алкилирующих препаратов (милеран, мелфалан, хлорамбуцил) на популяцию чувствительных клеток асцитной опухоли Иосида. В резистентных опухолевых клетках содержание РНК не увеличивалось [56].

Причины увеличения содержания РНК не понятны, однако полученные результаты указывают на глубокие нарушения ме-

Рис. 47. Изменение удельной радиоактивности РНК в опухолевых клетках при развитии лейкоза L1210

1 — контроль;
2 — мыши, леченные НММ

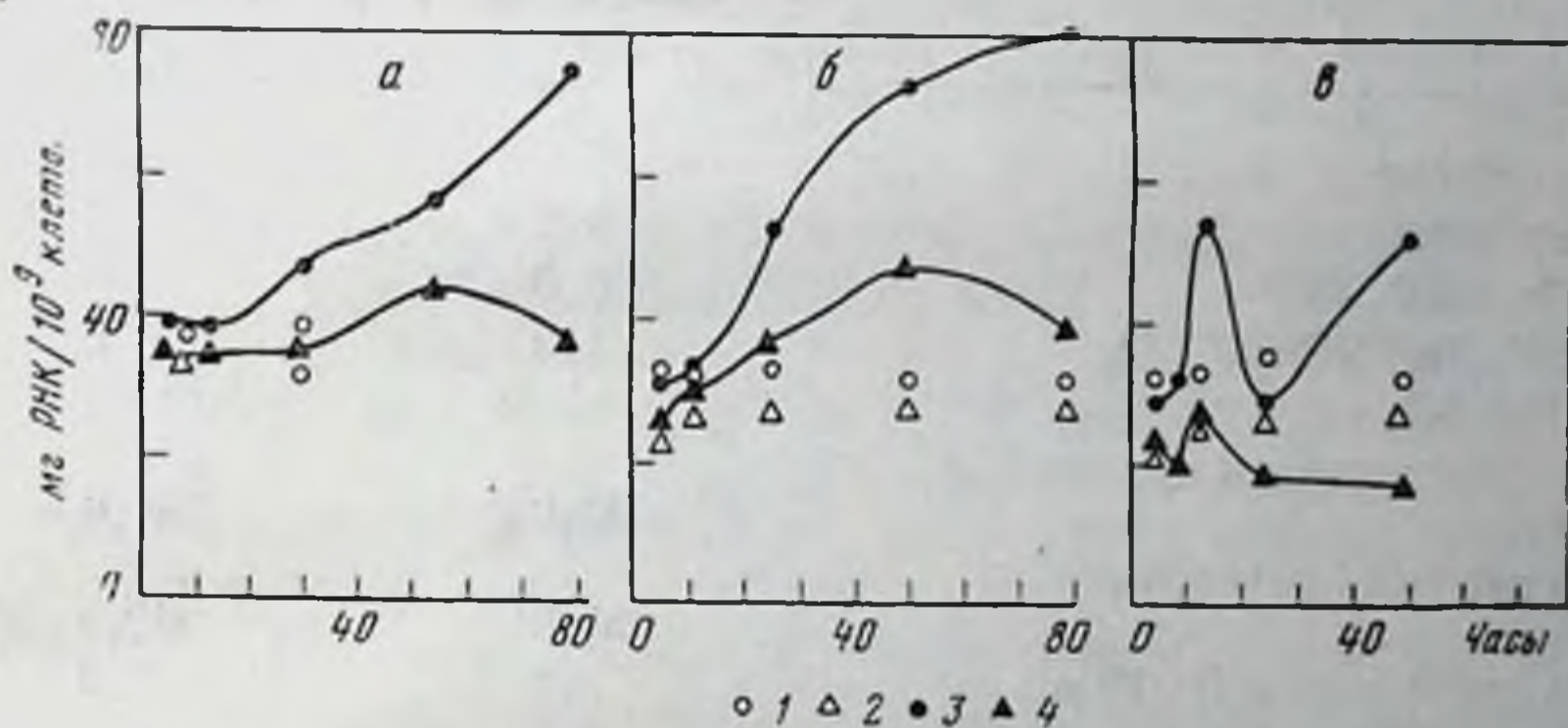
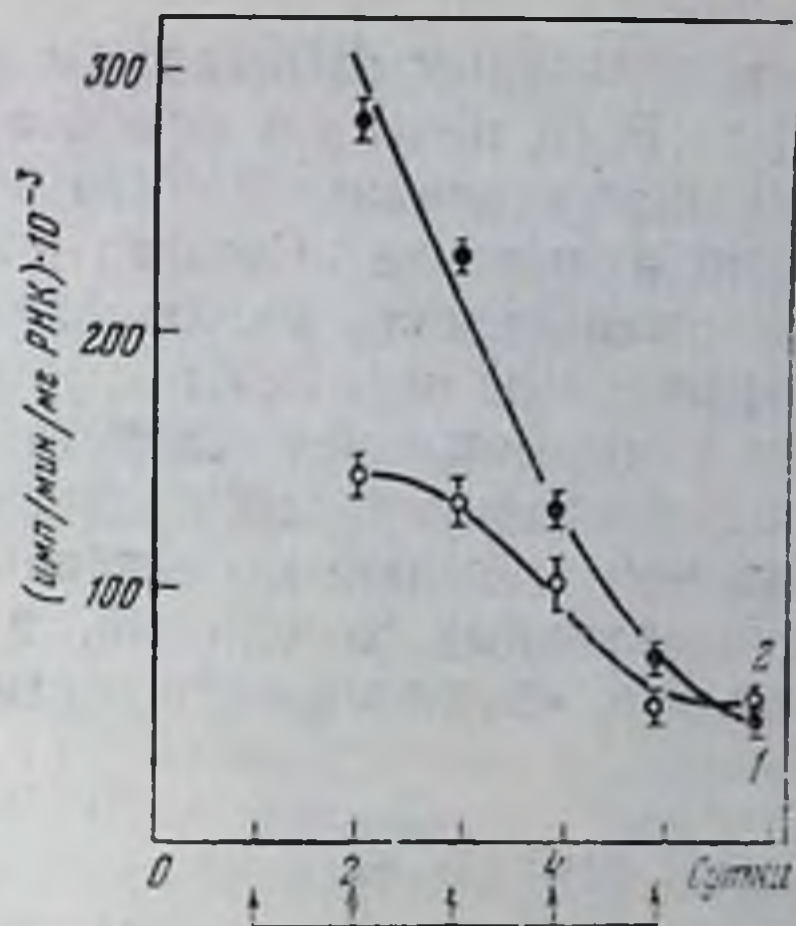


Рис. 48. Изменение содержания РНК в клетках асцитной саркомы Йосида после введения милерана (а), мелфалана (б) и хлорамбуцила (в)

1 — контроль (чувствительные клетки); 2 — контроль (резистентные клетки); 3 — леченные животные (чувствительные клетки); 4 — леченные животные (резистентные клетки)

таболизма в опухолевых клетках, чувствительных к химиотерапевтическим препаратам, и, возможно, морфологически выражаются в возникновении гигантских клеток, неспособных к делению.

Для правильной оценки нарушений в синтезе РНК при воздействии противоопухолевых препаратов необходимо параллельно с изучением интенсивности включения меченых предшественников в различные фракции РНК определять нарушения в пуле растворимых низкомолекулярных предшественников синтеза РНК. В этой связи следует рассмотреть результаты экспериментов со здоровыми крысами, которым однократно вводили НММ в дозе 100 мг/кг. Через 0,5—3 ч после введения ^{14}C -оротовой

кислоты животных забивали и определяли радиоактивность в рРНК и тРНК печени и почек, а также в пуле низкомолекулярных предшественников. НММ через 1,5—3,0 ч после введения тормозит включение ^{14}C -оротата в РНК почек примерно на 40%; к 6 ч интенсивность включения восстанавливается. Наблюдаемые эффекты не отражают нарушений в синтезе РНК, а связаны только с торможением синтеза пиримидиновых нуклеотидов в пуле низкомолекулярных предшественников [57].

Удачной моделью исследования механизма действия биологически активных соединений, в частности, противоопухолевых препаратов, являются очищенные ядра эукариотов, обладающие

Таблица 90

Свойства РНК-полимеразной системы ядер асцитной карциномы Эрлиха

Состав проб	Включение ^{14}C -АМФ мк/мкмоль за 10 мин/мг ДНК	
	Mg^{2+}	$\text{Mn}^{2+}/(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
Полная система	199 ± 9	1112 ± 31
Без инкубации	3,7	7,3
Без ГТФ, ЦТФ, УТФ	6,0	9,6
Без Mg^{2+} , $\text{Mn}^{2+}/(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	51,0	28,0
Без $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	—	195,0
Без креатинфосфата и креатинфосфокиназы	97,0	731,6
Полная система + актиномицин Д (1 мкг)	27,0	360,0
То же + актиномицин Д (10 мкг)	3,1	2,3
Полная система + рифампицин (25 мкг)	199,0	950,0
То же + стрептолидин (25 мкг)	180,0	1245,0

РНК-полимеразной активностью. В этой системе используются нуклеозидтрифосфаты, т. е. непосредственные предшественники синтеза РНК, что позволяет выявить истинный синтез РНК. Кроме того, в ядрах в качестве матрицы используются естественные комплексы хроматина, а не очищенные препараты ДНК, что часто имеет место в системах с очищенными формами ферментов РНК-полимераз, т. е. создаются условия, более близкие к физиологическим.

Было обнаружено, что в ядрах печени крыс в зависимости от условий инкубации проявляются две формы РНК-полимеразной активности; первая обнаруживается в присутствии ионов Mg^{2+} в среде с низкой ионной силой, а вторая — ионов Mn^{2+} в среде с высокой ионной силой, создаваемой добавлением 0,4 М сульфата аммония [58]. В первой системе синтезируется РНК с преобладанием ГЦ-пар (рРНК), а во второй системе — РНК, обога-

шенная А — У-парами (ДНК-подобная РНК) [59], которая избирательно ингибируется α -аманитином [60, 61].

Для изучения механизма действия НАМ на транскрипцию в опухолевых клетках предварительно была охарактеризована РНК-полимеразная активность ядер асцитной карциномы Эрлиха [62, 63]. РНК-полимеразная активность ядер зависит от присутствия нуклеозидтрифосфатов, солей $MgCl_2$ или $MnCl_2/(NH_4)_2SO_4$, существенно возрастает при добавлении АТФ-регенерирующей системы и практически полностью ингибируется актиномицином Д, при малых концентрациях которого преимущественно подавляется Mg^{2+} -зависимый синтез РНК. Обе системы нечувствительны к действию рифампицина и стрептолидигина — ингибиторов бактериальных полимераз (табл. 90). Численные значения специфических активностей ядер асцитной карциномы Эрлиха сопоставимы с результатами, полученными на ядрах печени мышей [59].

РНК-полимеразная система ядер асцитной карциномы Эрлиха используется для изучения механизма действия НММ и НПМ [63]. Мышам с асцитной карциномой Эрлиха вводят НММ или НПМ, и затем спустя определенные интервалы времени выделяют ядра, полимеразная активность которых изучается в системах Mg^{2+} - и Mn^{2+} -зависимого синтеза РНК (табл. 91).

В опытах на ядрах получена активация РНК-полимеразной активности при введении НММ и НПМ животным-опухоленосителям в малых дозах и на короткие интервалы времени (50 мг/кг, 30 мин), достоверно выраженная в системе с низкой ионной силой, т. е. в условиях синтеза рРНК.

Предполагается, что наблюдаемое ранее в опытах *in vivo* (мыши с асцитной карциномой Эрлиха) значительное возрастание включения меченых предшественников в РНК частично обусловлено активацией синтеза рРНК в ядрах. Введение животным-опухоленосителям НПМ в дозе 200 мг/кг на более длительное время (240 мин) вызывает торможение синтеза ДНК-подобной РНК на 36%; синтез рРНК в этих условиях оказался менее чувствительным к действию НАМ.

Торможение синтеза ДНК-подобной РНК и рРНК или активация синтеза рРНК могут быть результатом непосредственного воздействия НАМ на фермент РНК-полимеразу или же следствием взаимодействия этих агентов с определенными локусами ДНК-матрицы, ответственными за специфичность транскрипции. Выяснению этих вопросов служат опыты с солюбилизованным ферментом РНК-полимеразой и экзогенной гомологичной ДНК-матрицей. Из клеток асцитной карциномы Эрлиха контрольных животных или мышей-опухоленосителей, которым предварительно вводится НММ (100 мг/кг), выделяются образцы ДНК, используемые в качестве матриц в РНК-полимеразной реакции. Оба препарата ДНК не различаются между собой по молекулярным весам, величине гиперхромного эффекта и электронно-

Таблица 91

Влияние НММ и НПМ на РНК-полимеразную активность ядер асцитной карциномы Эрлиха (в % к контролю)

Препараты, мг/кг	Время, мин	РНК-полимеразная активность	
		Mg ²⁺	Mn ²⁺ /(NH ₄) ₂ SO ₄
НММ, 50	30	129	103
НПМ, 50	30	122	113
НММ, 150	120	77	80
НПМ, 200	120	88	79
НММ, 150	240	74	80
НПМ, 200	240	88	64

микроскопически. Однако отмечается 30%-ное торможение синтеза РНК в РНК-полимеразной системе при использовании препарата ДНК из асцитных клеток, обработанных НММ *in vivo* в течение 4—10 ч [64]. В опытах *in vitro* ДНК более устойчива к действию НАМ. Предварительная инкубация матрицы с НММ в течение 2—24 ч при 37° не влияет на интенсивность синтеза РНК-продукта, и только при более длительной обработке (48 ч) наблюдается 50%-ное ингибирование синтеза РНК [65].

Как было показано, в определенных условиях опыта при использовании нативной ДНК-матрицы в основном проявляется активность РНК-полимеразы А (синтез рРНК) в то время как активность формы В (синтез ДНК-подобной РНК) обнаруживается в системе с денатурированной ДНК-матрицей [65]. При добавлении НММ и НПМ в инкубационную смесь, содержащую солюбилизированный фермент РНК-полимеразу и нативную ДНК-матрицу, наблюдается 40%-ное торможение синтеза рРНК. В системе с денатурированной ДНК-матрицей отмечается лишь незначительное торможение синтеза РНК-продукта (15—20%) (см. табл. 92). БХНМ также в основном ингибирует синтез ядрышковой РНК в культуре клеток лейкоза L1210 [55].

Если фермент предварительно инкубировать с НММ и НПМ в течение 10 мин. при 37° или же эти препараты добавить в инкубационную смесь после образования комплекса ДНК — фермент (преинкубация 4 мин.), то наблюдается 25%-ное торможение синтеза рРНК. При кратковременных обработках *in vitro* НММ или НПМ матричная активность ДНК не изменяется. Следовательно, наблюдаемый эффект — ингибирование синтеза РНК-продукта — связан с действием препаратов на сам фермент РНК-полимеразу или регуляторные факторы транскрипции, которые присутствуют в препарате неочищенного солюбилизированного фермента. НММ в модельных опытах практически не реагирует с SH-группами цистеина [66], но легко взаимодействует с аминогруппами, которые, по-видимому, не влияют на

Таблица 92

Влияние НММ, НПМ и ПГ (в мкг/мл) на ДНК-зависимый синтез РНК в РНК-полимеразной системе асцитной карциномы Эрлиха

Состав проб и условия опыта	Включение ^{14}C -УМФ, в % к контролю	
	ДНК нативная	ДНК денатурированная
Полная система	100	100
То же + НПМ (200)	60	80
» + НММ (100)	60	85
» + пропилгаллат (ПГ) (10)	50	65
» + НММ (100) + ПГ (10)	33	57
Фермент преинкубируется 10 мин., 37° (новый контроль)	100	—
Фермент преинкубируется с НММ или НПМ 10 мин., 37°	75	—
Фермент + ДНК преинкубируются 4 мин., а затем добавляются НММ или НПМ	75	—

образование комплекса ДНК — фермент, но ответственны за другие стадии транскрипции, например инициацию [67]. Добавление β -меркаптоэтанола (2—20 мкм/мл) в инкубационную среду не защищает РНК-полимеразу от ингибирующего действия НПМ и НММ. Ингибитор радикальных реакций пропилгаллат (ПГ), реагируя с SH-группами РНК-полимеразы [68], вероятнее всего, действует на стадию элонгации транскрипции: степень ингибирования синтеза РНК возрастает в зависимости от времени воздействия препарата [65]. Об аддитивности действия НММ и ПГ свидетельствуют также данные, представленные в табл. 92, добавление ПГ в инкубационную смесь с НММ существенно усиливает ингибирование синтеза рРНК.

Некоторые производные рифампицина, такие как АF/05, АF/013 и АF/021, ингибируют инициацию транскрипции у эукариотов [69]. Добавление НММ к инкубационной среде, содержащей рифампицин АF/05, не усиливает его ингибирующего действия, что, возможно, связано с тем, что НММ действует на те же самые стадии транскрипции, что и рифампицин АF/05, т. е. на стадию инициации (табл. 93).

Таким образом, НАМ тормозят синтез РНК на ранних этапах транскрипции: частично на стадии образования комплекса фермент — ДНК, частично на стадии инициации.

Поскольку НАМ в отличие от классических алкилирующих агентов способны не только алкилировать, но и карбамоилировать белки, то именно с этим обстоятельством, по-видимому, связано их инактивирующее действие на фермент РНК-полимеразу.

Следует отметить, что изоцианаты — продукты превращения НАМ — легко реагируют с аминогруппами белков с образованием наиболее стабильных карбамоилированных производных [20].

Таблица 93

Торможение синтеза рРНК рифампицином АР/05 и НММ

Состав проб, мкг/мл	Включение ¹⁴ С-ЦМФ, мкмкмоли/(15 мин) мг белка	% к контролю
Полная проба с нативной ДНК	200	100
То же + рифампицин (20)	200	100
» + » (50)	108	54
» + » (100)	44,5	22,3
То же + НММ (100)	128	64
То же + рифампицин (50) + НММ (100)	114	57

Возможность взаимодействия НММ с аминокруппами РНК-полимеразы подтверждается данными, приведенными в табл. 94. Преинкубация фермента с КНСО — промежуточным продуктом распада НММ — приводит к 20%-ному торможению синтеза рРНК. Эти данные свидетельствуют о возможности карбамоилирования РНК-полимеразы НММ. Добавление КНСО в инкубационную среду после образования комплекса ДНК — фермент не вызывает никакого эффекта [70].

Таблица 94

Влияние КНСО (100 мкг/мл) на активность РНК-полимеразы асцитной карциномы Эрлиха

Состав проб	Включение ¹⁴ С-УМФ, мкмкмоли/(15 мин) мг белка	% к контролю
Полная проба с нативной ДНК	190	100
То же + КНСО	170	89,5
Преинкубация ДНК + КНСО (10 мин)	168	88,4
Преинкубация фермента + КНСО (10 мин)	152	80,0
ДНК + фермент, преинкубация (5 мин), затем добавляется КНСО	199	104,7

Более глубокое торможение синтеза РНК (60—80%) в опухолевых клетках по сравнению с бесклеточными системами (в РНК-полимеразной системе синтез РНК ингибируется на 40%, а в изолированных ядрах на 25—35%) связано, по-видимому, с тем, что *in vivo* торможение биосинтеза РНК происходит также на стадии процессинга, т. е. превращения молекул предшественников (пре-рРНК и пре-мРНК) в зрелые формы рРНК и мРНК.

Таблица 95

Торможение синтеза РНК НММ в клетках лейкоза L1210 (in vivo)

Фракция РНК	Включение в РНК, имп/мин/мг		% к контролю
	контроль	опыт	
Пре-рРНК	1455	580	39,5
Пре-мРНК	7055	1970	27,9
рРНК	4472	1006	21,0
мРНК	5600	1400	25,0
тРНК	5950	3250	54,6

Известно, что в цитоплазме присутствуют белковые факторы, регулирующие синтез РНК в ядрах. Эти факторы могут быть непосредственными мишенями ингибирующего действия НАМ в опухолевых клетках и их повреждение вносит дополнительный вклад в торможение синтеза РНК. Однако при выделении или очистке ядер они могут частично теряться, что и приводит к уменьшению ингибирующего эффекта в бесклеточных системах.

Что же касается сравнения результатов опытов, полученных на ядрах и с солюбилизованным ферментом РНК-полимеразой, то в первом случае транскрибируется хроматин, т. е. геном, на 50—60% замаскированный белками [71], а во втором случае — ДНК. Пока еще нет достоверных данных о повреждениях в структуре хроматина при введении НАМ животным опухоленосителям в терапевтических дозах. Известно лишь, что метилирующие агенты (ММС и ДМНА) *in vivo* и *in vitro* ингибируют синтез РНК, повреждая фермент РНК-полимеразу, и не влияют на матричную активность хроматина печени [72].

В самое последнее время получена новая информация о характере нарушения процессинга РНК в опухолевых клетках. В табл. 95 приведены результаты опытов *in vivo* по торможению синтеза рРНК и мРНК и их предшественников в клетках лейкоза L1210 [70]. Введение НММ в терапевтической дозе мышам-опухоленосителям вызывает глубокое торможение синтеза предшественников рРНК и мРНК. Кроме того, ингибирование включения меченого предшественника в РНК усиливается на 20% по сравнению с синтезом пре-рРНК, т. е. НММ действует не только на транскрипцию, но и на процессинг рРНК, не затрагивая процессинг пре-мРНК в мРНК.

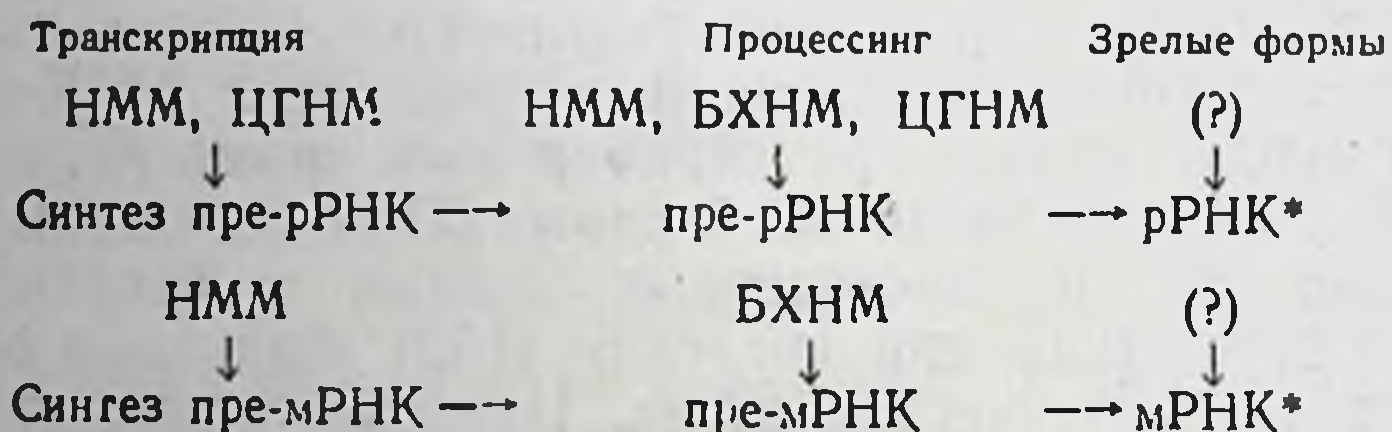
Изучение влияния БХНМ и ЦГНМ и продуктов их распада, 2-хлорэтил- и циклогексимилоцианатов, на синтез РНК в суспензионной культуре клеток L1210 показало, что БХНМ ингибирует процессинг пре-рРНК в рРНК и пре-мРНК в мРНК, практически не влияя на стадию транскрипции РНК [73]. Это было подтверждено также и в опытах на культуре клеток HeLa [74, 75]. Так как БХНМ не влияет на транскрипцию РНК *in vitro*, можно

предположить, что в этом случае матричная активность ДНК не изменяется. ЦГНМ ингибирует синтез и процессинг рРНК и не влияет на синтез и процессинг мРНК [73].

Следовательно, НММ, БХНМ и ЦГНМ действуют аналогичным образом на включение меченых предшественников в тотальные РНК клеток. Однако существуют различия в характере воздействия этих НАМ на транскрипцию и процессинг.

Предполагается, что повреждение процессинга в опухолевых клетках НАМ не связано с их противоопухолевой активностью, а скорее всего ответственно за общую токсичность препаратов [73]. В настоящее время еще трудно окончательно ответить на этот вопрос. Существует определенное соответствие между противоопухолевой активностью НАМ и ингибированием процессинга; так, например, НММ, которая в отличие от БХНМ и ЦГНМ лишь незначительно повреждает процессинг, обладает существенно меньшей противоопухолевой активностью по сравнению с БХНМ и ЦГНМ в отношении лейкоза L1210 [76].

Схематически повреждения отдельных этапов синтеза РНК в опухолевых клетках под влиянием НАМ можно представить следующим образом:



* Данные о действии НАМ в терапевтических дозах на зрелые формы рРНК и мРНК отсутствуют.

ТРАНСЛЯЦИЯ

В предыдущих разделах на различных экспериментальных моделях было показано, что НАМ ингибируют синтез ДНК и РНК [33, 77]. Так же обнаружено повреждающее действие НАМ на биосинтез белка и аппарат трансляции. В опытах *in vivo* (солидная форма лейкоза L1210, плазмацитомы хомячка) введение БХНМ (20—100 мг/кг) ингибирует включение меченых предшественников в ДНК и РНК; только при дозе 100 мг/кг было отмечено слабое ингибирование включения ¹⁴C-лейцина [34]. Аналогичные результаты были получены при добавлении БХНМ в суспензию клеток асцитного рака Эрлиха и лейкоза L1210 [36]. Введение НММ в очень малой дозе (10 мг/кг) вызывает серьезные нарушения в синтезе ДНК и РНК и не влияет на включение ¹⁴C-меченых аминокислот в белки асцитного рака Эрлиха [37, 78]. В то же самое время отмечается большая повреждаемость синтеза белка

in vitro по сравнению с in vivo при добавке в инкубационные среды БХНМ и НПМ [34, 78].

Таким образом, результаты этих исследований, в которых синтез белка изучали только по включению меченых предшественников в суммарную фракцию клеточных белков, приводят к выводу об опосредованном характере нарушений процессов трансляции в опухолевых клетках под влиянием НАМ.

Однако окончательное заключение по этому поводу можно сделать лишь после изучения характера воздействия НАМ на аппарат трансляции: полирибосомы, растворимые факторы клеточного сока и мРНК [79—81].

НММ в терапевтической дозе (80 мг/кг) однократно вводили мышам с солидной гепатомой 22а на терминальной стадии развития опухоли. Ингибирование синтеза белка в клетках печени и гепатомы иллюстрируется следующими данными:

Включение ¹⁴ С-лейцина, % к контролю	Тотальный белок	Растущие полипептиды
Печень		
1 ч	65±3	60±6
19 ч	110±6	100±5
Гепатома		
1 ч	50±5	50±4
19 ч	45±5	52±6

Ингибирование синтеза белка НММ в широком интервале доз развивается быстро и возрастает с увеличением дозы или времени воздействия препарата (рис. 49). Однако способность обоих типов клеток восстанавливать активность белок-синтезирующей системы после введения однократной дозы НММ резко различается: в клетках печени при всех исследованных дозах препарата скорость синтеза белка возвращается к исходному уровню через 15—24 ч; напротив, в клетках гепатомы скорость синтеза белка остается сниженной и может еще более снижаться в течение по крайней мере 48 ч.

Включение радиоактивности в растущие полипептиды подавляется примерно в такой же степени, как и абсолютная скорость синтеза белка, измеряемая по включению ¹⁴С-лейцина в тотальный белок (см. рис. 49).

По-видимому, введение НММ животным-опухоленосителям уменьшает число транслирующих рибосом и (или) происходит замедление трансляции (увеличение среднего времени синтеза полипептидной цепи). Следует отметить, что в специальных опытах не удается обнаружить заметного снижения удельной радиоактивности свободного лейцина в аминокислотном пуле клеток печени и гепатомы при введении НММ.

Показано, что при введении НММ в полисомно-рибосомном материале увеличивается относительное число 80S и 105S частиц

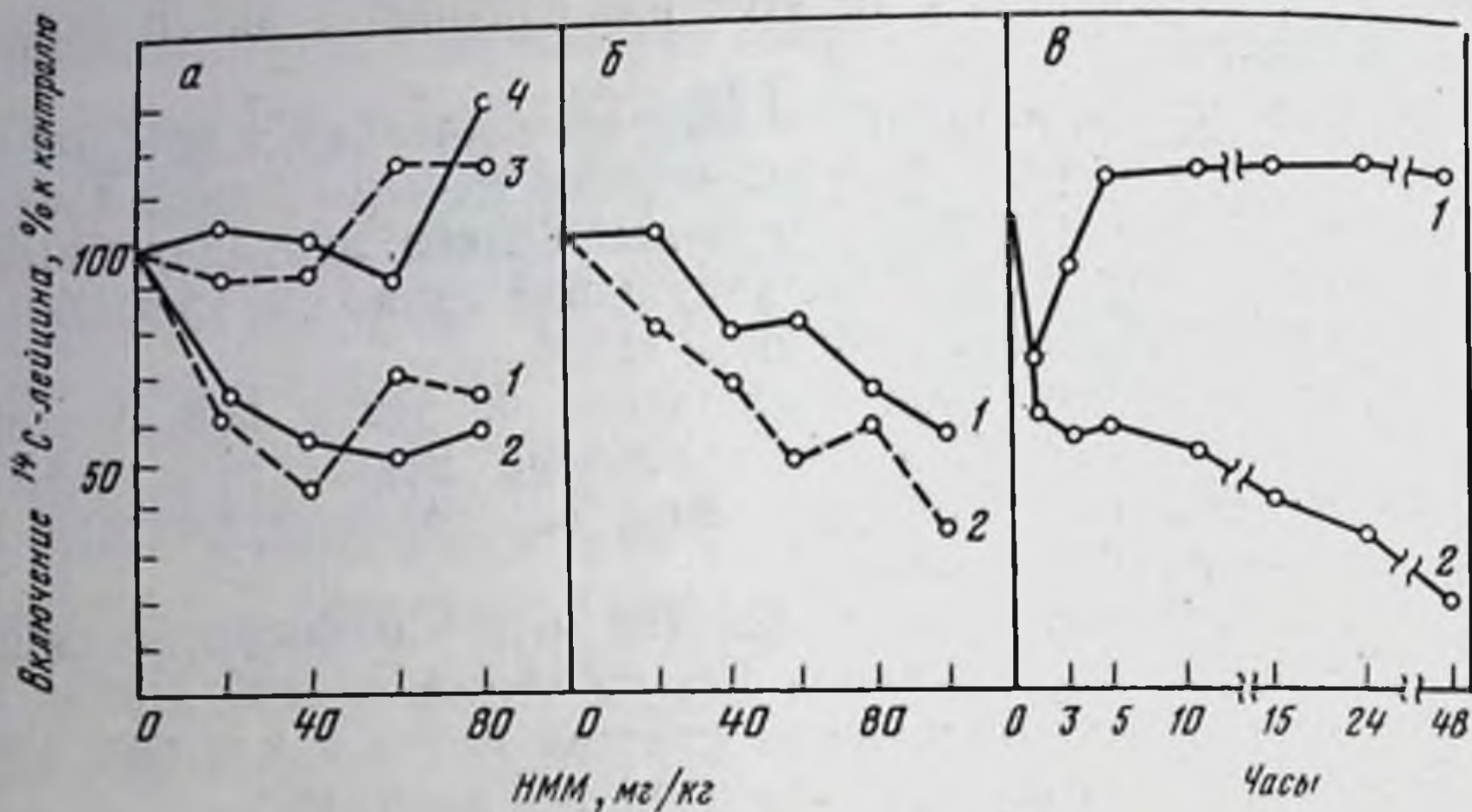


Рис. 49. Ингибирование синтеза белка (in vivo) в печени (а) и гепатоме (б) после введения НММ

а, б — НММ вводили однократно за 1 ч (а: 1, 2) и за 19 ч (а: 3, 4; б: 1, 2) до включения ¹⁴С-лейцина в тотальный белок (сплошная линия) или растущие полипептиды (пунктирная линия); в — зависимость ингибирования синтеза белка в печени (1) и гепатоме (2) от времени действия НММ (80 мг/кг)

и рибосом, способных диссоциировать на 60S и 40S субъединицы в условиях высокой ионной силы среды.

Ингибирование синтеза белка обнаруживается в обоих типах клеток уже через час после введения НММ. В клетках печени оно полностью обратимо к 19 ч, а в клетках гепатомы, продолжает усиливаться со временем. Уменьшение числа транслирующих рибосом не столь велико, чтобы этим можно было объяснить двухкратное уменьшение абсолютной скорости синтеза белка через 1 ч после введения НММ (см. стр. 235). Следует допустить, что при введении НММ животным-опухоленосителям происходит также замедление трансляции, которое может быть обусловлено как повреждением компонентов полирибосомного комплекса, так и клеточного сока [79—81].

Приведенные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что при действии НММ in vivo в клетках печени и гепатомы быстро развиваются повреждения белок-синтезирующей системы. Наиболее чувствительной при этом, по-видимому, является стадия инициации трансляции. Ингибирование инициации трансляции наблюдается также в клетках культуры HeLa после добавления к культуральной жидкости небольших доз БХНМ (25 мкг/мл) [74].

Опыты с белок-синтезирующей системой помогают решить вопрос, каким образом НММ влияет на процессы трансляции в нормальных и опухолевых клетках [81]. Были использованы три типа бесклеточных систем синтеза белка: нефракционированная,

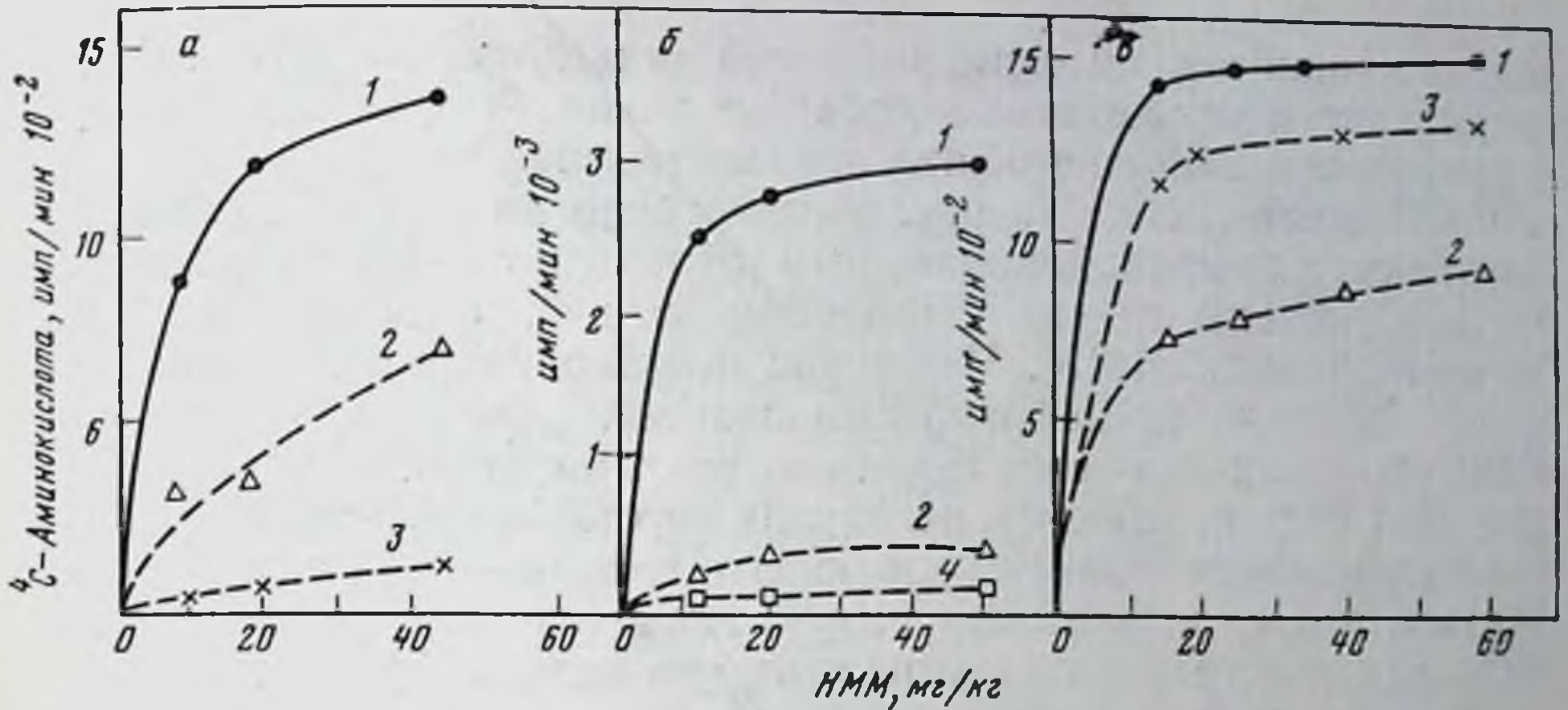


Рис. 50. Активность нефракционированной белоксинтезирующей бесклеточной системы печени и гепатомы мышей, обработанных НММ (in vivo)

а, б — гепатома; в — печень животных-опухоленосителей; а, в — бесклеточная система с S_{16} ; б — бесклеточная система с S_{30} ; 1 — контроль; 2 — 1 ч; 3 — 19 ч; 4 — 48 ч после обработки НММ

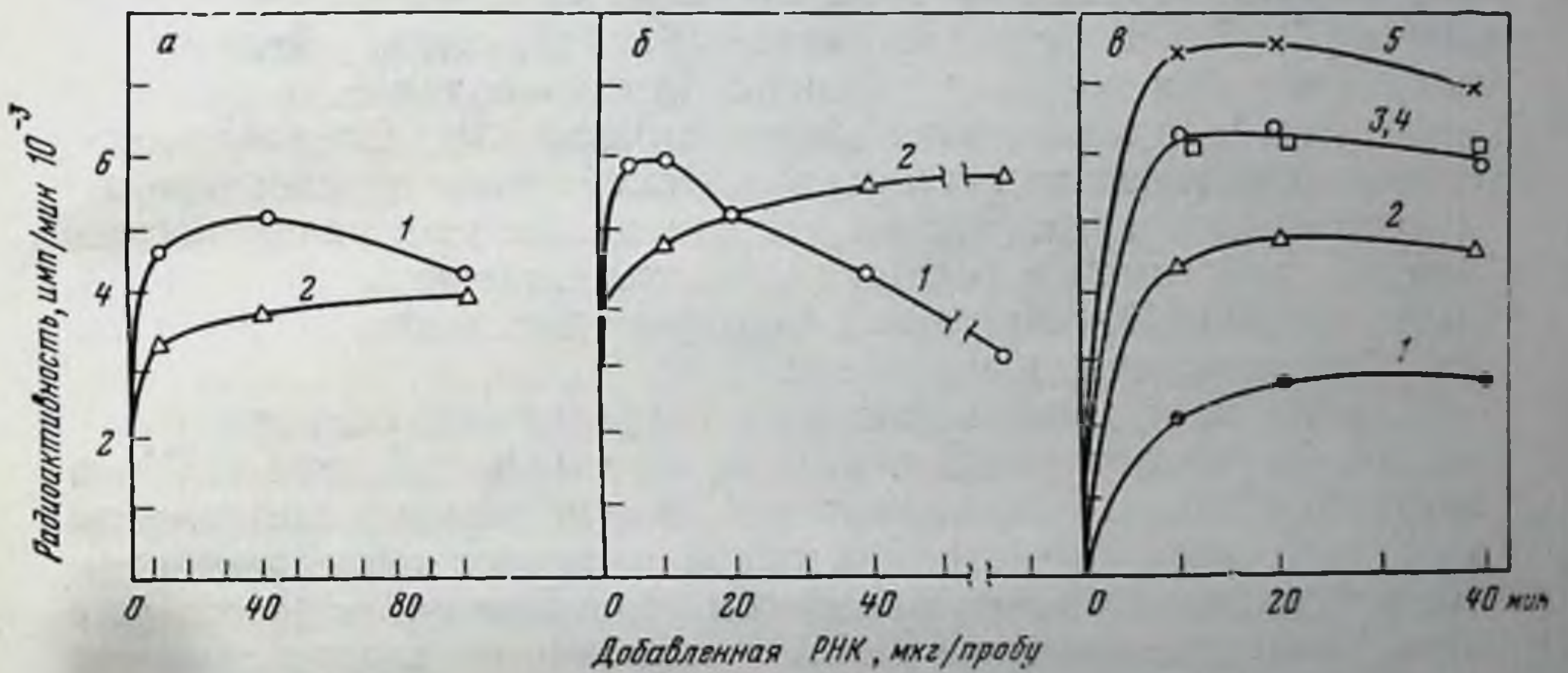


Рис. 51. Влияние тРНК и рРНК на функциональную активность бесклеточной белок-синтезирующей системы из клеток гепатомы 22

а, в — нефракционированные системы; б — реконструированная система; 1 — контроль (без добавления РНК), 2 — добавлено 100 мкг рРНК, 3, 4 — добавлено по 10 мкг тРНК из контрольных и обработанных НММ клеток животных в течение 19 ч, 5 — добавлены 100 мкг нормальной рРНК + 10 мкг тРНК из клеток животных, обработанных НММ в течение 19 ч

содержащая постмитохондриальный (или постмикросомный) супернатант и необходимые добавки; реконструированная из полирибосом и клеточного сока и, наконец, система, стимулируемая добавлением тРНК. На рис. 50 приведены данные об изменении активности нефракционированной белок-синтезирующей бесклеточной системы печени и гепатомы мышей, которым предварительно вводили НММ. Через час после однократного введения НММ активность нефракционированной бесклеточной системы синтеза белка из клеток печени и гепатомы резко снижается, через 19 ч активность системы печени восстанавливается и приближается к контрольному уровню, а гепатома — продолжает снижаться и к 48 ч достигает низких значений (5—10% от контроля). Это действие более выражено при использовании в системе постмикросомного супернатанта (S_{30}), содержащего лишь свободные полирибосомы вместо S_{15} , в состав которого входят как связанные с мембранами, так и свободные рибосомы.

Эти результаты полностью совпадают с данными *in vivo* и свидетельствуют о том, что НММ непосредственно повреждает белок-синтезирующую систему клетки, причем кинетика повреждения в гепатоме и печени резко различается: печень способна быстро восстанавливать активность системы, а гепатома неспособна [79—81]. В условиях бесклеточной системы исключается возможное при постановке опытов *in vivo* влияние на трансляцию изменений в клеточном фонде аминокислот. Следовательно, снижение активности системы в опытах *in vitro* обусловлено исключительно повреждающим действием НММ на полирибосомы (мРНК, рибосомы) и (или) компоненты клеточного сока (тРНК, аминоацил-тРНК-синтетазы и факторы трансляции, скорее всего факторы инициации и элонгации).

Опыты по фракционированию бесклеточной системы и обратной ее реконструкции показали, что при действии НММ в клетках гепатомы повреждаются и полирибосомы и компоненты клеточного сока [79—81]. Как правило, повреждение компонентов клеточного сока и полирибосом гепатомы наблюдается уже через час после введения НММ и сохраняется или усиливается к 19 ч. В опытах с аналогичной системой из печени взрослых животных вообще не удается заметить существенного изменения активности полирибосом или фракции S_{150} через час или 19 ч после введения НММ. Для варианта опыта с 19-часовым воздействием НММ этот результат не является неожиданным, так как синтез белка *in vivo* и активность нефракционированной системы к этому времени восстанавливаются и достигают контрольных значений; при введении НММ за 1 ч до взятия проб для анализа предполагалось выявить нарушения в аппарате трансляции. Однако следует иметь в виду, что основная масса полирибосом печени взрослых животных относится к классу связанных с мембранами полирибосом. Не исключена возможность, что связь с мембраной защищает полирибосомы от повреждающего дей-

ствия НММ, а свободные полирибосомы, которые легче повреждаются препаратом, теряются при выделении полирибосом. Отсутствие повреждающего действия НММ в отношении фракции S_{150} печени, по всей вероятности, является кажущимся, так как в системе используется избыток S_{150} . Различная степень повреждения компонентов клеточного сока в клетках печени и гепатомы при действии НММ несомненно имеет место и указывает на то, что в клетках гепатомы их относительное содержание меньше, чем в печени [80, 81].

В настоящее время известно, что в гепатомах наблюдаются качественные и количественные различия в содержании тРНК по сравнению с нормальной печенью взрослых животных; получены различия для целого ряда аминоксил-тРНК, отмечается появление новых и исчезновение имеющихся изоакцепторных тРНК [82—86].

Показано также, что набор тРНК в опухолевых клетках обеднен по сравнению с нормальными клетками и может лимитировать трансляцию в бесклеточных системах. В некоторых опухолях обнаруживается больше метилированных оснований, чем в нормальных тканях, что может быть связано с более высоким уровнем тРНК-метилирующих ферментов [51, 87—92]. Одной из причин большей чувствительности белок-синтезирующей системы гепатомы к повреждающему действию НММ по сравнению с печенью может быть более значительная инактивация тРНК в гепатоме, чем в печени. Нефракционированная и реконструированная бесклеточные системы, выделенные из клеток гепатомы 22а, в 1,75—2,5 раза сильнее стимулируются препаратами собственной тРНК [81] (рис. 51). Подобный эффект наблюдается в бесклеточной системе асцитной карциномы Кребса II [93].

Однако тРНК, выделенная из клеток гепатомы, обработанных НММ, не отличается от нормальной тРНК по способности стимулировать систему (рис. 51), и ее акцепторная активность, по крайней мере в отношении использованных ^{14}C -аминокислот, изменяется незначительно. Ниже приводятся данные об акцепторной активности тРНК из клеток нормальной и поврежденной НММ гепатомы:

Аминокислота ^{14}C	Включение ^{14}C -аминокислот. пмоли на пробу*	
	тРНК (контроль)	тРНК (обработка НММ)
Фенилаланин	61,6	79,0
Лейцин	12,4	14,6
Валин	244,0	195,0
Лизин	177,0	156,0

* Пробы содержали по 90 мкг тРНК и 350 мкг S_{150} белка.

При введении НММ животным-опухоленосителям тРНК повреждаются в меньшей степени, чем другие компоненты клеточного сока, например, белковые факторы трансляции. Аналогич-

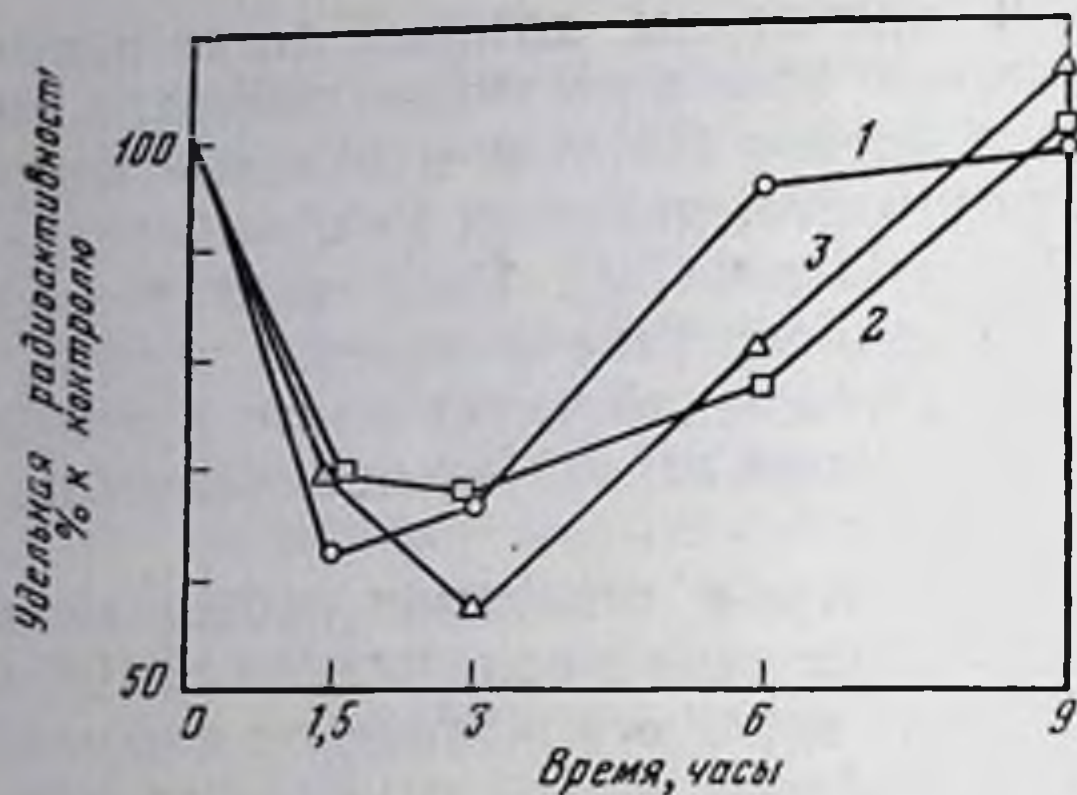


Рис. 52. Влияние НММ на включение ^{14}C -лейцина в суммарную фракцию белков печени (1), мозга (2) и сыворотки крови (3)

ные результаты получены при однократном введении НММ (100 мг/кг) здоровым крысам [94]. Максимальное торможение синтеза белка (40—45%) в печени, мозгу и сыворотке крови наблюдается через 2—5 ч после введения препарата, и через 9 ч синтез полностью восстанавливается (рис. 52). В печени это сопровождается дезагрегацией полирибосом, увеличением числа нетранслирующих рибосом, но не олигорибосом, которое имеет место при мягкой обработке РНК-азой. Предполагается, что изменение профиля седиментации полирибосом, а не метилирование мРНК, индуцированное НММ, является причиной замедления скорости синтеза белка на стадии инициации. Дезагрегация полирибосом, параллельная торможению синтеза белка, и накопление нетранслирующих 80S рибосом в печени происходят под влиянием ДМНА и БХНМ, которые ингибируют инициацию трансляции [95—97].

Таким образом, можно считать доказанным непосредственное действие НММ на процессы трансляции в нормальных и опухолевых клетках.

Следовательно, введение НММ в терапевтических дозах экспериментальным животным-опухоленосителям, во-первых, быстро повреждает белок-синтезирующую систему клеток печени и гепатомы и, во-вторых, это повреждение носит обратимый характер (через 5—15 ч) в клетках печени и необратимый в течение по крайней мере 48 ч в клетках гепатомы. НММ ингибирует инициацию и элонгацию транскрипции, причем первую, вероятно, в большей степени, что приводит к накоплению нетранслирующих рибосом. Белок-синтезирующий аппарат в клетках печени повреждается в меньшей степени, чем в клетках гепатомы. Эти различия объясняются тем, что большая часть полирибосом печени связана с эндоплазматическими мембранами, которые защищают их от повреждений, и, кроме того, не исключено, что некоторые компоненты аппарата трансляции (тРНК, факторы инициации и др.) находятся в лимитирующих концентрациях в гепатоме, но не в печени.

Расшифровка механизмов восстановления активности белок-синтезирующей системы в нормальных клетках и причин, ограничивающих восстановительную способность клеток гепатомы после действия активных противоопухолевых препаратов имеет непосредственное отношение к повышению эффективности химиотерапии опухолей.

Активность белок-синтезирующей системы быстро восстанавливается в печени и медленно в гепатоме. Можно предположить, что в основе этого явления лежит большая скорость разрушения поврежденных алкилированных и карбамоилированных молекул печени по сравнению с клетками гепатомы. Хотя белок-синтезирующая система гепатомы количественно и качественно, по видимому, отличается от системы печени (содержит другой набор тРНК, меньше связанных полирибосом, концентрация некоторых компонентов, например, тРНК, лимитирована), неспособность гепатомы быстро восстанавливать способность к синтезу белка нельзя объяснить только этими различиями.

Ранее уже отмечалось, что различная способность нормальных и опухолевых клеток к восстановлению повреждений, вызываемых химиотерапевтическими агентами, может быть связана с активной реутилизацией поврежденных (алкилированных) метаболитов опухолевыми клетками и с замедленным кругооборотом макромолекул в клетках гепатомы по сравнению с клетками печени.

ФЕРМЕНТЫ

Изменение активности ферментов может быть обусловлено алкилированием или карбамоилированием молекул белков-ферментов или уменьшением их концентрации в клетках вследствие нарушения процессов реализации генетической информации под влиянием НАМ.

Ранее были приведены экспериментальные данные об ингибировании активности ДНК- и РНК-полимераз и высказаны соображения о возможных механизмах этих процессов. Незначительная инактивация ферментов тимидин- и дезоксицитидинкиназы, тимидилат-синтетазы обнаружена при инкубации клеток лейкоза L1210 со стрептозотоцином в очень высоких концентрациях [33]. Стрептозотин вызывает диабет у лабораторных животных в результате разрушения бета-клеток поджелудочной железы [98].

Показано, что активность НАД и фермента НАД-азы изменяется при действии НАМ. Снижение содержания окисленного и восстановленного НАД в печени мышей наблюдается после введения стрептозотина. Предварительное введение животным никотинамида предотвращает этот эффект, причем стрептозотин теряет свою диабетогенную активность. Аналогично этому НММ вызывает зависящее от дозы (10—50 мг/кг) уменьшение

содержания НАД в печени мышей и асцитных клетках лейкоза L1210. Никотинамид также предотвращает изменение концентрации НАД, но не влияет на токсичность и противоопухолевую активность НММ [98—100]. При инкубации клеток асцитной карциномы Эрлиха с БХНМ (10 мкг/мл) концентрация НАД незначительно возрастает, а затем уменьшается с увеличением дозы препарата; при дозе БХНМ 50 мкг/мл — составляет лишь 20% от контроля (асцитные клетки без добавления БХНМ). Через 6 ч после введения НММ здоровым мышам (100 мкг/кг) НАД-азная активность в селезенке возрастает на 50% по сравнению с контрольной группой животных, а к 24 ч постепенно возвращается к исходному уровню [36]. Аналогичные результаты были получены и при введении БХНМ здоровым мышам и опухоленосителям с лейкозом L1210 [101].

НАД-азная активность в селезенке возрастает в первые дни после введения препарата, затем постепенно снижается и достигает минимума к 8—11 дню. В эти же сроки НАД-азная активность в мозгу, легких, печени и почках уменьшается. Инкубация гомогенатов клеток мозга, селезенки и печени со сравнительно высокими концентрациями БХНМ не изменяет активность НАД-азы. Этот факт, а также задержку в уменьшении концентрации НАД-азы в органах животных, по всей вероятности, нельзя объяснить прямой инактивацией фермента БХНМ.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что уменьшение концентрации НАД в печени и в клетках лейкоза L1210 при воздействии стрептозотоцина и НММ не имеет непосредственного отношения к цитотоксичности этих соединений, так как предварительное введение никотинамида, которое предотвращает уменьшение концентрации НАД, не отражается на их противоопухолевой активности. Другие активные НАМ, такие как БХНМ и ЦГНМ, при введении мышам с лейкозом L1210 вообще не влияют на уровень окисленного и восстановленного НАД в печени и опухолевых клетках.

Таким образом, на основе большого экспериментального материала можно сделать вывод о способности НАМ в терапевтических дозах непосредственно повреждать аппарат трансляции и транскрипции в опухолевых клетках. Множество точек приложения действия НАМ на молекулярном уровне подтверждает перспективность применения соединений этого класса при лечении больных со злокачественными опухолями.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lijinsky W., Loo J., Ross A. E.* Nature, 1968, 218, 1174.
2. *Frei J. V.* Intern. J. Cancer, 1971, 7, 436.
3. *Ross A. E., Keefer L., Lijinsky W. J.* Nat. Cancer Inst., 1971, 47, 789.
4. *Lijinsky W., Garcia H., Keefer L., Loo J., Ross A.* Cancer Res., 1972, 32, 893.
5. *Lawley P. D.* Progr. Nucleic Acid Res. Mol. Biol., 1966, 5, 89.
6. *Lawley P. D., Thatoher C. J.* Biochem. J., 1970, 116, 693.
7. *Loveless A.* Nature, 1969, 223, 206.
8. *Frei J. V., Lawley P. D.* Chem.-Biol. Interactions, 1976, 13, 215.
9. *Stock J. A.* Biology of cancer. London, 1975, p. 279.
10. *Schabel F. M., Johnston T. P., McCaleb G. S., Montgomery J. A., Laster W. R., Skipper H. E.* Cancer Res., 1963, 23, 259.
11. *Wheeler G. P., Chumley S. J.* Med. Chem., 1967, 10, 259.
12. *Carler S. K., Newman J. W.* Cancer Chemotherapy Repts, 1968, pt. 3, 115.
13. *Krüger F. W., Osswald H., Walker G., Schelten E.* Z. Krebsforsch., 1970, 74, 434.
14. *Connors T. A., Hare J. R.* Brit. J. Cancer, 1974, 30, 477.
15. *Goldin A., Venditti J. M., Mead L. A., Glynn S. P.* Cancer Chemotherapy Repts, 1964, 40, 57.
16. *Schabel F. M.* Cancer Treatment Repts, 1976, 60, 665.
17. *Lessner H.* Cancer, 1968, 22, 451.
18. *Вермель А. Е., Корман Н. П., Магагина Г. Е., Раевский И. Г.* Вопросы онкологии, 1974, 20, № 3, 8.
19. *Stark G. R.* J. Biol. Chem., 1964, 239, 1411.
20. *Stark G. R.* Biochemistry, 1965, 4, 588.
21. *Stark G. R.* Biochemistry, 1965, 4, 2362.
22. *Stark G. R.* Biochemistry, 1965, 4, 1030.
23. *Wheeler G. P., Bowdon B. J., Struck R. F.* Cancer Res., 1975, 35, 2974.
24. *Cheng C. J., Fugimura S., Grunberger D., Weinstein I. B.* Cancer Res., 1972, 32, 22.
25. *Sanders F. K., Burford B. O.* Nature, 1969, 220, 448.
26. *Roberts J. J., Pascoe J. M., Plant J. E., Sturrock J. E., Crathorn A. R.* Chem-Biol. Interactions, 1971, 3, 29.
27. *Wolley P. V. III, Dion R. L., Kohn K. W., Bono V. H.* Cancer Res., 1976, 36, 1470.
28. *Bowdon B. J., Wheeler G. P.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1971, 12, 67.
29. *Schmall B., Cheng C. J., Fujimura S., Gerdten N., Grunberger D., Weinstein I. B.* Cancer Res., 1973, 33, 1921.
30. *Gorbacheva L. B., Kukushkina G. V., Sokolova I. S., Serebryanyi A. M.* Abstrs 9th Inter. Congr. Chemotherapy, London, 1975, N 56.
31. *Brown W. E., Wold F.* Science, 1971, 174, 608.
32. *Wheeler G. P., Bowdon B. J., Grimsley J. A., Lloyd H.* Cancer Res., 1974, 34, 194.
33. *Bhuyan B. K.* Cancer Res., 1970, 14, 1707.
34. *Wheeler G. P., Bowdon B. J.* Cancer Res., 1965, 25, 1770.
35. *Bhuyan B. K., Scheidt L. G., Fraser T. J.* Cancer Res., 1972, 32, 398.
36. *Gale G. R.* Biochem. Pharmacol., 1965, 14, 1707.
37. *Gorbacheva L. B., Kukushkina G. V.* Biochem. Pharmacol., 1970, 19, 1561.
38. *Rosenoff S. H., Bistick F., Young R. C.* Biochem. Pharmacol., 1974, 23, 3097.
39. *Kleihues P.* Arzneimittel-Forsch., 1969, 19, 1041.
40. *Соколова И. С., Островская Л. А., Бунто Т. В., Горбачева Л. Б.* Вопросы онкологии, 1976, 22, № 10, 61.
41. *Morgan W. W., Cameron I. E.* Cancer Res., 1973, 33, 441.
42. *Wheeler G. P., Bowdon B. J., Grimsley J. A., Lloyd H. H.* Cancer Res., 1974, 34, 194.
43. *Young R. C.* Cell Tissue Kinet., 1973, 6, 35.
44. *Wheeler G. P., Alexander J. A.* Cancer Res., 1974, 34, 1957.

45. Mizuno N. S., Humphrey E. W. Cancer Chemotherapy Repts, 1969, 53, 215.
46. Young R. C., Goldberg D. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1973, 14, 77.
47. Schein P., Kahn R., Corden P. Arch. Intern. Med., 1973, 132, 555.
48. Lerman M. I., Abakumova O. Yu., Kutchenko N. G., Sokolova I. S., Gorbacheva L. B., Serebryanyi A. M. Mol. Biol. Repts, 1975, 2, 151.
49. Wheeler G. P., Bowdon B. J. Cancer Res., 1968, 28, 52.
50. Baril B. B., Baril E. F., Laszlo J., Wheeler G. P. Cancer Res., 1975, 35, 1.
51. Mandel L., Hacker B., Maag T. A. Cancer Res., 1969, 29, 2229.
52. Chuang R. V., Laszlo J., Keller P. Biochim. et biophys. acta, 1976, 425, 463.
53. Kahn H. E., Kohn K. W., Lyles J. M. Cancer Res., 1974, 34, 398.
54. Groth D. P., D'Angelo J. M., Vogler W. R., Mingioli E. S., Betz B. Cancer Res., 1971, 31, 332.
55. Kann H. E., Smyder H. L., Kohn K. W. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1971, 12, 59.
56. Harrap K., Hill B. T., Brit. J. Cancer, 1969, 23, 210.
57. Kleihues P. Chem.-Biol. Interactions, 1972, 5, 309.
58. Widnell C. C., Tata J. R. Biochim. et biophys. acta, 1964, 87, 531.
59. Stirpe P., Fiume L. Biochem. J., 1967, 105, 779.
60. Widnell C. C. Biochem. J., 1965, 95, 42.
61. Fiume L., Wieland Th. FEBS Letters, 1970, 8, 1.
62. Gorbacheva L. B., Mitskevich L. G., Kukushkina G. V. In: Advances antimicrobial and antineoplastic chemotherapy. Prague, Avicenum, Czechoslovak Medical Press, 1971, p. 111.
63. Мицкевич Л. Г., Розет Е. Г., Кукушкина Г. В., Горбачева Л. Б. Биохимия, 1972, 37, 851.
64. Emanuel N. M., Ostrouskaya L. A., Dederer L. Yu., Kukushkina G. V., Gorbacheva L. B. Proc. XIII Intern. Congr. Chemotherapy, Athens, 1975, 3, 186.
65. Gorbacheva L. B., Mitskevich L. G., Kukushkina G. V. Studia biophysica, 1972, 31/32, 437.
66. Wheeler G. P., Bowdon B. J. Biochem. Pharmacol., 1972, 21, 265.
67. Ishiama A., Hurwitz J. J. Biol. Chem., 1969, 244, 6680.
68. Эмануэль Н. М., Дедерер Л. Ю., Кукушкина Г. В., Горбачева Л. Б. Известия АН СССР, серия биол., 1976, № 4, 517.
69. Meilhac M., Tysper Z., Chambon P. Europ. J. Biochem., 1972, 28, 291.
70. Дедерер Л. Ю., Кукушкина Г. В., Горбачева Л. Б. Докл. АН СССР, 1975, 221, 736.
71. Butterworth P. H. W., Cox R. T., Chesterton C. J. Europ. J. Biochem., 1971, 23, 229.
72. Herzog J., Farber J. L. Cancer Res., 1976, 36, 1761.
73. Kahn H. E., Kohn K. W., Widerlite L., Gullion D. Cancer Res., 1974, 34, 1982.
74. Penman M., Huffman R., Kumar A. Biochemistry, 1976, 15, 2661.
75. Abelson H. T., Karlan D., Penman S. Biochim. et biophys. acta, 1974, 349, 389.
76. Островская Л. А., Соколова И. С., Горбачева Л. Б. Вопросы онкологии, 1977, 23, № 3, 59.
77. Rosenkranz H. S., Bitoon M., Schmidt R. M. J. Nat. Cancer Inst., 1968, 41, 1009.
78. Горбачева Л. Б., Кукушкина Г. В., Соколова И. С. Биохимия, 1968, 33, 504.
79. Горбачева Л. Б., Абакумова О. Ю., Кукушкина Г. В., Лерман М. И., Мицкевич Л. Г., Соколова И. С., Угарова Т. Ю. Тезисы IV Международного биофизического конгресса. М., «Наука», 1972, 4, 260.
80. Абакумова О. Ю., Угарова Т. Ю., Пилипенко Н. Н., Куценко Н. Г., Лерман М. И., Горбачева Л. Б., Соколова И. С. Бюллетень эксперим. биол. и мед., 1973, № 10, 51.
81. Абакумова О. Ю., Угарова Т. Ю., Пилипенко Н. Н., Куценко Н. Г., Лерман М. И., Горбачева Л. Б., Sokolova I. S. Cancer Res., 1974, 34, 1542.

82. Baliga B. S., Borek S., Qeinstein I. B., Srinivasan P. R. Proc. Nat. Acad. Sci., 1969, 62, 869.
83. Gonano T., Chiarugi V. P., Pirro C., Marrini M. Biochemistry, 1971, 10, 900.
84. Griffin A., Bradt E., Setter V. Cancer Res., 1951, 11, 869.
85. Taylor M. W., Buck C. A., Grander G. A., Holland J. J. J. Mol. Biol., 1968, 33, 809.
86. Volkers A. A., Taylor M. W. Biochemistry, 1971, 10, 488.
87. Craddock V. M. Biochim. et biophys. acta, 1969, 195, 351.
88. Inose M., Mijata S., Iwanami J. Biochim. et biophys. acta, 1972, 259, 96.
89. Nau F., Carbit F., Deibert J. M. Biochim. et biophys. acta, 1972, 277, 80.
90. Srinivasan D., Srinivasan P. R., Grünberger D., Weinstein I. B., Morris H. P. Biochemistry, 1971, 10, 1966.
91. Stewart M. J., Corrance M. H. Cancer, 1969, 29, 1642.
92. Waalkes T. P., Adamson R., O'Gara R. W., Gallo R. C. Cancer Res., 1971, 31, 1069.
93. Aviv H., Boime I., Leder P. Proc. Nat. Acad. Sci., 1971, 68, 2303.
94. Kleihues P. K., Magee P. N. Biochem. J., 1973, 136, 303.
95. Villa-Trevino S. Biochem. J., 1967, 105, 625.
96. Plapp F. V., Chiga M. Biochem. Pharmacol., 1973, 22, 1681.
97. Abelson H. A., Penman S. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1972, 13, 65.
98. Anderson T., Schein P. S., DcMenamin M. G., Cooney D. A. J. Clin. Invest., 1974, 54, 672.
99. Schein P. S., Loftus S. Cancer Res., 1968, 28, 150.
100. Schein P. S. Cancer Res., 1969, 26, 1266.
101. Tsukagoshi S., Kao M. H., Goldin A. Cancer Chemotherapy Repts, 1968, 52, 569.

ПРИМЕНЕНИЕ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН В КОМБИНИРОВАННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

В последние годы полихимиотерапия, т. е. совместное применение (одновременное или последовательное) нескольких противоопухолевых препаратов, стала одним из основных направлений в лекарственном лечении онкологических больных. Успехи комбинированной химиотерапии, позволяющей в ряде случаев значительно улучшить результаты лечения больных злокачественными гемопатиями и некоторыми формами солидных опухолей, такими как рак молочной железы, диссеминированная меланома, ангиосаркома, тератобластома яичка, хорионэпителиома и другие формы, стимулируют дальнейшие исследования в этой области.

Широкое распространение комбинированных методов лечения вызвано не только стремлением повысить эффективность деструктивного воздействия на опухоль при снижении повреждающего действия на организм-опухоленоситель, но и необходимостью контроля над процессами диссеминации и метастазирования опухолевых клеток особенно в органы (ЦНС, печень и др.), недоступные для многих препаратов, весьма активных для первичной опухоли. Проблемы преодоления резистентности и развития коллатеральной чувствительности опухоли также тесно связаны с применением комбинированной терапии.

Для совместного применения обычно выбирают препараты, основываясь на таких показателях, как достаточно высокая эффективность при раздельном использовании, различия в химическом строении, механизме действия, метаболизме, во влиянии на клеточный цикл и кинетику пролиферации опухолевых клеток (избирательность летального цитотоксического действия по отношению к клеткам, находящимся в разных фазах митотического цикла, отсутствие или наличие фазовой специфичности и циклоспецифичности), отсутствие перекрестной резистентности, неодинаковая направленность токсических реакций и т. п. [1—15].

С точки зрения рационального подбора лекарств появление нового класса соединений, подобных НАМ, с присущими им особенностями — широтой терапевтического действия, способностью проникать через ГЭБ, отсутствием перекрестной устойчивости с другими цитостатиками, циклонеспецифичностью

(способностью летального воздействия как на делящиеся, так и на непролиферирующие, покоящиеся клетки) — открывает новые возможности для комбинированного лечения больных с далеко зашедшим, распространенным опухолевым процессом и рефрактерностью к большинству химиотерапевтических агентов. В связи с этим представляется естественным, что НАМ заняли одно из ведущих мест в современной полихимиотерапии и активно изучаются в качестве компонентов многих схем комбинированной терапии.

Следует отметить, что скрининг эффективных комбинаций пока еще проводится несистематически и отстает от интенсивных клинических исследований, хотя и очевидно, что проведение предклинических испытаний на животных — совершенно необходимый промежуточный этап поиска потенциально активных комбинаций, позволяющий рекомендовать для клинического исследования наиболее перспективные сочетания веществ и оптимальные режимы их применения. Поэтому выбор компонентов для клинически применяющихся комбинаций зачастую еще не базируется на экспериментальных фактах, а делается на основе общих теоретических соображений или чисто эмпирически, что несомненно снижает эффективность поисков.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИЙ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН С ДРУГИМИ ЦИТОСТАТИКАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Задача экспериментального исследования — выявление комбинаций препаратов, обладающих синергическим противоопухолевым эффектом, под которым понимают такой уровень терапевтической активности, который не может быть достигнут при применении каждого из компонентов порознь в дозах, близких к LD_{10} [1, 2, 4, 7, 14]. Несмотря на достаточно часто встречающееся усиление действия препаратов при их совместном применении, синергизм в точном смысле этого понятия имеет место довольно редко. Очевидно, что такое усиление активности не должно сопровождаться усилением токсичности. Существенное значение имеют при этом такие факторы, как дозировка препаратов и соотношение доз в комбинации, последовательность применения, схема и путь введения, растворитель и т. п.

Экспериментально исследована целесообразность совместного применения НАМ с препаратами разных групп: алкилирующими агентами (циклофосфан и его производные, хлорэтилзамещенные триазенимидазолкарбоксамиды, сарколизин), антиметаболитами (метотрексат, цитозин-арабинозид, 6-меркаптопурин, 5-фторурацил), веществами растительного и бактериального происхождения — противоопухолевыми антибиотиками (блеомицин, адриамицин), алкалоидами (винкристин), ферментами (L-аспарагиназа и гормонами (преднизолон). Изучена возможность

Таблица 96

Сочетания НАМ с другими препаратами или видами лечения, обладающие терапевтическим синергизмом в отношении экспериментальных опухолей

Сочетание	Опухоль	Способ перенесения опухоли	Источник
НММ+			
Циклофосфан	Лейкемия L1210 мышей	П/к	[6]
То же	Рак молочной железы мышей линии А (6 генерация)	»	[45]
»	Карциносаркома Уокера 256 крыс	»	[45]
Сарколизин	То же	»	[16]
Метотрексат	Лейкемия L1210 мышей	»	[6, 17, 29, 35]
6-Меркаптопурин	Рак молочной железы мышей линии А (6 генерация)	»	[16]
Блеомицин	То же (8 генерация)	»	Данные ИХФ АН СССР
Циклофосфан + адриамицин	» (6 генерация)	»	[45]
То же	Карциносаркома Уокера 256 крыс	»	[45]
БХНМ+			
Циклофосфан	Лейкемия L1210 мышей	В/б	[18]
То же	То же	В/в	[23, 24]
»	Лейкемия мышей линии АКР	Спонтанная	[23—26]
»	То же	В/в	[20, 21]
»	Лейкемия Р 1534 мышей	В/б	[22]
»	Лейкемия L5222 крыс	»	[27]
»	Фибросаркома КНТ мышей	П/к	[28]
Изофосфамид	Лейкемия мышей линии АКР	В/в	[21]
Трофосфамид	То же	»	[21]
ВТІС	»	»	[21]
Метотрексат	Лейкемия L1210 мышей	П/к	[2, 6, 17, 29, 35—38]
То же	То же	В/в	[29, 39]
»	»	Интрацеребрально	[2]
Цитозин-арабинозид	»	П/к	[6, 17, 29, 39, 41]
Пальмитат цитозина-арабинозида	Лейкемия мышей линии АКР	Спонтанная	[25, 26]
6-Меркаптопурин	Лейкемия L1210 мышей	П/к	[6, 17, 43]
5-Фторурацил	Лейкемия мышей линии АКР	В/в	[21]
5 - Фтор - 2'- деоксиурдин	Карцинома толстой кишки 26 мышей	»	[64]
Винкристин	Лейкемия L1210 мышей	В/б	[49]
L-аспарагиназа	Лимфома L5178 Y мышей	Интрацеребрально	[59]

Таблица 96 (продолжение)

Сочетание	Опухоль	Способ перививки опухоли	Источник
Цитозин - арабинозид + ДТТС	Лейкемия L1210 мышей	П/к	[44]
Цитозин - арабинозид + ДТТС + метотрексат	Лейкемия L1210 мышей	»	[44]
Амфотерицин В	Лейкемия мышей линии АКР	В/в	[48]
Твин 80	Лейкемия L1210 мышей	В/б	[54]
Витамины А	То же	»	[50, 51]
Витамин А + кофеин	»	»	[51]
Хлорпромазин + кофеин	»	»	[30, 52]
Прохлорперазин + кофеин	»	Не указан	[30]
Хлордиаэпоксид + кофеин	»	То же	[30]
Оксимочевина + кофеин	»	В/б	[53]
Облучение	Опухоль молочных желез ЕМТ6 мышей	П/к	[61]
Хирургическое удаление опухоли	Рак молочной железы мышей линии СЗН (линия 44)	»	[58]
То же	Глиома крыс	Интрацеребрально	[62]
ЦГНМ + Циклофосфан	Лейкемия мышей линии АКР	В/в	[21]
ВТТС	Лейкемия L1210 мышей	»	[15, 22, 33, 63]
Цитозин-арабинозид	То же	»	[6, 23, 42]
То же	»	В/б	[43]
6-Меркаптопурин	»	»	[43]
Винкристин	»	»	[49]
Пальмитат цитозина арабинозида + винкристин + преднизолон	Лейкемия мышей линии АКР	Спонтанная	[25, 26, 60]
МеЦГНМ + Циклофосфан	То же	То же	[25, 26, 60]
То же	Рак молочной железы мышей линии СЗН	П/к	[22]
»	Опухоль легких Льюис мышей	»	[31]
»	Меланома В-16	»	[22, 32, 65, 66]
»	Остеогенная саркома хомячков	»	[32]
Цитозин-арабинозид	Лейкемия L1210 мышей	В/б	[43]
Пальмитат цитозина-арабинозида	Лейкемия мышей линии АКР	Спонтанная	[25, 60]

Таблица 96 (окончание)

Сочетание	Опухоль	Способ пересевки опухоли	Источник
6-Меркаптопурин	Лейкемия L1210 мышей	В/б	[43]
5-Фторурацил	Лейкемия Р-388 мышей	»	[64]
То же	Карцинома толстой кишки 38 мышей	П/к	[64]
Адриамицин	Меланома В-16 мышей	»	[32]
Циклофосфан + метотрексат	Лейкемия мышей линии АКР	Спонтанная	[25]
Циклофосфан + адриамицин	То же	То же	[26]
Циклофосфан + пальмитат цитозина-арабинозида	То же	То же	[25, 26, 60]
Циклофосфан + пальмитат цитозина-арабинозида + 6-тиогуанин	Лейкемия мышей линии АКР	Спонтанная	[26]
Пальмитат цитозида-арабинозида + винкристин + преднизолон	То же	То же	[25, 26, 60]
Циклофосфан + винкристин + преднизолон	»	»	[26]
Хирургическое удаление опухоли	Карцинома толстой кишки 26 мышей	П/к	[58]
То же	Опухоль легких Льюис мышей	»	[31]
»	Меланома В-16 мышей	»	[65]
Хирургическое удаление опухоли + циклофосфан	Опухоль легких Льюис мышей	»	[31]
Хирургическое удаление опухоли + 5-фторурацил	Карцинома толстой кишки 26 мышей	»	[65]

повышения эффективности НАМ с помощью неспецифических воздействий (амфотерицин В, твин 80, витамин А, кофеин, психотропные средства и др.). Показана перспективность использования НАМ в качестве адьювантных химиотерапевтических агентов при хирургическом удалении первичной опухоли.

Обычно заключение об эффективности комбинированной химиотерапии основывается на сопоставлении таких показателей, как доля излеченных животных и увеличение средней продолжительности жизни животных-опухоленосителей, получавших индивидуальные препараты и их сочетания. В исследованиях, проведенных в кинетическом аспекте, для сравнительной оценки эффективности различных видов лечения, помимо этих показателей, использовался еще и кинетический критерий — коэффици-

ент активности χ^* (см. главу I). В кинетических экспериментах препараты вводили порознь в полных терапевтических дозах, а совместно — в половинных дозах. При этих условиях эффект комбинированного лечения, равный эффекту отдельного препарата, расценивался как аддитивный, а превышающий его — как синергический.

Комбинации НММ, БХНМ, ЦГНМ и МеЦГНМ с другими препаратами или видами лечения, проявившие терапевтический синергизм в отношении спонтанных и перевиваемых лейкемий, а также солидных опухолей животных, перечислены в табл. 96.

Комбинации с алкилирующими агентами

Наиболее широко испытаны сочетания различных НАМ и циклофосфана.

Синергизм терапевтического действия НММ и циклофосфана при однократном и многократном введении обнаружен при кинетическом изучении активности этой комбинации на карциносаркоме Уокера крыс (рис. 53, а, б, табл. 98). Однократное введение препаратов крысам с уже развившейся опухолью (весом около 200 мг) приводит к излечению половины животных и тормозит рост опухолей примерно в 10 раз сильнее, чем применение только НММ или циклофосфана. При многократном введении комбинация оказалась в 3—5 раз эффективнее раздельного применения препаратов. Отчетливо прослеживается по всем показателям зависимость эффекта от схемы введения препаратов. Так, однократное применение комбинации препаратов в пять раз более эффективно, чем многократное [16].

Сочетание НММ с циклофосфаном приводит к усилению противоопухолевой активности соединений также и в отношении далеко зашедшей солидной лейкемии L1210 (табл. 98) [17].

Совместное применение БХНМ и циклофосфана при солидной форме лейкемии L1210 оказалось менее эффективным, чем введение только БХНМ (см. табл. 98). Однако при диссеминированной форме лейкемии (перевивка внутривенно) наблюдается отчетливый синергический эффект (табл. 99) [24].

При асцитной лейкемии L1210 эта комбинация также высокоактивна, причем активность ее зависит от схемы сочетания препаратов [18]. Чем раньше вводили БХНМ и чем выше была ее доза, тем сильнее увеличивались продолжительность жизни мышей и число излеченных животных. Так, однократное введение БХНМ в дозе 25 мг/кг на 3 сут с последующим введением циклофосфана в дозах 50—70—100 мг/кг приводит к излечению большинства мышей.

Результаты подобных экспериментов косвенным образом подтверждают представление о различиях в действии НАМ и циклофосфана по отношению к клеткам, находящимся в разных фазах жизненного цикла [19].

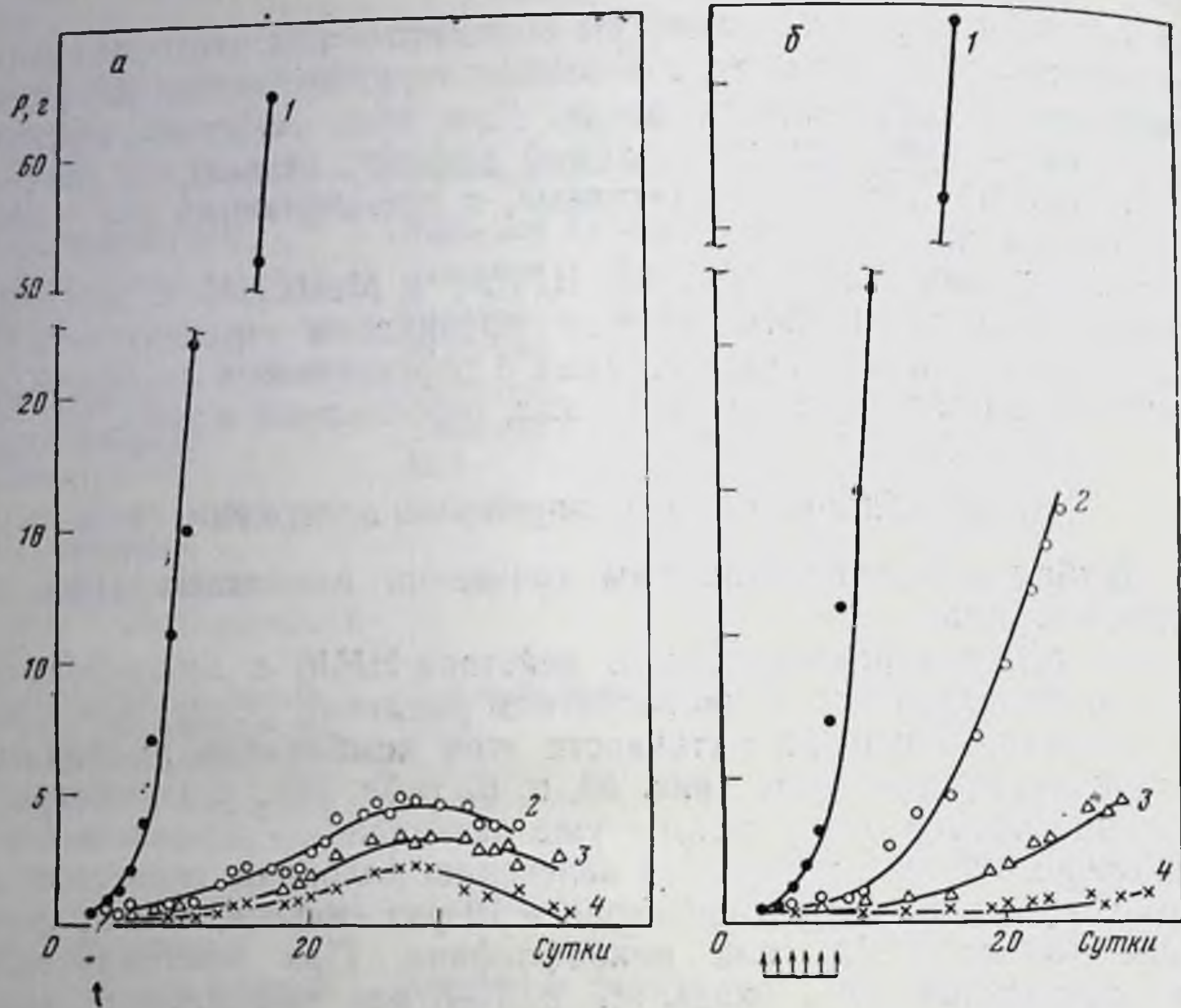


Рис. 53. Изменение веса опухоли при развитии карциносаркомы Уокера
 а — при однократном введении; б — при многократном; 1 — контроль; 2 — введение НММ;
 3 — циклофосфана; 4 — комбинация препаратов

Синергизм противоопухолевого действия при совместном применении БХНМ и циклофосфана показан и на другой модели генерализованного злокачественного процесса — спонтанной и перевиваемой лимфомах мышей линии АКР [20—26]. Сочетание препаратов вызывает в 10 раз более глубокое снижение числа жизнеспособных лейкемических клеток в тимусе мышей со спонтанной лимфомой по сравнению с индивидуальным эффектом этих препаратов [26]. При перевиваемой лимфоме наблюдается излечение 50—100% мышей при однократном одновременном введении БХНМ и циклофосфана за 48 ч до гибели мышей в контрольной группе, т. е. в период, когда ни один из препаратов не позволяет излечить животных [21].

Полное излечение мышей от острого лейкоза L5222 отмечено после однократного введения БХНМ (10 мг/кг) и циклофосфана (80 мг/кг) на 5—7 сут после перевивки при отсутствии вылеченных животных в группах, получавших только один из препаратов [27].

Синергический эффект комбинации БХНМ и циклофосфана показан и на модели солидной опухоли — далеко зашедшей

Таблица 97

Активность комбинаций НММ с другими противоопухолевыми препаратами в эксперименте

Группа	I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII		IX		X		
	Препараты	Доза, мг/кг/сут*	Схема введения	Число излеченных животных**	Средняя продолжительность жизни, сут	Увеличение средней продолжительности жизни, %	Максимальный вес опухоли, г	Средняя удельная скорость роста опухоли, сут ⁻¹ (φ)	Коэффициент активности (χ*)												
Карциносаркома Уокера 256 крыс																					
1	Контроль	—	—	—	16,8±2,2	—	64,4±4,2	0,157	—												
2	НММ	100	Однократно, 3 сут	0/40	36,2±3,9	115	4,8±0,9	0,030	0,81												
3	НММ	20	Ежедневно, 3—8 сут	0/40	25,3±2,3	51	14,5±2,7	0,070	0,55												
4	Циклофосфан	100	Однократно, 3 сут	4/40	38,6±4,2	130	3,4±0,8	0,022	0,86												
5	То же	20	Ежедневно, 3—8 сут	18/40	33,6±6,0	100	4,4±0,9	0,042	0,73												
6	НММ + циклофосфан	50+ 50	Однократно, 3 сут	20/40	39,0±4,9	132	2,3±0,6	0,003	0,98												
7	То же	10 10+	Ежедневно, 3—8 сут	16/40	35,4±8,5	111	1,0±0,4	0,015	0,90												
8	Сарколизин	5,0	То же	8/40	40,3±4,6	140	2,7±0,3	0,022	0,86												
9	НММ + сарколизин	10,0+ 2,5	»	28/40	42,0±3,8	150	0,3±0,1	—0,003	1,02												
10	Адриамицин	1,0	»	0/40	24,7±4,2	47	14,2±2,8	0,091	0,42												
11	НММ + адриамицин	10,0 +0,5	»	0/40	23,5±3,5	40	9,5±1,6	0,081	0,48												
12	Циклофосфан + адриамицин	10,0 +0,5	»	0/40	30,9±3,1	84	2,5±0,7	0,032	0,80												
13	НММ + адриамицин + циклофосфан	5,0+ 5,0+ 0,5	»	16/40	47,0±6,8	180	1,3±0,3	0,014	0,91												

Таблица 97 (окончание)

Группа	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
	Препараты	Доза, мг/кг сут*	Схема введения	Число излеченных животных**	Средняя продолжительность жизни, сут	Увеличение средней продолжительности жизни, %	Максимальный вес опухоли, г	Средняя удельная скорость роста опухоли холн, сут ⁻¹ (Ф)	Кэф-фици-ент ак-тивнос-ти (х*)
I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
	Рак молочной железы мышей линии А (6 генерация)								
14	Контроль	—	—	—	38,0±6,2	—	5,5±1,7	0,050	—
15	НММ	40	Ежедневно, 5—13 сут	0/20	38,5±5,8	0	2,6±0,9	0,040	0,20
16	6-Меркаптопурин	40	То же	0/20	38,8±5,3	0	3,3±1,8	0,043	0,14
17	НММ + 6-меркаптопурин	5 + 20	» »	0/20	39,5±6,3	4	1,6±0,8	0,033	0,34
	Рак молочной железы мышей линии СЗН (21 генерация)								
18	Контроль	—	—	—	36,7±5,2	—	4,6±1,2	0,068	—
19	НММ	20	Через день 8—18 сут	0/20	38,2±6,3	4	2,4±0,8	0,056	0,20
20	5-Фторурацил	20	То же	0/20	42,3±5,8	15	2,1±0,6	0,044	0,35
21	НММ + 5-фторурацил	10 10 ⁺	» »	0/20	44,1±6,9	20	2,6±0,7	0,047	0,31
	Рак молочной железы мышей линии А (8 генерация)								
22	Контроль	—	—	—	42,0±7,0	—	8,6±1,1	0,048	—
23	НММ	20,0	Через день 8—14 сут	0/20	50,0±8,2	19,0	6,6±1,0	0,036	0,25
24	Блеомицин	15,0	То же	0/20	45,2±4,7	7,6	4,1±1,1	0,035	0,27
25	НММ + блеомицин	10,0 7,5 ⁺	» »	0/20	50,5±4,1	20,2	3,3±0,7	0,029	0,40

* Введение препаратов в/б.

** Числитель — число излеченных животных, знаменатель — общее число животных.

Таблица 98

Увеличение средней продолжительности жизни мышей с лейкемией L1210 под влиянием комбинированной терапии НАМ и циклофосфаном [17]

Препарат	Доза, мг/кг/сут	Начало лечения, сут	Схема введения	Увеличение средней продолжительности жизни, %
НММ	15	8	Ежедневно	45
Циклофосфан	65	8	То же	168
НММ + циклофосфан	8,4+23	8	»	183
БХНМ	14	6	Каждые 7 сут	900
Циклофосфан	39	6	Ежедневно	200
БХНМ + циклофосфан	14+8,4	6	Каждые 7 сут + ежедневно	533

Примечание. Перевивка опухоли и введение препаратов подкожно.

Таблица 99

Эффективность комбинации БХНМ и циклофосфана при диссеминированной лейкемии L1210 [24]

Препарат	Доза, мг/кг	Схема введения	Увеличение средней продолжительности жизни	Число излеченных мышей*
Циклофосфан	200	Однократно, 2 сут	225	0/10
БХНМ	40	Однократно, 2 сут	250	0/10
Циклофосфан + БХНМ	120+ +20	Однократно, 2 сут	387	2/10
Циклофосфан + БХНМ	150+ +30	Однократно, 2 сут	237	4/10

* Числитель — число излеченных мышей, знаменатель — общее число.

Перевивка опухоли внутривенная; введение препаратов внутрибрюшинное.

фибросаркоме КНТ мышей [28]. Изучение зависимости эффекта от числа инъекций, доз препаратов и схем их введения позволило установить, что оптимально трехкратное применение с интервалами в 1 нед при соотношении доз агентов 1:4 — БХНМ по 20 мг/кг/сут, циклофосфан — по 80 мг/кг/сут. В этих условиях удается излечить до 30% мышей, даже если введение препаратов начато на 4-е сут после перевивки, когда вес опухоли достигает 500 мг.

Наблюдается синергизм антилейкемического действия при сочетании ЦГНМ и циклофосфана (перевиваемая лимфома мышей линии АКР) [21].

Активность MeЦГНМ при совместном применении с циклофосфаном также заметно усиливается как в отношении системных гемобластозов (спонтанная и перевиваемая лейкемии мы-

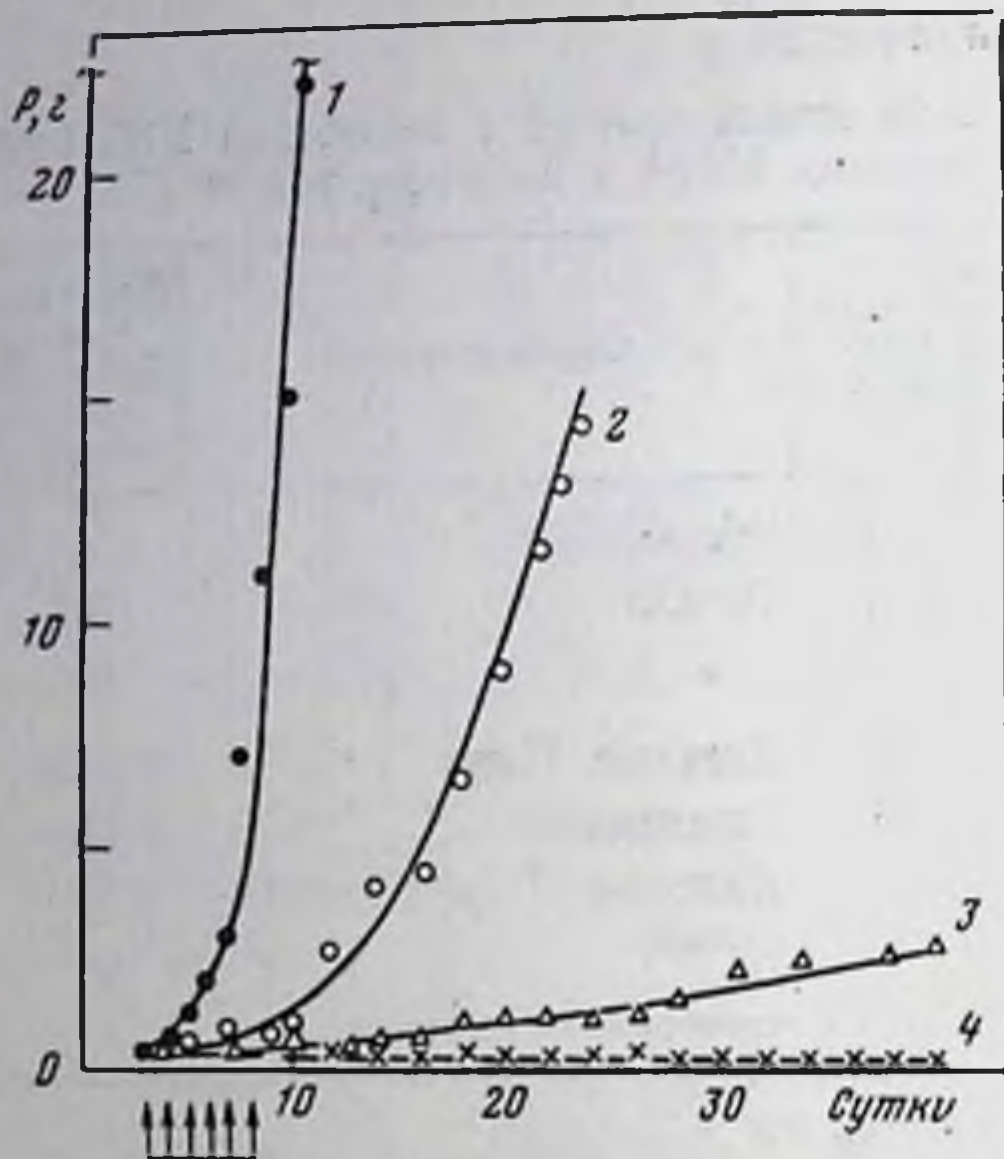


Рис. 54. Изменение веса опухоли при развитии карциносаркомы Уокера

- 1 — контроль;
- 2 — введение НММ;
- 3 — сарколизина;
- 4 — комбинации препаратов

шей линии АКР) [25, 26, 60], так и для солидных опухолей (рак молочной железы мышей линии СЗН, опухоль легких Льюис, меланома В-16 мышей, остеогенная саркома хомячков) [22, 31, 32, 65, 66].

Комбинация МеЦГНМ + циклофосфан — один из наиболее сильных индукторов ремиссии у мышей линии АКР со спонтанной лимфомой, а также наилучший способ поддержания ремиссии, вызванной применением винкристина и преднизолона. Такого рода поддерживающая терапия позволяет излечить до 10% мышей и увеличить продолжительность жизни остальных животных на 232% по сравнению с контролем. Применение же винкристина и преднизолона для поддержания ремиссии, индуцированной комбинацией МеЦГНМ и циклофосфана, оказалось малоэффективным [26].

При метастазирующей опухоли легких Льюис показан терапевтический синергизм комбинации МеЦГНМ (24 мг/кг) и циклофосфана (225 мг/кг). Однократное введение этой комбинации животным с опухолью весом 0,4—1 г приводит к излечению от 68% до 34% мышей соответственно. Однако при более распространенном процессе (вес первичной опухоли более 1 г) лучшие результаты дает сочетание комбинированной химиотерапии и оперативного удаления первичной опухоли [31].

Замещенные триазенимидазолкарбоксамиды (ВТІС и ДТІС) относят к алкилирующим агентам иного типа, чем β-хлорэтиламинамины [33]. Несмотря на существующую перекрестную резистентность между этими препаратами и НАМ, предполагается, что в сочетании они могут усиливать действие друг друга. Действительно, синергический противоопухолевый эффект сочетания

БХНМ или ЦГНМ и ВТІС показан при перевиваемых лейкемиях мышей линии АКР и L1210, что указывает на принципиальную возможность совместного применения препаратов двух данных групп. Однако при комбинации ЦГНМ и ДТІС наблюдается суммирование не только противоопухолевого, но и токсического действия, что, очевидно, делает ее неприемлемой для клинического применения [15, 21, 23, 33, 63].

Кинетическое изучение активности НММ и сарколизина, проведенное на крысах с карциносаркомой Уокера, выявило синергизм противоопухолевого действия препаратов (рис. 54). Совместное введение этих соединений излечивает до 70% крыс, вызывает регрессию опухолей у остальных животных и в 2,5 раза увеличивает сроки их жизни, что превышает эффективность сарколизина, к которому опухоль высоко чувствительна (см. табл. 97) [16].

Известно, что выявлению активных комбинаций алкилирующих агентов разного механизма действия придается большое значение [11, 15, 33, 34, 58]. Предполагается, что наблюдающееся при этом усиление действия связано с тем, что НАМ (или продукты их превращения, например, алкилизоцианаты) не только сами активно воздействуют на жизненно важные звенья метаболизма опухолевой клетки, но и препятствуют восстановлению повреждений, вызванных другими алкилирующими препаратами в макромолекулах [34].

Комбинации с антиметаболитами

Комбинации препаратов, в которых фигурируют антагонисты фолиевой кислоты, в первую очередь метотрексат, играют важную роль в химиотерапии опухолей. Большое значение имеют результаты, полученные при сочетании этого препарата с НММ и БХНМ.

Синергический эффект обнаруживается при совместном многократном применении НММ (8 мг/кг/сут, подкожно) и метотрексата (2 мг/кг/сут, подкожно), увеличивающих продолжительность жизни мышей с перевитой подкожно лейкемией L1210 на 206% по сравнению с контролем. Применение препаратов порознь увеличивает срок жизни мышей не более чем на 44% (НММ 64 мг/кг/сут) и 89% (метотрексат 2 мг/кг/сут) [6, 17, 39, 35].

Однократное введение БХНМ с последующим применением метотрексата ежедневно мышам с далеко зашедшей лейкемией L1210, привитой подкожно, приводит к резкому усилению эффекта (табл. 100). При оптимальном соотношении доз БХНМ и метотрексата (4:1 или 2:1) этот эффект можно рассматривать как синергический [6, 17, 29, 35—38]. Эта схема также весьма активна и при диссеминированной форме лейкемии L1210, привитой внутривенно [39].

Таблица 100

Влияние БХНМ, метотрексата, цитозин-арабинозида и комбинаций этих препаратов на среднюю продолжительность жизни мышей с лейкемией L1210 [17]

Начало лечения, сут	Схема введения препаратов	Индивидуальные препараты				Комбинации препаратов	
		Доза, мг/кг	увеличение средней продолжительности жизни, %	доза, мг/кг	увеличение средней продолжительности жизни, %	доза, мг/кг	увеличение средней продолжительности жизни, %
	БХНМ Метотрексат	БХНМ	Метотрексат	БХНМ+метотрексат			
6	6 сут Ежедневно	65 или 39	>900	0,65 161	23+1,08	944	
6	6 сут Ежедневно	23	>715	0,39 140	14+0,65	650	
7	7 сут »	39	370	1,08 180	14+0,65	725	
6	6 сут Каждые два дня	65 или 39	>900	5,00 211	23+1,8	939	
6	То же Каждые 4 дня	65 или 39	>900	65 или 39	23+15	>900	
6	» То же	40	200	40 55	20+10	500	
	БХНМ Цитозин-арабинозид	БХНМ	Цитозин-арабинозид	БХНМ+цитозин-арабинозид			
7	7 сут Ежедневно	65	300	23 210	8,4+14	>755	
7	7 сут То же	39	>800	39 365	8,4+23	735	
8	8 сут »	65	309	39 218	14+14	413	
8	То же Каждые 2 дня	65	309	180 413	14+300	609	
8	» Каждые 4 дня	65	309	833 409	14+65	627	

Примечание. Перевивка опухоли и введение препаратов подкожно.

Ежедневное применение препаратов в указанном соотношении доз (БХНМ по 3 мг/кг, метотрексат по 0,75 мг/кг) излечивает 60% мышей с генерализованной формой лейкоза (начало лечения на 7 сут после внутривенной перевивки лейкемии L1210 [29]).

Эффект комбинаций НАМ и метотрексата при генерализованных формах лейкемии объясняется, по-видимому, активным воздействием НАМ на инфильтраты лейкемических клеток в мозгу, недостижимые для метотрексата, который, однако, подавляет распространение и развитие лейкемического процесса в остальных органах. Эти результаты представляют собой типичный пример последовательного сочетания циклонеспецифического и циклоспецифического препаратов. НАМ, воздействуя на покоящиеся клетки в фазе G_0 , уменьшают размер популя-

ции, способствуя тем самым увеличению фракции активно про-
фелирующих клеток, наиболее чувствительных к метотрексату
в период синтеза ДНК (фаза S).

Сочетание трех препаратов при оптимальном соотношении
доз (БХНМ — 15 мг/кг, метотрексат — 25 и циклофосфан —
150 мг/кг) приводит к усилению противоопухолевой активно-
сти, выражающемуся в увеличении сроков жизни мышей с лей-
кемией L1210 на 45% сверх продолжительности жизни живот-
ных, получавших только БХНМ (20 мг/кг). Однако этот эффект
не может быть расценен как синергический, поскольку указан-
ные различия лежат в пределах ошибки эксперимента [40].

Синергизм противоопухолевого действия наблюдается при
совместном введении MeЦГНМ, метотрексата и циклофосфана
мышам со спонтанной лейкемией AKR [26].

Принцип частичной синхронизации популяции опухолевых
клеток положен также в основу комбинаций НАМ и цитозин-
арабинозида, специфического ингибитора синтеза ДНК [11].

При последовательном применении БХНМ однократно и
цитозин-арабинозида ежедневно достигается синергизм тера-
певтической активности (см. табл. 100) [6, 17, 29, 39, 41]. Мак-
симальный эффект — излечение 75% мышей с лейкемией
L1210 — отмечается при сочетании нетоксических доз препара-
тов: БХНМ — 8 мг/кг, цитозин-арабинозид — 14 мг/кг/сут [29].

Комбинация ЦГНМ и цитозин-арабинозида излечивает мы-
шей с лейкемией L1210 даже при начале лечения на 3 сут после
внутривенной перевивки опухоли, за 48 ч до гибели контроль-
ных животных, т. е. когда в организме мыши имеется более
 10^8 лейкемических клеток, распространенных практически по
всем органам и тканям (табл. 101) [42].

Синергический эффект этой комбинации при других схемах
введения показан на асцитной лейкемии L1210 [43].

Достигнуто также усиление активности при сочетании
MeЦГНМ с цитозин-арабинозидом [32, 43]. Увеличение после
воздействия MeЦГНМ активности цитозин-арабинозида при
плазмоцитоме хомячков, ранее бывшей резистентной к этому
препарату, может служить примером развития коллатеральной
чувствительности опухоли к одному из компонентов комбина-
ции под влиянием другого [32].

Синергизм противоопухолевой активности наблюдается и
при сочетании БХНМ или MeЦГНМ с пальмитатом цитозин-
арабинозида (спонтанная лейкемия AKR) [25, 26, 60].

Рассмотрим результаты, полученные при включении НАМ в
более сложные комбинации, состоящие из нескольких препара-
тов. Так, последовательное введение винкристина в дозе
0,5 мг/кг на 1-е сут, преднизолона по 30 мг/кг в сутки на 1—
4-е сут, пальмитата цитозин-арабинозида по 25 мг/кг в сутки с
5 по 9-е сутки и ЦГНМ в дозе 25 мг/кг на 12-й день развития
спонтанной лейкемии мышей линии AKR увеличивает число

Таблица 101

Эффективность комбинации ЦГНМ и цитозин-арабинозида при лейкемии L1210 мышей [42]

Препарат	Разовая доза, мк/кг	Начало лечения, сут	Схема введения	Увеличение средней продолжительности жизни, %	Число излеченных мышей*
ЦГНМ	2,5	2	Каждые 3 ч 2,6,10,14 сут	50	0/10
Цитозин-арабинозид	15,0	2	То же	475	0/9
ЦГНМ + цитозин-арабинозид	2,5 +	2	»	925	9/10
	10,0				
ЦГНМ	2,5	3	Каждые 4 ч 3,7,11,15 сут	0	0/10
Цитозин-арабинозид	10,0	3	То же	262	0/10
ЦГНМ + цитозин-арабинозид	2,5 +	3	»	400	4/10
	10,0				

* Числитель — число излеченных животных, знаменатель — общее число.
Прививка опухоли внутривенная, введение препаратов внутривенно.

излеченных мышей до 39% по сравнению с 15% мышей, излеченных при применении комбинации, состоящей только из винкристина и преднизолона. Введение ЦГНМ до пальмитата цитозин-арабинозида приводит к резкому ослаблению эффекта [26]. Аналогичные результаты получены при замене в этой комбинации ЦГНМ на MeЦГНМ [25, 26, 60].

БХНМ и комбинация БХНМ + метотрексат способствует усилению активности комбинации ДТІС и цитозин-арабинозида. Ежедневное (5—13 сут) введение ДТІС 65 мг/кг/сут в сочетании с интермиттирующим курсом цитозин-арабинозида (8 мг/кг каждые 3 ч в течение суток с интервалом в 4 сут) увеличивает сроки жизни мышей с солидной формой лейкемии L1210 на 165—215% в зависимости от длительности лечения. Однако практическая ценность этой комбинации снижается из-за развития в короткие сроки резистентности к цитозин-арабинозиду. В связи с этим очень важно, что применение БХНМ (20 мг/кг на 16-е сут) или комбинации БХНМ (20 мг/кг на 16-е сут) + метотрексат (2,0 мг/кг/сут ежедневно, 17—29-е сут) позволяет улучшить результаты при комбинации ДТІС + цитозин-арабинозид и увеличить сроки жизни мышей еще на 55—105%, т. е. на 270% по сравнению с контролем [44]. Такое сочетание нескольких препаратов является хорошим примером усиления терапевтического действия за счет преодоления раз-

Рис. 55. Изменение веса опухоли при развитии рака молочной железы мышей линии А

- 1 — контроль;
- 2 — введение НММ;
- 3 — меркаптопурина;
- 4 — комбинации препаратов

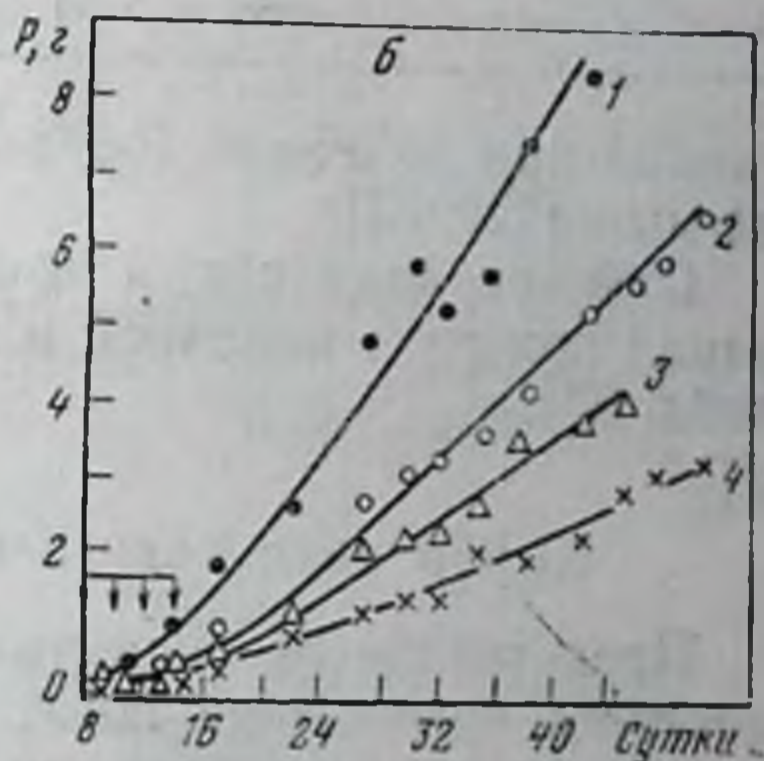
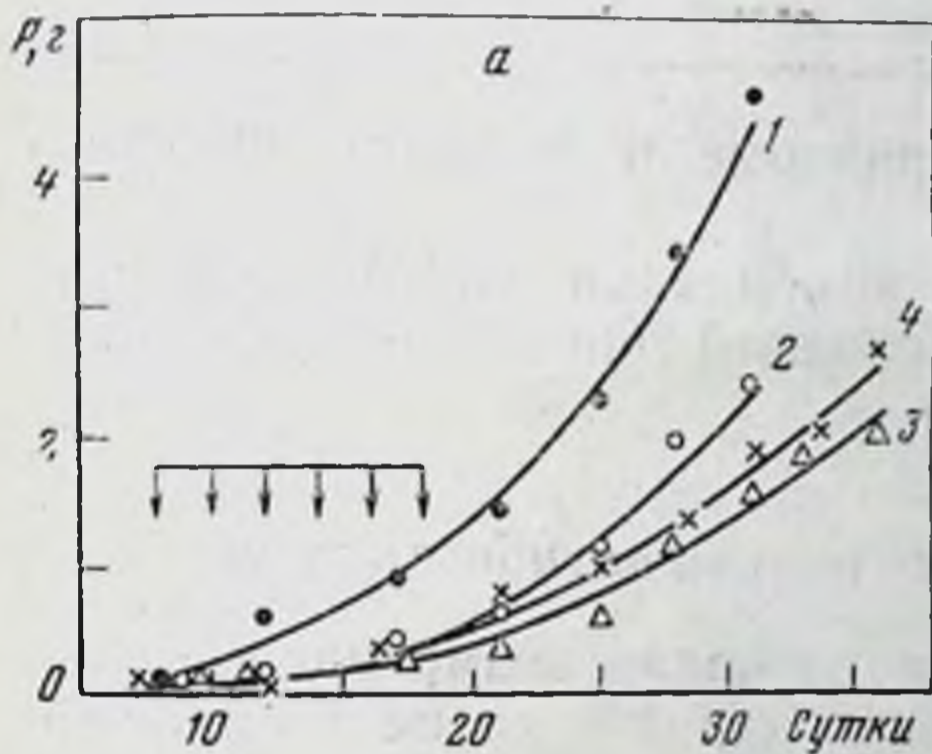
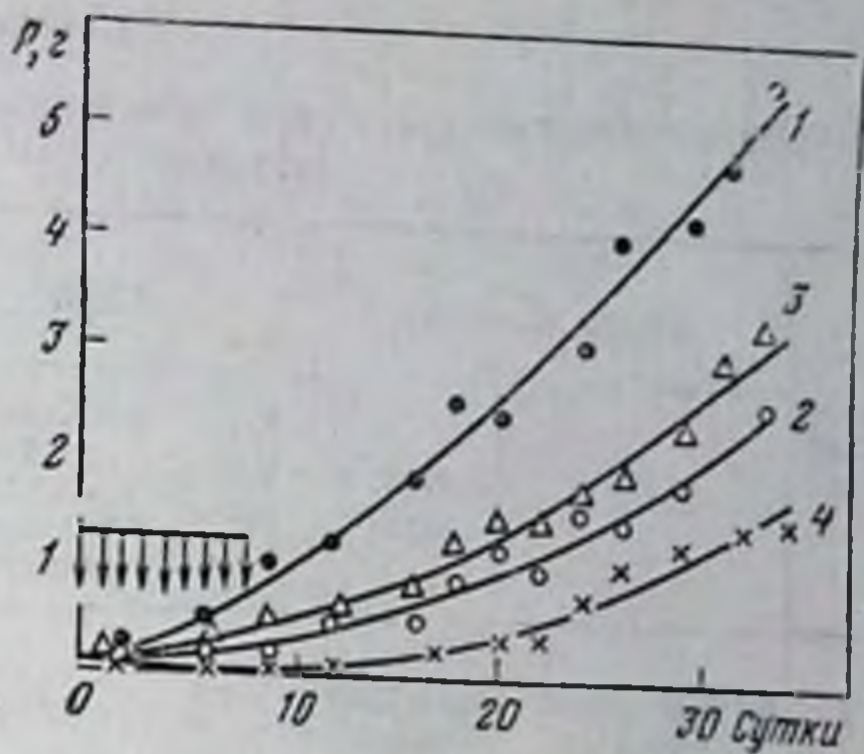


Рис. 56. Кинетические кривые изменения веса опухоли при развитии рака молочной железы мышей линии СЗН (а) и линии А (б)

- а: 1 — контроль; 2 — введение НММ; 3 — 5-фторурацила; 4 — комбинации препаратов;
- б: 1 — контроль; 2 — введение НММ; 3 — блеомицина; 4 — комбинации препаратов

вивающейся резистентности к одному из компонентов комбинации, в данном случае к цитозин-арабинозиду.

Усиление противоопухолевой активности наблюдается при сочетании и с другими антиметаболитами.

Совместное применение НММ и 6-меркаптопурина приводит к значительному усилению действия препаратов при раке молочной железы мышей линии А (рис. 55, см. табл. 97) [16].

Синергическим эффектом обладают также комбинации БХНМ + 6-меркаптопурин (солидная лейкемия L1210) (табл. 102) [6, 17, 43], ЦГНМ или МеЦГНМ с 6-меркаптопурином (асцитная лейкемия L1210) [43].

Сочетание БХНМ и 5-фторурацила проявляет терапевтический синергизм при перевиваемой лейкемии АКР, а комбинация МеЦГНМ и 5-фторурацила оказалась исключительно ак-

Таблица 102

Терапевтический синергизм комбинаций БХНМ и 6-меркаптопурина при лейкемии L1210 мышей [17]

Начало лечения	Схема введения		БХНМ		6-Меркаптопурин		БХНМ+6-Меркаптопурин	
	БХНМ	6-меркаптопурин	доза, мг/кг	увеличение средней продолжительности жизни, %	доза, мг/кг	увеличение средней продолжительности жизни, %	доза, мг/кг	увеличение средней продолжительности жизни, %
7	однократно 7 сутки	каждые 2 дня	23	289	180	67	39+39	>444
6	однократно 6 сутки	каждые 2 дня	39	611	180	67	39+14	900

Примечание. Перевивка опухоли и введение препаратов подкожно.

тивной при лейкемии Р-388 и карциноме 38 толстого кишечника мыши [21, 64].

Отмечен аддитивный эффект комбинации НММ + 5-фторурацил при раке молочной железы мышей линии СЗН (рис. 56, а, табл. 97).

Комбинации с противоопухолевыми антибиотиками

Представляется существенным изучение возможностей совместного применения НАМ и таких клинически ценных противоопухолевых антибиотиков, как блеомицин, не обладающий миелодепрессивным действием, и адриамицин. Эти комбинации должны быть активными, так как присутствие агентов, способных связываться с ДНК, может дополнительно блокировать восстановление вызванных НАМ повреждений [11]. Механизм цитокINETического действия НАМ, блеомицина и адриамицина различен. НАМ вызывают преимущественно гибель клеток, находящихся в конце фазы G_1 , в начале и середине фазы S , а также увеличивают продолжительность фазы S и блокируют клетки в поздней интерфазе (см. главу V). Блеомицин летально воздействует на клетки в фазе G_2 и митозе, блокирует клетки в фазе G_2 . Блеомицин, подобно НАМ, является циклонеспецифическим препаратом, цитотоксичным для непролиферирующих клеток, покоящихся в фазе G_0 . К летальному действию адриамицина наиболее чувствительны клетки в момент перехода из фазы G_1 в фазу S и в период пребывания в фазе S . Блокирующее влияние препарата распространяется на клетки, находящиеся в фазах G_1 , S и G_2 [11, 12].

Комбинации НАМ с противоопухолевыми антибиотиками экспериментально изучены мало. Особое значение в связи с этим имеют данные, свидетельствующие об отчетливом усиле-

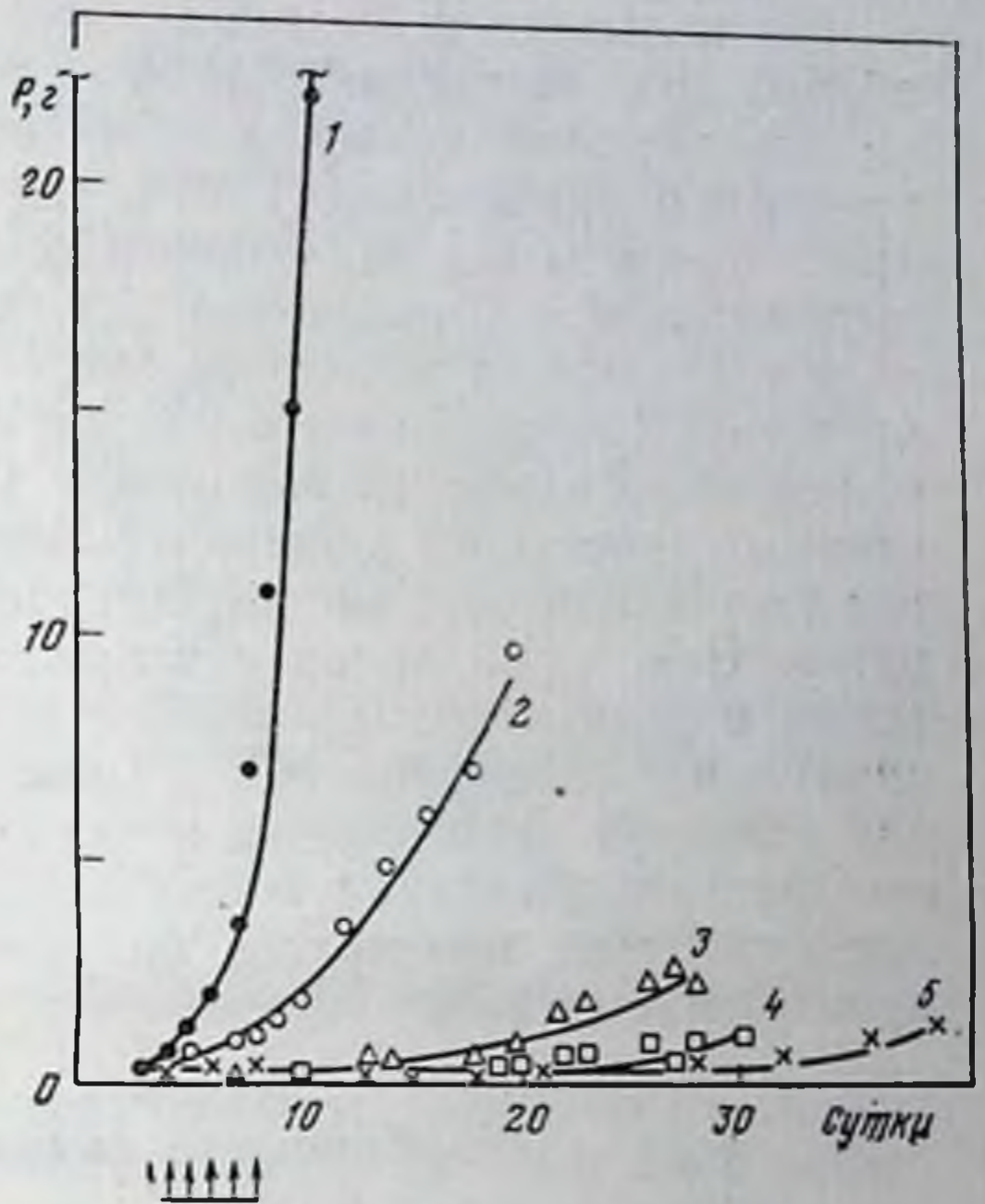
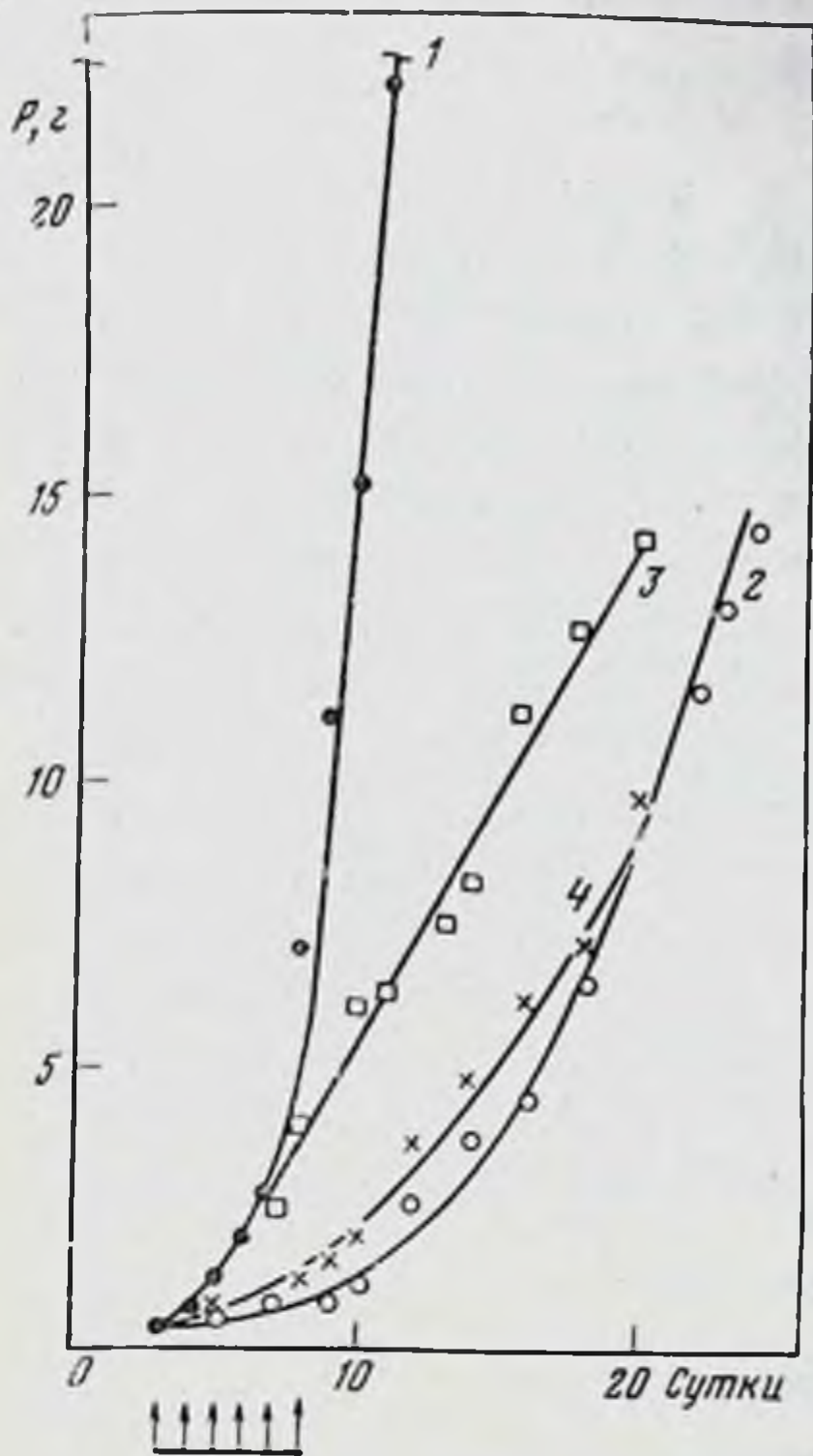


Рис. 57. Изменение веса опухоли при развитии карциносаркомы Уокера
 1 — контроль; 2 — введение НММ; 3 — адриамицина; 4 — комбинации препаратов

Рис. 58. Влияние различных видов комбинированной терапии на развитие карциносаркомы Уокера

1 — контроль; 2 — НММ + адриамицин; 3 — адриамицин + циклофосфан; 4 — НММ + циклофосфан; 5 — НММ + циклофосфан + адриамицин

нии противоопухолевого действия НММ и блеомицина при их совместном применении.

Кинетическое изучение влияния этих препаратов на развитие рака молочной железы мышей линии А показало, что сочетание нетоксических доз вещества даже при коротком курсе лечения сильнее тормозит рост опухолей, чем каждый из них в отдельности в дозах, близких к МПД (см. рис. 56, б, табл. 97).

Совместное применение НММ и адриамицина при карциносаркоме Уокера не более эффективно, чем введение только одного адриамицина (рис. 57, табл. 97). При последовательном введении препаратов существенную роль играет порядок их введения. Так, при первоначальном введении НММ (20 мг/кг шестикратно) с последующим применением адриамицина (1 мг/кг шестикратно) удается затормозить рост опухоли более

чем вдвое ($\chi^* = 0,6$), что превышает эффект, наблюдающийся при обратной последовательности введения препаратов ($\chi^* = 0,3$) [45].

На меланоме В-16 мышей показан, однако, синергический эффект при сочетании МеЦГНМ и адриамицина [32].

Значительное усиление активности наблюдается при одновременном применении НММ, адриамицина и циклофосфана (рис. 58, см. табл. 98). Синергический эффект этой комбинации, выражающийся в излечении 40% крыс, торможении роста опухоли у остальных животных более чем в 10 раз, увеличении продолжительности их жизни почти втрое по сравнению с контролем, обусловлен, по-видимому, в значительной мере синергизмом совместного действия НММ и циклофосфана, практически не уступающего по эффективности комбинации трех препаратов. Некоторый вклад в наблюдаемый эффект может вносить также и аддитивность, имеющая место при сочетании адриамицина и циклофосфана [45]. Усиление активности при совместном введении адриамицина и циклофосфана показано и на других экспериментальных моделях [46, 47]. Такой же эффект от сочетания трех препаратов получен при раке молочной железы мышей линии А [45].

Комбинации с винкалоидами

Обнаружен синергизм противоопухолевого действия БХНМ (20 мг/кг) и ЦГНМ (25 мг/кг) в сочетании с винкристином при введении НАМ через разные сроки после однократного применения алкалоида (0,075 мг/кг внутривнутрибрюшинно) на 5 сут развития лейкемии L1210 [49].

В работе [15] признается целесообразным изучать в первую очередь те вещества, которые при совместном применении могут вводиться в дозах, составляющих LD_{10} или $0,5 LD_{10}$. К числу таких потенциально активных комбинаций относятся: БХНМ + 6-метилмеркаптопурин рибозид, БХНМ + 5-фторурацил, МеЦГНМ + ВТІС, БХНМ + оксимочевина, ЦГНМ + + блеомицин, МеЦГНМ + блеомицин, МеЦГНМ + адриамицин, БХНМ + МеЦГНМ.

Комбинации с препаратами, не обладающими противоопухолевым действием

Среди попыток стимуляции активности НАМ неспецифическими средствами следует упомянуть о результатах, полученных при сочетании БХНМ с витамином А и кофеином. Показано, что витамин А в оптимальной дозе 150 мг/кг внутривнутрибрюшинно усиливает действие БХНМ (25 мг/кг внутривнутрибрюшинно), приводит к излечению 20% мышей и увеличению примерно втрое продолжительности жизни остальных животных с асцитной лейке-

мией L1210 (лечение на 5 сут). Применение только БХНМ в этой дозе излечивает 5% мышей и увеличивает продолжительность жизни остальных в два раза по сравнению с контролем [50].

Добавление в этой комбинации кофеина, оптимальным условием применения которого является однократное подкожное введение 6,0 мг через 30 мин после БХНМ, приводит к излечению 56% мышей и увеличению сроков жизни остальных животных более чем в 4 раза.

Механизм этого явления может быть связан с ингибированием восстановления повреждений ДНК или с ингибированием восстановления клеточных мембран путем вмешательства в энергетический метаболизм клетки [51].

Сочетание кофеина с БХНМ в отсутствие витамина А не усиливает действия БХНМ [51].

Положительный эффект наблюдался при добавлении хлорпромазина к комбинации БХНМ + кофеин с введением его в дозе 10 мг/кг внутрибрюшинно за 6 ч до БХНМ [30, 52] или оксимочевины в дозе 167 мг/кг внутрибрюшинно за 4 ч до БХНМ [53]. В этих экспериментах оксимочевина, подобно витамину А и хлорпромазину, рассматривается как ингибитор свободнорадикальных процессов.

Имеются сведения о том, что введение поверхностноактивного вещества — твина 80 внутрибрюшинно в дозе 2000 мг/кг за 2 сут до или в тот же день, что и БХНМ, значительно увеличивает антилейкемическую активность препарата. Предполагается, что в основе этого явления лежат иммунологические механизмы [54].

Мембрано-активное полиеновое соединение амфотерицин В, способствующее лучшему проникновению лекарства в клетки, также значительно усиливает действие БХНМ. Излечение 75% мышей линии АКР с перевиваемой лимфомой отмечено при последовательном, с интервалом в 24 ч, однократном введении амфотерицина В (0,5 мг/кг внутрибрюшинно) и БХНМ (0,4 мг внутрибрюшинно), лишь незначительно увеличивающих сроки жизни животных при отдельном применении в этих дозах [48].

Применение никотинамида для снятия диабетогенного действия стрептозоточина обычно сопровождается увеличением продолжительности жизни мышей с лейкемией L1210 на 20—40% по сравнению со сроками жизни мышей, получавших только антибиотик. Это открывает путь для снятия нежелательных токсических свойств противоопухолевых препаратов без угнетения их специфической активности при сочетании с соответствующими детоксикантами [55].

Иммунодепрессивное действие большинства противоопухолевых препаратов ограничивает возможности их использования в онкологической практике.

Предложено много способов повышения активности иммунокомпетентных систем организма неспецифическими иммуностимуляторами. Некоторые из них находят применение в качестве самостоятельного вида лечения и в комплексной терапии больных со злокачественными новообразованиями.

Примером успешного сочетания иммуно- и химиотерапии может служить излечение более чем 30% мышей с лейкемией L1210 после иммунизации животных, леченных БХНМ, лейкоцитарными клетками, обработанными нейраминидазой холерного вибриона [56].

Противоопухолевый эффект ЦГНМ может быть усилен преимунизацией мышей за 21 и 8 дней до перевивки глиомы 26 подкожным введением опухолевых клеток, обработанных нейраминидазой или митомицином С с полным адьювантом Фрейнда. Введение таким мышам ЦГНМ в дозе 30 мг/кг на 3 и 12 день после перевивки опухоли приводит к излечению всех животных [57].

Сочетание НАМ

с оперативным удалением первичной опухоли

Послеоперационная химиотерапия некоторыми индивидуальными препаратами или их комбинациями улучшает результаты хирургического лечения больных с далеко зашедшими опухолями желудочно-кишечного тракта, раком молочной железы, остеогенной саркомой и некоторыми другими злокачественными новообразованиями [58]. В связи с этим важными с практической точки зрения представляются данные о высокой активности НАМ в качестве дополнительных к оперативному лечению терапевтических агентов при воздействии на метастазирующие солидные опухоли животных, резистентные к большинству цитостатиков.

Рак молочной железы (мыши линии В6С3F₁). Перевиваемая опухоль молочных желез (линия 44), ведущаяся от спонтанной аденокарциномы мышей линии С3Н, обладает выраженной способностью к метастазированию. Удаление первичной опухоли весом 1,3 г и более не приводит к излечению животных. Если операция сделана раньше, когда вес опухоли не превышает 0,3 (11 сут после перевивки) или 0,6 г (14 сут развития опухоли), то число излеченных животных составляет 27 и 5% соответственно.

Применение комбинации БХНМ (12 мг/кг) и циклофосфана (80 мг/кг) однократно, внутрибрюшинно, через 4 сут после оперативного удаления первичной опухоли, т. е. на 15 или 18 сут после перевивки, излечивает либо всех животных, либо поло-

вину из них в зависимости от стадии развития процесса к моменту операции.

Использование одной химиотерапии не приводит к излечению животных, а в лучшем случае вдвое удлинит сроки их жизни по сравнению с контролем [58].

Меналома В-16 (мыши линии ВДФ₁). Выживаемость мышей, оперированных на 12 сут развития подкожной опухоли, когда вес ее достигает около 1 г, составляет 20%.

Таблица 103

Эффективность комбинированной химиотерапии и оперативного лечения метастазирующей опухоли легких Льюис [15, 31] (Излеченные мыши, %)

Вес первичной опухоли к началу лечения, г	Только удаление опухоли	Только химиотерапия			Удаление опухоли + химиотерапия		
		МеЦГНМ	циклофосфан	МеЦГНМ + циклофосфан	МеЦГНМ	циклофосфан	МеЦГНМ + циклофосфан
0,4	0	34	0	68	40	—	—
1,0	0	0	0	24	30	35	70
2,0	0	0	0	0	18	15	65
3,0	0	0	0	0	0	0	—

Введение на следующий день после операции МеЦГНМ в дозе 36 мг/кг внутрибрюшинно позволяет увеличить число излеченных животных до 70%. Применение только МеЦГНМ не излечивает животных, но несколько увеличивает продолжительность их жизни [58, 65].

Опухоль легких Льюис (мыши линии ВДФ₁). Перспективные результаты дает сопоставление эффективности МеЦГНМ и комбинации МеЦГНМ с циклофосфаном при их воздействии на животных с удаленной первичной опухолью (табл. 103).

Применение МеЦГНМ на 1 сут или на 1 и 7 сут после хирургического удаления опухоли весом в 0,4 г приводит к излечению 40% мышей, что лишь немного превышает эффект, полученный в этих опытах от химиотерапии МеЦГНМ, излечивающей 34% мышей.

По мере развития процесса активность препарата уменьшается. Введение его животным с опухолью весом более 1 г уже не способствует их излечению, хотя и увеличивает продолжительность жизни.

Применение МеЦГНМ (24 мг/кг) на следующие или на 1 и 7 сут после удаления первичной опухоли весом в 1 или 2 г излечивает соответственно до 30 и 18% мышей.

В этих условиях далеко зашедшего метастатического процесса комбинация МеЦГНМ и циклофосфана излечивает 70 и 65% животных (см. табл. 103), проявляя тем самым свою высокую эффективность [15, 31].

Карцинома толстого кишечника 26 (мыши линии BALB/c). Оперативное удаление первичной опухоли весом 0,8 г на 15 день ее развития обеспечивает довольно низкий уровень излечения животных — не более 5% [58, 65].

Комбинация МеЦГНМ (18 мг/кг внутривенно) и 5-фторурацила (36 мг/кг внутривенно), введенная однократно на 15-е сут после перевивки опухоли, оказывается малоэффективной.

Однако применение этого сочетания через 5 сут после операции (на 20 сут после перевивки) позволяет излечить 40% животных и увеличить сроки жизни остальных на 200% по сравнению с контролем [58, 65].

Таким образом, видна перспективность использования НАМ (БХНМ и МеЦГНМ) или их комбинаций с другими препаратами (циклофосфан, 5-фторурацил) в качестве лекарственных средств, эффективно дополняющих оперативное лечение животных с солидными опухолями. Активность такого рода комплексной терапии зависит от степени диссеминации процесса.

НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИНЫ В ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

В клинических исследованиях проверено много разных сочетаний препаратов, включающих НАМ. Лишь некоторые из них были первоначально изучены в эксперименте. Большая часть комбинаций предлагалась исходя из клинического опыта. В результате этого изученные комбинации значительно различаются как по входящим в них препаратам, так и по их дозам и схемам применения.

Такое разнообразие является определенным препятствием для обобщенного анализа данных разных клиник. Кроме того, многие исследования еще не закончены. В связи с этим в настоящем разделе рассматриваются лишь основные схемы полихимиотерапии, включающие НАМ.

Лимфогранулематоз. Наиболее эффективной комбинацией препаратов при этом заболевании в настоящее время считается сочетание эмбихина (мустарген), винкристина (онковин), натулана (прокарбазин) и преднизолона — схема МОПП. Объективные ремиссии при применении этой комбинации достигаются у 50—80% ранее нелеченных больных лимфогранулематозом III—IV стадий, причем во многих случаях длительность ремиссии превышает 5 лет.

Однако в ряде случаев опухоли оказываются резистентными к этому сочетанию как при первоначальном лечении, так и при прогрессировании процесса. Поэтому разработка новых эффек-

тивных схем комбинированной терапии лимфогранулематоза не перестала быть актуальной. Результаты применения схемы МОПП при сравнении принимаются за эталон.

Изучение возможности включения НАМ в современные сложные схемы полихимиотерапии лимфогранулематоза идет по трем направлениям. Во-первых, НАМ, в частности, БХНМ, пытались использовать для поддержания ремиссии, достигнутой лечением по схеме МОПП. Эти попытки оказались безуспешными, длительность ремиссии не увеличилась по сравнению со случаями, где поддерживающее лечение не проводилось [67]. Во-вторых, НАМ используют для замены эмбихина в стандартной или модифицированной схеме МОПП. Третьим направлением является сочетание НАМ с различными другими препаратами.

НММ применялась в комбинированной химиотерапии лимфогранулематоза в сочетании с винбластином, натуланом и преднизолоном (схема НВНП) [68]. Программа лечения предусматривает проведение шести циклов полихимиотерапии — первый цикл продолжается 3 нед, остальные по 2 нед; интервалы между циклами (при нормальных показателях гемомоза) составляют 2 нед. Каждую неделю применяют все четыре препарата по следующей схеме: в 1-й и 5-й день вводится НММ по 300 мг, во 2-й, 4-й и 6-й дни принимается натулан по 200 мг в день, в 3-й день вводят 10 мг винбластина; ежедневно в течение всего цикла больные получают преднизолон по 20 мг в день.

Лечение по этой схеме проведено 43 больным, из них 6 циклов получили 9 больных, 5 циклов — 6 больных, в остальных случаях лечение оканчивалось досрочно из-за отказа больных от дальнейшей терапии в связи с достижением полной ремиссии и хорошего самочувствия (18 человек); у 9 больных программа не закончена из-за недостаточного эффекта и необходимости применения другого вида лечения.

Объективное улучшение, оцененное цифрами 3 и 2, получено у 40 больных (93%).

Ниже представлены результаты лечения в зависимости от стадии заболевания, причем включены лишь случаи регрессии опухоли, оцениваемые цифрой 3.

Стадия	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом*
IIA	1	1 (1)
IIB	4	3 (2)
IIIA	1	1 (1)
IIIB	20	13 (10)
IVА	1	1 (1)
IVB	16	14 (10)
Всего	43	33 (25)

* В скобках число больных с полной ремиссией.

Как видно, лечение по этой схеме привело к выраженному объективному улучшению в 76,8% случаев, в том числе у 58,1% больных наступили полные ремиссии продолжительностью в среднем более 14 мес.

Лучшие результаты наблюдались у ранее нелеченных больных — полные ремиссии получены у 16 из 23 человек (70%), и у 15 из них к моменту опубликования результатов ремиссия еще сохранялась 4—16 мес (в среднем 15 мес). Среди больных, получавших ранее облучение и/или химиотерапию, полные ремиссии, продолжительностью 3—23 мес (в среднем 13 мес), наблюдались у 9 из 20 человек (45%).

Такие высокие результаты получены у больных с далеко зашедшими стадиями лимфогранулематоза — из 36 больных в IIIБ—IVБ стадии полная ремиссия отмечена у 20 (61%).

Лечение по схеме НВНП приводит к регрессии как пораженных периферических и висцеральных лимфатических узлов, так и специфического поражения легких, печени, кожи, костей и быстрой ликвидации общих симптомов заболевания.

Эффективность этой схемы иллюстрирует случай успешного лечения лимфогранулематоза IVБ стадии с поражением всех групп периферических лимфатических узлов и легких (рис. 59, а). После пяти курсов лечения по схеме НВНП получена полная ремиссия, продолжающаяся более 3 лет (рис. 59, б).

Токсичность схемы НВНП небольшая и не превышает токсичности входящих в нее препаратов при их отдельном применении.

При применении разных сочетаний БХНМ с викристином, винбластином, натуланом, циклофосфаном (без преднизолона) объективное улучшение наблюдалось в 70% случаев, в том числе у 35% больных наступила полная ремиссия. У ранее нелеченных больных частота полных ремиссий составляла 72%, среди больных, получавших в прошлом облучение и химиотерапию, — 37% [69].

Особенно эффективной и малотоксичной оказалась схема, которая состоит из одновременного введения БХНМ (100 мг/м^2), винбластина (5 мг/м^2), циклофосфана (600 мг/м^2) один раз каждые 4 нед и приема натулана по 100 мг/м^2 в день в течение 10 дней каждого 4-недельного цикла; курс лечения включает 3 цикла [69].

Эта же комбинация эффективна при лимфосаркоме — из 18 больных полная ремиссия получена у 3, частичная — у 6.

При гистиоцитарной и смешанно-клеточной злокачественных лимфомах объективное улучшение получено в 75% случаев при применении комбинации, включающей БХНМ (по 100 мг/м^2), циклофосфан (по 600 мг/м^2), винкрестин (по 1 мг/м^2) и преднизолон (по 40 мг/м^2 в день). БХНМ и циклофосфан вводили в 1-й день 28-дневного цикла, винкрестин — в 1-й и 14-й, преднизолон — с 1-го по 7-й день. Курс лечения состоял из шести таких

циклов. У 50% больных достигнутое улучшение имело характер полных ремиссий, которые продолжались от 2 нед до 2,5 года (в среднем 8 мес) [70].

Высокой эффективностью обладает также модифицированная схема МОПП, в которой эмбихин заменен на БХНМ, причем важной с практической точки зрения следует считать активность этой комбинации в случаях, резистентных к лечению по схеме МОПП [71].

Сочетание ЦГНМ с блеомицином при лимфогранулематозе не привело к существенному повышению эффективности лечения по сравнению с применением этих препаратов по отдельности. Из 22 больных объективное улучшение отмечено у 11, но полные ремиссии достигнуты только у двух больных. Следует, однако, отметить, что все эти больные ранее получали терапию по схеме МОПП и стали к ней резистентными [72]. Вероятно, более перспективно изучить эффективность сочетания с блеомицином НММ, учитывая ее большую активность при лимфогранулематозе по сравнению с ЦГНМ.

Рак легкого. При лечении больных раком легкого НАМ наиболее часто сочетаются с циклофосфаном, что обосновано не только активностью препаратов при этих опухолях, но и экспериментальными данными о синергическом эффекте такой комбинации.

Эффективность сочетания НММ с циклофосфаном изучена у 85 больных раком легкого III—IV стадии [73]. Схема лечения заключалась во введении НММ по 400 мг 2 раза в неделю и циклофосфана по 400 мг 3 раза в неделю или по 1 г однократно каждую неделю. Суммарно на курс лечения больные получали в среднем 2,7 г НММ и 3,9 г циклофосфана. Результаты применения этой комбинации представлены в табл. 104. Отчетливый объективный эффект отмечен у 29 больных (34,1%), лучшие результаты наблюдались при мелкоклеточном раке, объективное улучшение в этих случаях достигнуто у 55,5% больных, ремиссии продолжались 1—6 мес, в среднем 2,4 мес.

Таблица 104

Эффективность комбинации НММ с циклофосфаном при раке легкого [73]

Гистологический тип опухоли	Число больных	Оценка объективного эффекта			
		3	2	1	0
Плоскоклеточный рак	32	4	7	4	17
Мелкоклеточный рак	27	7	8	4	8
Аденокарцинома	3	—	—	1	2
Крупноклеточный рак	3	2	—	—	2
Рак неуточненной структуры	20	—	2	5	13
Всего	85	12	17	14	42

Наиболее важным результатом этого исследования следует считать установление эффективности комбинации НММ с циклофосфаном в 34,4% случаев плоскоклеточного рака легкого, при котором отдельное применение НММ и циклофосфана обычно неэффективно.

При мелкоклеточном раке легкого сочетание НММ с циклофосфаном не улучшило результаты лечения по сравнению с применением только НММ.

Следует отметить умеренную токсичность изученной схемы, не превышающую токсичность НММ и циклофосфана при отдельном применении. Результаты применения комбинации циклофосфана с хлорэтильными производными нитрозомочевины представлены ниже [74—76]:

Вид лечения	Число больных	Леченные с объективным эффектом
БХНМ (100 мг/м ²) + циклофосфан (1000 мг/м ²) каждые 3 нед	62	20 (32%)
ЦГНМ (70 мг/м ²) каждые 6 нед + циклофосфан (700 мг/м) каждые 3 нед	201*	84 (42%)
МеЦГНМ (100—250 мг/м ²) + циклофосфан 800—1000 мг/м ² каждые 6 нед	19	3 (16%)

* Больные мелкоклеточным раком легкого.

Как видно из приведенных выше данных, при раке легкого комбинация БХНМ и ЦГНМ с циклофосфаном несколько увеличила эффективность лечения. Однако это достигнуто только в случаях мелкоклеточного рака. Плоскоклеточный рак легкого к изученным сочетаниям практически нечувствителен. Комбинация МеЦГНМ с циклофосфаном при раке легкого малоэффективна. Добавление к этому сочетанию винкристина привело к объективному улучшению в 54% случаев мелкоклеточного рака легкого, причем лечение было эффективным в основном у ранее не леченных больных [77]. Попытка улучшить результаты лечения рака легкого сочетанием БХНМ с винкристином оказалась безуспешной — частичная регрессия опухоли получена только у 2 из 17 больных недифференцированным раком, у 1 из 12 больных аденокарциномой; при плоскоклеточном раке эффекта не было ни у одного из 6 больных [78]. Добавление к этому сочетанию метотрексата и 5-фторурацила также не привело к существенному изменению результатов [79].

Усиления противоопухолевой активности пытаются достигнуть путем добавления к сочетанию НАМ + циклофосфан + винкристин противоопухолевых антибиотиков и антиметаболитов [80—84]. Наиболее изучены три подобные комбинации, названные СОМВ (ЦОМВ) [80], ВАСОН (БАЦОМ) [81] и МСОМВ (МЦОМВ) [82] (по начальным буквам названий входящих в них



a



Рис. 24. Рентгенограммы костей таза. Диагноз: лимфогранулематоз IV Б стадии
a — деструкция крыла левой подвздошной кости (до лечения);
б — после лечения НММ — полная репарация поражения кости

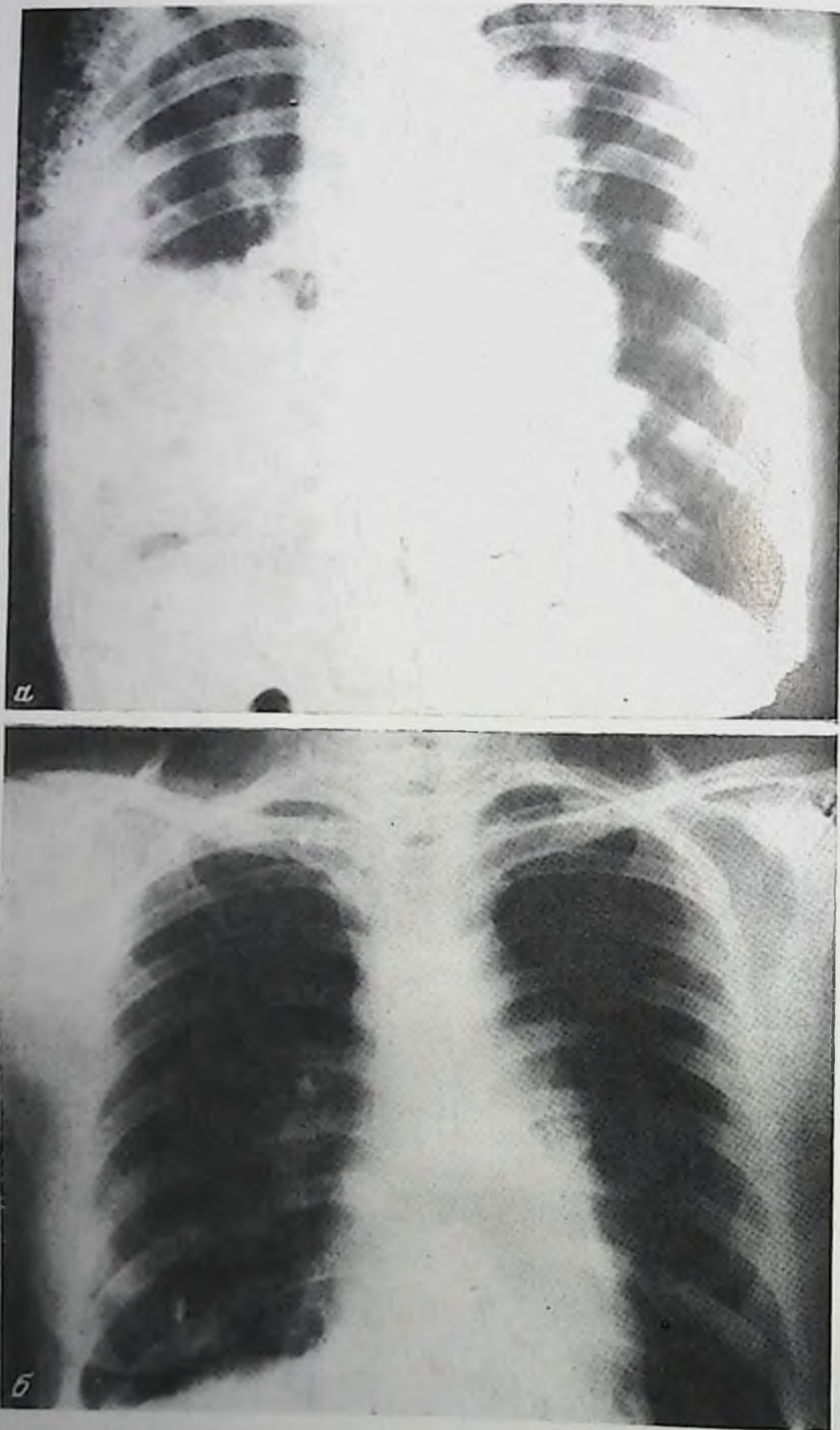


Рис. 25. Рентгенограммы грудной клетки. Диагноз: лимфогранулематоз IV Б стадии

а — патологические тени на протяжении обоих легочных полей, увеличенные лимфатические узлы в корнях легких и в средостении (до лечения);
б — после лечения ИММ — исчезновение поражения легких и увеличенных лимфатических узлов

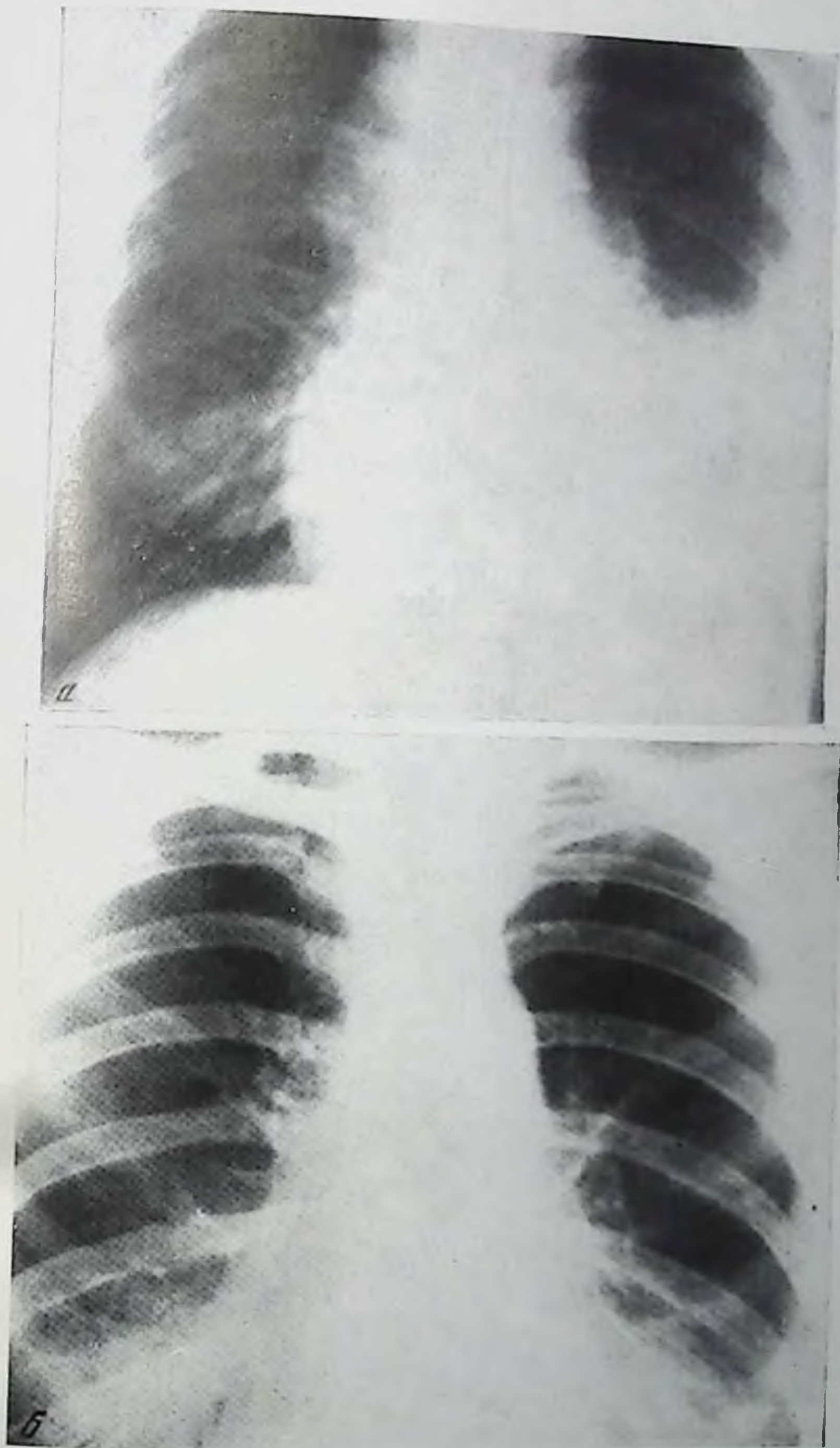


Рис. 26. Рентгенограммы грудной клетки. Диагноз: мелкоклеточный рак легкого IV стадии

а — расширение тени средостения за счет парамедиастинальных узлов, левосторонний гидроторакс (до лечения); *б* — после лечения НММ — исчезновение опухолевых узлов в средостении и жидкости в плевральной полости

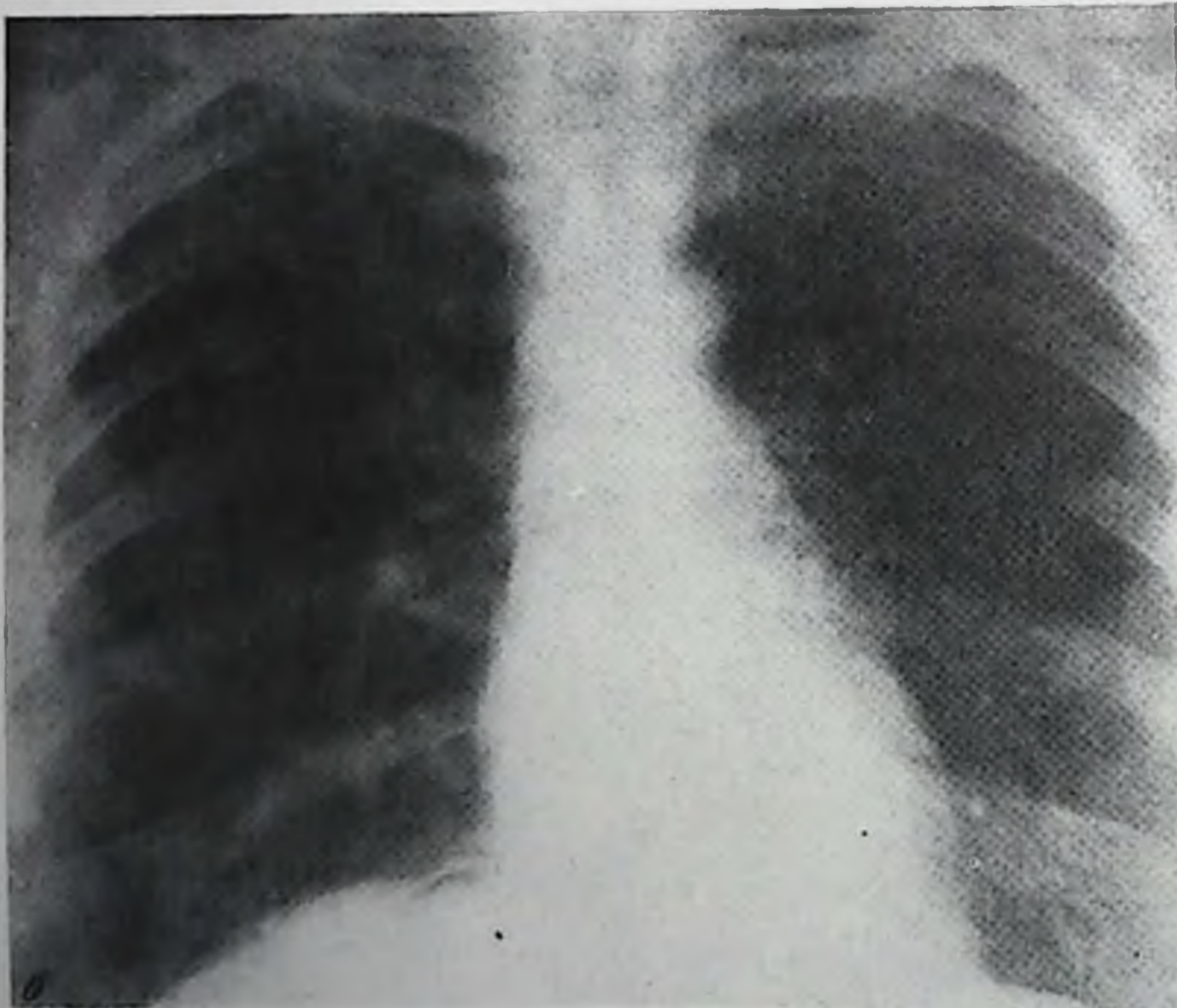


Рис. 59. Рентгенограммы грудной клетки. Диагноз: лимфогранулематоз IV Б стадии

а — поражение легких, лимфатических узлов средостения (до лечения);
б — после комбинированного лечения — исчезновение поражения легких и лимфатических узлов

препаратов) ¹. Из результатов этих исследований, приведенных в табл. 105, обращает на себя внимание довольно высокая эффективность схемы ВАСОН при плоскоклеточном раке легкого, причем непосредственное улучшение сопровождалось и существенным продлением жизни по сравнению с больными, леченными без эффекта, а также получавшими лечение по схеме СОМВ [81]. Следует отметить высокую токсичность этих комбинаций, которая проявляется выраженным угнетением гемопоэза, желудочно-

Таблица 105

Эффективность при раке легкого сочетания 4—5 препаратов с включением НАМ [80—82]

Гистологический тип опухоли	ЦОМБ		БАЦОМ		МЦОМБ	
	Число больных	лечение с эффектом	Число больных	лечение с эффектом	число больных	лечение с эффектом
Плоскоклеточный рак	33	11(33%)	50	21(42%)	14	2(14%)
Мелкоклеточный рак	15	13(87%)	—	—	11	2(18%)
Адренокарцинома	28	3(11%)	—	—	11	0
Всего	76	27(36%)	50	21(42%)	36	4(11%)

кишечными расстройствами, поражением легких. В ряде случаев эти побочные явления оказались необратимыми и привели к смерти больных [80—82].

При раке легкого изучено также несколько схем сочетания БХНМ с цитозин-арабинозидом. Однако они оказались токсичными и малоэффективными; кратковременные ремиссии наблюдались лишь у единичных больных [85, 86].

Сочетание ЦГНМ с циклофосфаном и метотрексатом при аденокарциноме легкого приводит к более частому непосредственному улучшению и к более значительному продлению жизни по сравнению с применением двух препаратов без ЦГНМ [83]. Существенные результаты получены при применении ЦГНМ с винкристином. Регрессия опухоли наблюдалась у 9 из 16 больных, из них у двух опухоль исчезла полностью, а у семи размеры уменьшились более чем на 50% [87]. Учитывая, что у 15 больных был плоскоклеточный рак, следует признать эту схему весьма эффективной, хотя и токсичной — тошнота, рвота, угнетение гемопоэза развились у всех больных.

Злокачественная меланома. Одной из наиболее часто изучавшихся при меланобластомах комбинаций, содержащих НАМ, яв-

¹ ЦОМБ — циклофосфан + винкристин (онковин) + MeЦГНМ + блеомицин;
 БАЦОМ — блеомицин + адриамицин + ЦГНМ + винкристин + мустарген (эм-
 бихин);
 МЦОМБ — MeЦГНМ + циклофосфан + винкристин + метотрексат + блеомицин.

ляется сочетание БХНМ с винкристином [88]. Результаты применения этой комбинации при диссеминированной меланоме, полученные в разных исследованиях, представлены ниже:

Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Источник
20	9 (45%)	[89]
55	6 (11%)	[90]
7	0 (0%)	[91]
16	2 (13%)	[92]
51	8 (16%)	[93]
Всего 149	25 (16,8%)	

Как видно, сочетание БХНМ с винкристином приводит к объективному улучшению в среднем в 16,8% случаев и, по-видимому, достоверно не превосходит результаты, полученные при применении только БХНМ [67].

Наилучшие результаты получены при применении БХНМ по 150 мг/м² и винкристина по 2 мг/м² каждые 4 нед; регрессия опухоли при такой схеме отмечена у 9 больных из 20, получивших два цикла лечения и более, из них у трех опухоль исчезла полностью. Регрессия опухоли начиналась через 20—190 дней после первой инъекции препаратов, ремиссии длились 45—626 дней. Эффективность комбинации обнаружена только при поражении мягких тканей и метастазах в легкие; при метастазах в кости, печень лечение было неэффективным [89].

Результаты, полученные другими авторами, более умеренные.

Для оценки практической ценности этой комбинации проведено рандомизированное исследование эффективности сочетания БХНМ с винкристином по сравнению с ДТЭС [93].

Таблица 106

Результаты применения ДТЭС и сочетания БХНМ с винкристином при диссеминированной меланоме [93]

Лечение	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом		Объективный эффект, %	Средняя, длительность ремиссии, дни	Средняя продолжительность жизни, мес	
		полная регрессия	частичная регрессия			лечение с эффектом	лечение без эффекта
БХНМ (150 мг/м ²) + винкристин (2 мг/м ²) каждый месяц	51	2	6	16	60	6,5	3,3
ДТЭС (300 мг/м ² в течение 6 дней) каждый месяц	25	2	4	24	90	8,5	3,5
ДТЭС (по 100 мг/м ² каждые 8 ч в течение 6 дней) каждый месяц	21	1	5	29	100	8,5	3,5

Полученные результаты представлены в табл. 106, из которой видно, что сочетание БХНМ + винкристин по эффективности уступает ДТІС. Применение этой комбинации после предшествующего лечения ДТІС было неэффективным во всех случаях, так же как и применение ДТІС у больных, до этого получавших комбинированное лечение. Возможно, при меланоме имеется перекрестная резистентность к этим препаратам, что хорошо коррелирует с экспериментальными данными.

Перспективным представлялось изучение эффективности сочетания трех препаратов — БХНМ, ДТІС и винкристина. При применении этой комбинации у 52 больных объективное улучшение длительностью в среднем 5,1 месяца получено в 20% случаев, при этом выживаемость больных, леченных с эффектом, вдвое превосходила длительность жизни больных, у которых лечение было безуспешным [97, 98].

При метастазах в мозг обе схемы лечения оказались неэффективными. Более того, первым проявлением прогрессирования процесса у 8 больных (из них 4 получали БХНМ с винкристином) было метастазирование в мозг.

Раздельное применение как БХНМ, так и ДТІС у больных меланомами может привести к объективному улучшению, и поэтому перспективными представлялось их совместное применение [94].

Изученные схемы лечения и полученные результаты представлены в табл. 107. Эффективность сравниваемых схем была примерно одинаковой, хотя у больных, леченных комбинацией препаратов, ремиссия длилась несколько дольше, однако токсические реакции у них были выражены сильнее.

Близкие результаты получены при применении сочетания ЦГНМ и МеЦГНМ с ДТІС. Регрессия опухоли наблюдалась у 24 (28%) больных, что незначительно превышает эффективность ДТІС [95, 96].

Лечение ДТІС было неэффективным у 6 больных со специфическими поражениями ЦНС, тогда как из 10 аналогичных больных, получавших комбинацию ДТІС + БХНМ, у 3 наступило объективное улучшение. Однако это лечение не предотвратило у некоторых больных метастазирования в мозг в дальнейшем [94].

Однако при совместном применении этих трех препаратов их эффективность также не превосходила эффективность одного ДТІС [93]. Сравнительный анализ эффективности различных схем полихимиотерапии диссеминированных меланобластом показывает, что, хотя среди хорошо изученных комбинаций наибольшей активностью обладает сочетание БХНМ с ДТІС и винкристином, превосходство этого сочетания перед ДТІС незначительно. Двойные комбинации — БХНМ с винкристином и БХНМ с ДТІС — менее эффективны [99].

В ряде работ [99—101] при применении тройной комбинации получены более высокие результаты: ремиссии длительностью

Таблица 107

Эффективность ДТЭС и сочетания БХНМ с ДТЭС при диссеминированной меланоме [94]

Лечение	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом		Объективный эффект, %	Длительность ремиссий, дни		Продолжительность жизни, мес*	
		полная регрессия	частичная регрессия		полных	частичных	при полных ремиссиях	при частичных ремиссиях
БХНМ (по 75 мг/м ² два дня), ДТЭС (100 мг/м ² 5 дней) каждый месяц	61	4	8	19,7	42—540 (224)	33—150 (141)	5—19 (8,0)	4—11 (6,9)
ДТЭС (по 150 мг/м ² 5 дней) каждый месяц	51	3	6	17,6	100—330 (181)	38—148 (96)	7—12 (9,4)	2—10 (5,3)

* В скобках приведены средние значения.

9—14 мес наблюдались у 35—62% больных. Возможно, что это связано с увеличением дозы БХНМ до 100 мг/м², а дозы ДТЭС — до 400 мг/м² и некоторым изменением схемы лечения, хотя число леченых больных еще недостаточно для окончательных выводов.

Хорошие результаты получены при сочетании НММ с винкристином и актиномицином Д [102, 103]. Лечение состоит из повторных 2—3-недельных циклов, во время которых вводят НММ по 300—500 мг два раза в неделю, винкрестин — по 1—2 мг один раз в неделю и актиномицин Д — по 500 мкг три раза в неделю.

Как видно из табл. 108, где приведены результаты этого исследования, выраженная регрессия опухоли (на 50% и более) наступила у 31 больного (42%), из них у 9 (12,2%) опухоль регрессировала полностью. В ряде случаев наблюдался отсроченный эффект, уменьшение опухоли наступало на 15—21-й день после окончания лечения. Полученные ремиссии длились 2—20 мес.

Высокая эффективность такой комбинации позволяет предположить наличие синергического эффекта, так как входящие в нее препараты практически неэффективны или малоэффективны. Эти результаты показывают также, что условие, согласно которому все препараты, входящие в ту или иную схему комбинированного лечения определенной опухоли, должны обладать активностью по отношению к данной опухоли при раздельном применении, не является обязательным для создания эффективной комбинации по крайней мере при меланоме.

При изучении эффективности комбинаций, в которые, кроме БХНМ и ДТЭС, входили оксимочевина и винкрестин, объектив-

Таблица 108

Результаты применения сочетания НММ с актиномицином Д и винкристином при диссеминированной меланоме [103]

Локализация метастазов	Число больных	Полная регрессия	Уменьшение числа или размеров метастазов		Без эффекта
			на 50% и более	на 25% и более	
Мягкие ткани: кожа, подкожная клетчатка, лимфатические узлы и др.	43	5	15	5	18
Легкие, часто в сочетании с метастазами в мягкие ткани	28	4	7	2	15
Кости, в сочетании с метастазами в мягкие ткани	3	—	—	—	3
Всего	74	9	22	7	35

ный эффект достигнут у 24—30% больных. Хотя токсические проявления этих схем были обычными, их выраженность весьма значительна, и 5 больных умерли от осложнений, связанных с угнетением гемопоэза [104].

Среди изученных и оказавшихся малоэффективными при меланоме комбинаций можно отметить сочетание МеЦГНМ с циклофосфаном [105], ЦГНМ с адриамицином [106], БХНМ с циклофосфаном, винбластином, натуланом [69], комбинацию ЦОМБ [80]. Применение этих комбинаций сопровождалось положительными результатами лишь в единичных случаях. Возможно, что это связано, по крайней мере частично, с применением препаратов в слишком низких дозах.

Опухоли мозга. Возможности разработки эффективных схем полихимиотерапии опухолей мозга ограничены тем, что для такого лечения в принципе подходят только такие агенты, которые обладают способностью проникать через ГЭБ. Число подобных противоопухолевых препаратов пока ограничено. Однако нельзя исключить, что наличие опухоли приводит к таким изменениям в организме, которые позволят проходить через ГЭБ химическим соединениям, не обладающим подобным свойством при введении в здоровый организм. Кроме того, некоторые препараты способны проникать из крови в спинномозговую жидкость, откуда они могут накапливаться в опухолевых клетках, не попадая в нормальные ткани мозга [107]. К таким соединениям относятся, в частности, прокарбазин (натулан) и винкристин. Эти представления явились основой для сочетания перечисленных препаратов с НАМ при лечении больных опухолями мозга [107].

Из 48 больных первичными и метастатическими опухолями головного мозга, леченных сочетанием ЦГНМ с винкристином и натуланом, объективное улучшение, заключающееся в регрессии опухоли и улучшении неврологической симптоматики, достигнуто в 44% случаев (при злокачественных глиомах — в 60%). Ремиссии длились от 1 до 18 мес, в среднем 7 мес, в том числе 9 мес у больных глиомами. Эти данные можно расценить как показатель высокой эффективности предложенной комбинации. Особенно успешным оказалось лечение больных с рецидивами медуллобластом — из 15 больных объективное улучшение наблюдалось у 11 (70%) [108].

Сочетание ЦГНМ с винкристином и циклофосфаном при злокачественных глиомах несколько менее эффективно — объективное улучшение длительностью в среднем 3 мес наблюдалось у 3 из 8 больных (38%) [109].

Двойные комбинации БХНМ + натулан и БХНМ + винкристин обладают примерно такой же эффективностью: положительные результаты получены в 47% случаев, улучшение продолжалось в среднем 7—4 мес [109].

Выражением другого подхода к полихимиотерапии опухолей мозга явилось предложение сочетать ЦГНМ с интратекальным введением метотраксата и с внутривенным введением винкристина. Положительные результаты получены у 6 из 15 больных первичными опухолями мозга и у 4 из 8 больных с метастазами рака молочной железы. В последней группе больные, леченные с эффектом, жили в среднем 34 нед после лечения, леченные без эффекта — 6 нед. При метастатическом поражении мозга у больных раком легких лечение было неэффективным [110].

При глиобластомах изучали также комбинацию ЦГНМ с адриамицином и производным подофиллина — препаратом VP-26. Схема оказалась достаточно эффективной при небольшой токсичности; регрессия опухоли наступила у 12 из 18 больных [111].

Близкие результаты получены при исключении из этой схемы адриамицина — лечение сочетанием ЦГНМ + VP-26 привело к объективному улучшению у 10 из 17 больных с рецидивом различных первичных опухолей мозга [112].

Сочетание ЦГНМ с ДТЭС при рецидивах астроцитом менее эффективно, чем лечение одним ДТЭС. Применение комбинации MeЦГНМ + ДТЭС в дополнение к оперативному лечению астроцитом сопровождалось увеличением продолжительности жизни по сравнению с больными, не получавшими дополнительного лечения [113].

Рак желудочно-кишечного тракта. Наиболее часто для полихимиотерапии этих опухолей НАМ сочетались с 5-фторурацилом, что обусловлено, в первую очередь, определенной активностью при этих опухолях каждого препарата.

Данные об эффективности сочетания БХНМ с 5-фторурацилом при основных локализациях рака желудочно-кишечного тракта приведены в табл. 109. Видно, что это сочетание обладает достаточно высокой эффективностью при раке желудка и раке поджелудочной железы, и незначительной эффективностью при раке кишечника.

Таблица 109

Эффективность сочетания БХНМ с 5-фторурацилом при опухолях желудочно-кишечного тракта

Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Источник
Рак желудка		Рак толстой и прямой кишки		Рак поджелудочной железы		
34	14	—	—	30	10	[114]
34	0	11	1	5	3	[115]
6	4	20	2	3	2	[116]
5	2	14	1	—	—	[117]
—	—	—	—	20	2	[118]
49	20 (40,8%)	45	3 (6,7%)	57	27 (29,3%)	

Для сопоставления этих результатов с эффективностью 5-фторурацила проведено рандомизированное исследование, в котором сравнивали эффективность 5-фторурацила, БХНМ и сочетания этих препаратов [114, 119]. Результаты, приведенные в табл. 110, показывают, что, действительно, при раке желудка и поджелудочной железы объективный эффект несколько чаще достигается при комбинированной терапии, однако при сопоставлении с результатами применения одного 5-фторурацила различие оказалось статистически незначимым. При раке кишечника сочетание препаратов привело к значительному ухудшению результатов лечения.

Среди больных раком желудка, леченных комбинацией препаратов, 18 мес после лечения прожило достоверно больше больных, чем в группе, где применяли только 5-ФУ (25,5 и 7% соответственно).

Увеличение эффективности лечения сопровождалось существенным усилением миелотоксичности, в основном за счет угнетения тромбоцитопоза, которая кумулировалась при проведении повторных курсов [114].

Обращает внимание также различная эффективность этой комбинации при раке желудка и кишечника. Если в первом случае результаты лечения улучшились по сравнению с приме-

Таблица 110

Эффективность 5-фторурацила, БХНМ и сочетания этих препаратов при раке желудочно-кишечного тракта [114, 119]

Лечение	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	50%-ная выживаемость, мес	Рак желудка		Рак поджелудочной железы		Рак толстой и прямой кишки	
				Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом	Число больных	Число больных, леченных с объективным эффектом
5-ФУ (13,5 мг/кг в день) 5 дней	28	8 (28,6%)	7,4	31	5 (16,1%)	20	5 (25%)		
БХНМ (50 мг/м ² в день) 5 дней	23	4 (17,4%)	3,5	21	0	17	3 (18%)		
5-ФУ (10 мг/кг в день)+БХНМ (40 мг/м ² в день) 5 дней	34	14 (41,3%)	7,7	30	10 (33,3%)	20	1 (5%)		

нением каждого препарата отдельно, вероятно, за счет аддитивного эффекта, то во втором случае этого не наблюдалось.

Высокая эффективность указанного сочетания, вплоть до полной регрессии опухоли, отмечена при раке поджелудочной железы [120, 121], причем токсичность комбинации оказалась настолько незначительной, что рекомендовали проводить лечение амбулаторно. Однако в более позднем исследовании [121] вывод о значительной эффективности сочетания БХНМ с 5-фторурацилом при раке поджелудочной железы не подтвердился — из 20 больных регрессия опухоли наступила только у двух.

Экспериментальные данные показывают, что последовательное применение двух препаратов может оказаться более эффективным, чем их одновременное введение. Для проверки этих данных при раке желудочно-кишечного тракта изучена эффективность последовательного применения ЦГНМ и 5-фторурацила у 36 больных [122]. Схема лечения заключалась в однократном приеме ЦГНМ в дозе 130 мг/м² и проведении через 6 нед 5-дневного курса лечения 5-ФУ по 13 мг/кг в день. Объективный эффект, оцениваемый на 10-й неделе после начала лечения, наблюдали у 8,3% больных, что значительно ниже обычной эффективности одного 5-фторурацила.

Вероятно, ЦГНМ не подходит для таких комбинаций, так как интервалы между введениями препаратов из-за отсроченного угнетения гемопоэза от ЦГНМ слишком велики. За это время может восстановиться пролиферативная активность опухолевых клеток, и фактически совместного воздействия препаратов не происходит. Кроме того, за это время ухудшается и

Таблица 111

Результаты применения сочетания МеЦГНМ с 5-фторурацилом при раке
желудочно-кишечного тракта [123]

Опухоль	МеЦГНМ (175 мг/м ² каждые 6 недель)+5-фторурацил (400 мг/м ² в неделю)			5-фторурацил (400 мг/м ² в неделю)		
	число боль- ных	леченных с объек- тивным эф- фектом	средняя длитель- ность ре- миссии, мес	число боль- ных	леченных с объектив- ным эффек- том	средняя длитель- ность ре- миссии, мес
Рак желудка	29	6 (21%)	6	9	2 (22%)	5,5
Рак толстой и прямой кишки	152	48 (32%)	5	42	4 (10%)	2,5
Рак поджелудочной же- лезы	15	3 (20%)	1,5	6	1 (17%)	7
Другие опухоли (гепато- ма, рак желчных путей, рак тонкого кишечника)	17	5		9	0	—
Всего	213	62 (29%)		66	7 (11%)	

состояние больных, что ведет к снижению эффективности 5-фторурацила, так что окончательный результат применения двух препаратов оказывается хуже результатов лечения только 5-фторурацилом.

Результаты применения комбинации МеЦГНМ + 5-фторурацил при различных опухолях желудочно-кишечного тракта представлены в табл. 111 [123]. При раке толстой и прямой кишки комбинированное лечение значительно более эффективно, чем применение одного 5-фторурацила. Очевидно, в данном случае имеется аддитивный эффект, хотя обращает на себя внимание слишком низкая эффективность лечения одним 5-фторурацилом, что, возможно, обусловлено недостаточной дозой препарата. Практически важно, что эта комбинация эффективна при метастазах в печень (улучшение получено в 32% случаев), обычно малочувствительных к химиотерапии. Улучшение непосредственных результатов не привело, однако, к повышению выживаемости.

При других опухолях комбинированное лечение не превышало по эффективности применение одного 5-фторурацила.

Сочетание этих препаратов было более токсично, чем только 5-фторурацила. Лучшие результаты при раке толстой и прямой кишки получены при добавлении винкристина к сочетанию МеЦГНМ + 5-фторурацил [119]:

Схема лечения	Число больных	Леченные с объективным эффектом
МеЦГНМ + винкри- стин+5-фторурацил	39	17 (43,5%)
5-фторурацил	41	8 (19,5%)

Однако и в этом случае комбинированное лечение не привело к существенному продлению жизни больных [119].

Другие двойные комбинации, включающие НАМ, в частности, сочетание БХНМ с цитозин-арабинозидом [85, 124], МеЦГНМ с циклофосфаном [76, 125], при раке желудочно-кишечного тракта малоэффективны.

Более сложные схемы, например, комбинации БХНМ с винкристином, метотрексатом 5-фторурацилом [79], сочетание БХНМ с 5-фторурацилом, ДТТС, винкристином [126], также не улучшили результатов лечения этих больных по сравнению с 5-фторурацилом.

Среди различных схем полихимиотерапии рака желудочно-кишечного тракта до сих пор не удалось выявить сочетания препаратов, превышающего по эффективности стандартное лечение 5-фторурацилом. В этой связи комбинация БХНМ и МеЦГНМ с 5-фторурацилом при раке желудка и кишечника заслуживает дальнейшего изучения и, вероятно, практического использования [127, 128].

Рак молочной железы. Эффективность НАМ в качестве одного из компонентов полихимиотерапии больных раком молочной железы изучена мало, возможно, вследствие относительно невысокой эффективности НАМ при этих опухолях.

Апробировано несколько сочетаний НАМ с адриамицином. Одна из этих схем включала однократное введение адриамицина в дозе 40—90 мг/м² и МеЦГНМ в дозе 150—200 мг/м² на следующий день (или через день) после адриамицина [118]. Такие двухдневные циклы повторяли каждые 5—6 нед. Эта комбинация оказалась весьма токсичной, угнетение гепатоэза развилось у большинства больных, при повторении циклов оно усиливалось. Эффективность же комбинации была невелика, регрессию опухоли наблюдали у 4 из 26 больных, полная ремиссия получена только в одном случае.

Возможно, что низкая эффективность схемы, уступающая эффективности одного адриамицина, связана с недостаточной дозировкой препаратов, однако увеличить дозу, по-видимому, нельзя из-за токсических реакций.

Сочетание ЦГНМ с адриамицином менее эффективно, чем адриамицин [106].

Комбинация МеЦГНМ с циклофосфаном оказалась эффективной лишь у 3 из 12 больных [76]. Добавление винкристина и блеомицина увеличило токсичность комбинации, но не повысило ее эффективность [76]. У 12 больных было испытано сочетание БХНМ, 5-фторурацила, ДТТС и винкристина. Частичную регрессию опухоли наблюдали у 6 больных [129].

Применение комбинации, в которую входили БХНМ, циклофосфан и адриамицин, сопровождалось заметной регрессией опухоли у 7 из 14 больных, причем объективное улучшение достигнуто в 2 из 6 случаев метастазирования в кости [130].

Следует подчеркнуть, что специальных исследований эффективности полихимиотерапии с применением НАМ у больных раком молочной железы пока не проводилось.

Разные опухоли. Плоскоклеточные раки, за исключением рака кожи, резистентны, как правило, к большинству современных противоопухолевых препаратов. В последние годы установлена эффективность при этих опухолях нового противоопухолевого антибиотика — блеомицина. Усилить его активность пытались путем сочетания с ЦГНМ [131]. При применении этой комбинации (препараты вводили в полных дозах) у 33 больных плоскоклеточным раком кожи, гортани, глотки, легкого, вульвы, шейки матки, ануса, частичную регрессию опухоли длительностью 4—16 нед удалось отметить у 14 больных, т. е. полученные результаты не отличались существенно от результатов монохимиотерапии таких опухолей блеомицином.

Блеомицин эффективен также при опухолях яичка, приводя к объективным ремиссиям примерно в 30% случаев. При сочетании блеомицина с ЦГНМ эффективность повысилась до 62% (из 16 больных полная ремиссия была у одного, частичная — у 7, длительность ремиссий составляла 1—28 мес) [132].

Высокой эффективностью при множественной миеломе обладает сочетание БХНМ, циклофосфана, мелфолана, винкристина и преднизолона. Лечение такой комбинацией привело к объективному улучшению у 22 из 32 больных (70%) [133]. Эти результаты значительно превосходят эффективность мелфолана.

Отмечено два случая регрессии метастазов гипернефромы при лечении 21 больного сочетанием ЦГНМ или МеЦГНМ с винбластином [134].

При плоскоклеточном раке головы — шеи регрессия опухоли получена у 11 из 32 больных при применении комбинации ЦОМБ [80].

При ряде злокачественных опухолей различные комбинации, включающие НАМ, применены буквально у единичных больных, и поэтому оценить их эффективность пока не представляется возможным.

Клиническое изучение НАМ для целей полихимиотерапии злокачественных опухолей продолжается во многих клиниках. После окончания этих исследований можно будет определить возможную роль этих препаратов в комбинированном лекарственном лечении рака.

Анализ имеющихся к настоящему времени данных показывает, что при таких опухолях, как рак легкого, лимфогранулематоз, рак желудка и толстого кишечника, некоторые схемы полихимиотерапии с применением НАМ улучшают непосредственные и отдаленные результаты лечения. Очевидно, эти схемы могут быть уже сейчас рекомендованы для практического применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Goldin A., Mantel N.* Cancer Res., 1957, 17, 635.
2. *Venditti J. M., Goldin A.* In: Advances in chemotherapy. A. Goldin, F. Hawking (Eds). New York, Acad. Press., 1964, 1, p. 397.
3. *Skipper H. E., Schabel F. M., Wilcox W. S.* Cancer Chemotherapy Repts, 1964, 35, 1.
4. *Sartorelli A. C.* In: Progress in experimental tumor research. F. Homburger (Ed.). New York, Hafner Publ. Co, 1965, v. 6, p. 228.
5. *Schabel F. M., Jr.* Cancer Res., 1969, 29, 2384.
6. *Goldin A.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 189.
7. *Venditti J. M., Goldin A.* Biochem. Pharmacol., 1974, 2, 141.
8. *Goldin A., Johnson R. K.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 1, 74.
9. *Frei E.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 1, 75.
10. *Carter S. K.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 2, 4, 3.
11. *Brockman R. W.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 2, 4, 115.
12. *Bono V. H., Jr.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 2, 4, 131.
13. *Lloyd H. H.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 2, 4, 157.
14. *Mantel N.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt. 2, 4, 147.
15. *Skipper H. H.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt. 2, 4, 137.
16. *Ostrowskaya L. A.* Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, 746.
17. *Goldin A., Sandberg J. S., Henderson E. S., Newman J. W.* Cancer Chemotherapy Repts, 1971, pt 1, 55, 1.
18. *Straus M. J., Choi Sung C., Goldin A. J.* Nat. Cancer Inst., 1973, 50, 475.
19. *Bhuyan B. K., Scheidt L. G., Fraser T. J.* Cancer Res., 1972, 32, 398.
20. *Valeriote F. A., Bruce W. R.* Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1967, 8, 69.
21. *Valeriote F. A., Bruce W. R., Meeker B. E. J.* Nat. Cancer Inst., 1968, 40, 935.
22. *Schabel F. M., Jr.* Biochemical Pharmacol., 1974, 23 (suppl. 2), 163.
23. *Schabel F. M., Jr.* In: Cancer chemother. dose, schedules, combinations T. C. Hall, K. Karrer (Eds). Vienna, Verl. Wiener Med. Akad., 1968, p. 65.
24. *Schabel F. M., Jr.* Abstrs 5th Intern. Congr. Chemotherapy, Vienna, Verl. Wiener. Med. Acad., 1967, p. 235.
25. *Skipper H. E., Schabel F. M., Jr., Trader M. H. e. a.,* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, 56, 273.
26. *Schabel F. M., Jr., Skipper H. E., Trader M. W., Laster W. R., Jr., Cheeks J. B.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 2, 4, 53.
27. *Zeller W. J., Schmähl D., Ivankovic S.* Dtsch. Med. Wochenschr., 1974, 99, 1367.
28. *Lin H., Bruce W. R.* Ser. Haematol., 1972, 5, 89.
29. *Goldin A.* In: Chemotherapy of cancer dissemination and metastasis. S. Garattini, G. Franchi (Eds). New York, Raven Press, 1973, p. 341.
30. *Cohen M. H. J.* Pharmacol. Exptl. Therap., 1975, 194, 475.
31. *Mayo J. G., Laster W. R., Jr., Andrews C. M., Schabel F. M., Jr.* Cancer Chemotherapy Repts, 1972, pt 1, 56, 183.
32. *Griswold D. P., Dykes D. J., Kelley C. A., Roberts B. J., Dominick C. A.* Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 2, 4, 99.
33. *Schabel F. M., Jr.* Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt. 3, 4, 3.
34. *Wheeler G. P.* In: Cancer medicine. Philadelphia, Lea and Febiger, 1973, p. 791.
35. *Goldin A.* Ann. N. Y. Acad. Sci., 1971, 186, 423.
36. *Goldin A., Venditty J. M., Mead J. A. R.* Cancer Chemotherapy Repts, 1964, 48, 57.
37. *Venditti J. M., Kline I., Tyrer D. D., Goldin A.* Cancer Chemotherapy Repts, 1965, 48, 35.
38. *Chirigos M. A., Humphreys S. R.* Cancer Res., 1966, pt 1, 26, 1673.
39. *Goldin A.* Cancer Res., 1969, 29, 2285.
40. *Goldin A., Venditti J. M., Mantel N., Kline J., Gang M.* Cancer Res., 1968, 28, 950.
41. *Tyrer D. D., Kline I., Venditti J. M., Goldin A.* Cancer Res., 1967, 27, 873.

42. Schabel F. M., Jr. In: The proliferation and spread of neoplastic cells. Baltimore, Williams and Wilkins, 1968, p. 379.
43. Hoshino A. Acta haematol. Japan., 1974, 37, 731.
44. Kline I., Woodman R. J., Gang M., Cysyk R. L., Venditti J. M. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, 57, 291.
45. Островская Л. А., Эмануэль Н. М. В кн.: Труды советско-итальянского симпозиума по противоопухолевым антибиотикам. М., 1977 (в печати).
46. Corbett T. H., Griswold D. P., Mayo J. G., Laster W. R., Schabel F. M., Jr. Cancer Res., 1975, 35, 1568.
47. Wodinsky I., Swiniarski J., Little A. D., Cambridge I., Venditti J. M. Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, p. 737.
48. Medoff G., Valeriote F., Lynch R. G., Schlessinger D., Kobayashi G. S. Cancer Res., 1974, 34, 974.
49. Pouillart P., Hoang Thy Huong T., Lhéritier J. Bull. Cancer, 1974, 61, 509.
50. Cohen M. H., Carbone P. P. J. Nat. Cancer Inst., 1972, 48, 921.
51. Cohen M. H. J. Nat. Cancer Inst., 1972, 48, 927.
52. Cohen M. H. J. Nat. Cancer Inst., 1973, 51, 1323.
53. Cohen M. H. Abstrs XI Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 4, p. 744.
54. Bonmassar E., Vadlamudi S., Viera W., Goldin A. Arch. ital patol. e clin. tumori, 1969, 12, 163.
55. Schein P. S., Gooney D. A., Vernon M. L. Cancer Res., 1967, 27, 2324.
56. Bekesi J. D., Holland J. F. In: Recent results cancer Research, 1974, v. 47. Berlin, 1974, p. 357.
57. Albright L., Madigan J. C., Gaston M. R., Houchens D. P. Cancer Res., 1975, 35, 658.
58. Schabel F. M. Cancer Treatment Rept, 1976, 60, 665.
59. Burchenal J. H., Benvenisti D., Dollinger M. Recent Results Cancer Res., 1970, 33, 102.
60. Frei E. III, Schabel F. M., Jr., Goldin A. Cancer Res., 1974, 34, 184.
61. Wharam M. D., Phillips T. L., Kane L., Utley J. E. Radiology, 1973, 109, 451.
62. Tel E., Barker M., Levin V. A. Cancer Chemotherapy Rept, 1974, 58, 627.
63. Schabel F. M. In: Pharmacologic basis of cancer chemotherapy. Baltimore, Williams and Wilkins Co, 1975, p. 595.
64. Corbett T. H., Griwold D. P., Jr., Roberts B. J. e. a. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 2, 5, 169.
65. Griwold D. P., Jr. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, pt 2, 5, 187.
65. Schabel F. M., Jr. In: Cancer chemotherapy — fundamental concepts and recent advances. Chicago. Year Book Med., Publ., 1974, p. 323.
67. Carter S. K. Cancer Chemotherapy Repts, 1973, pt 3, 4, 35.
68. Раевский И. Г., Вермель Е. М., Корман Н. П., Коба В. Д., Герасев В. В. В кн.: Вопросы диагностики и лечения лимфогранулематоза. Обнинск, 1975, с. 54.
69. Durant J. R., Lessner H. E. Cancer, 1973, 32, 277.
70. Durant J. R., Loeb V., Dorfman R., Chan Y. K. Cancer, 1975, 36, 1936.
71. Aungst C. W. J. Surg. Oncol., 1973, 5, 575.
72. Kurnick J. E., White M., Wave D. E., Robinson W. A. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, 59, 1147.
73. Переводчикова Н. И., Корман Н. П., Бычков М. Б. Вопросы онкологии, 1975, 21, № 8, 21.
74. Curtis J. E. Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 883.
75. Edmonson J. H., Mittelman A., Stollbach L., Lagakos S. W., Abstrs XIth Internat. Cancer Congr., Florence, 1974, 3, p. 591.
76. Wasserman T. H., Slavik D., Caster S. K. Cancer Treatment Revs, 1974, 1, 251.
77. Taylor S. G., Donovan D. A., Spouzo R. W., Cunningham T. J., Horton J. Cancer Chemotherapy Repts, 1975, 59, 1127.
78. Stolinsky W. C., Pugh R. P., Bohannou R. A., Rogdon D. L., Batoman J. R. Cancer Chemotherapy Repts, 1974, pt 1, 58, 947.
79. Omura G. A., Roberts G. A. Cancer, 1973, 31, 1374.

80. Livingston R. B., Einhorn L. H., Bodey G. P., Burgess M. A., Freireich E. J., Gottlieb J. A. *Cancer*, 1975, 36, 327.
81. Livingston R. B., Fee W. H., Einhorn H. L., Burgess M. A., Freireich E. J., Gottlieb J. A., Farber M. O. *Cancer*, 1976, 37, 1237.
82. McMahon L. J., Jones S. E., Durie B. G., Salmon S. E. *Cancer Letters*, 1975, 1, 97.
83. Hansen H. H., Selawry O. S., Carr D. T., Sealy R., Simon P. Abstrs XIth Internat. Cancer Congr., Florence, 1974, 3, p. 592.
84. Jungi W. F., Alberto P., Senn H. J. *Ergebn. Adriamycin — Therap.* Berlin, 1975, p. 144.
85. Van Eden E. B., Falkson H. C., Falkson G. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1970, 54, 347.
86. Kinne D. W., Humphrey E. W. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, 56, 53.
87. Pouillart P., Schwarzenberg L., Amiel J. L., Mathe G., Huguenin P., Morin P., Baron A., Laparre Ch., Parrot R. *Nouvelles presse med.*, 1975, 4, 717.
88. Klein H. O. Abstrs XIth Intern. Cancer Congr., Florence, 1974, 1, p. 67.
89. Moon J. H. *Cancer*, 1970, 26, 468.
90. Gailoni S., Moon J. *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol. Abstrs*, 1971, 23, 286.
91. Johnson F. D., Jacobs E. M. *Cancer*, 1971, 27, 1306.
92. Primack A., Dhru D., Kirgabwire J. W. M., Vogel Ch. L. *Cancer*, 1973, 31, 337.
93. Doon J. H., Gailoni S., Cooper M. R., Hayes D. M., Rege W. B., Blom J., Falkson G., Maurice P., Brunner K., Glidewell O., Holland J. E. *Cancer*, 1975, 35, 368.
94. Costanza M. E., Nathanson L., Lenhard R., Wolter J., Colsky J., Oberfield R. A., Schilling St. *Cancer*, 1972, 30, 1457.
95. Gerner R. E., Moore G. E., Dickey Ch. *Oncology*, 1975, 31, 22.
96. Ahmann D. L. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 747.
97. Veronesi V., Bajetta E. *Cancio*, 1973, 26, 307.
98. Beretta G., Bajetta E., Bonadonna G., Tancini G., Orejice S., Veronesi U. *Tumori*, 1973, 59, 239.
99. Luce J. K. *Cancer*, 1972, 30, 1604.
100. Carter S. K., Kremenutz E. T. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1971, 12, 351.
101. Cohen S. M., Greenspan E. M., Weiner M. J., Kabakow B. *Cancer*, 1972, 29, 1489.
102. Астрахан В. И., Трапезников Н. Н., Мороз Л. В., Яворский В. В., Корман Н. П. В кн.: *Опухоли опорно-двигательного аппарата*. М., «Медицина», 1973, вып. 4, с. 176.
103. Мороз Л. В., Астрахан В. И., Переводчикова Н. И., Паршикова С. М. *Вестник АМН СССР*, 1974, № 4, 44.
104. Costanzi J. J., Vaitkevicius V. K., Quagliana J. M., Hoogstraten B., Coltman Ch. A., Dalaney F. C. *Cancer*, 1975, 35, 342.
105. Ahmann D. L., Hahn R. G., Bisel H. F., Eagen R. T., Edmonson S. K. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1975, pt 1, 59, 451.
106. Einhorn L. D. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1973, pt 1, 57, 437.
107. Gulin Ph. H., Wilson Ch. B., Vansantha K., Boldrey E. B., Levin V., Powele M., Enot V. J. *Cancer*, 1975, 35, 1398.
108. Levin V., Wilson Ch. Abstrs, 9th Intern. Congr. Chemotherapy, London, 1975, p. 46.
109. Levin V. A., Wilson Ch. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 719.
110. Hildebrand J., Brihaye J., Wagenkecht L., Michel J., Kenis Y. *Europ. J. Cancer.*, 1973, 9, 627.
111. Poisson D., Buge A., Puillart P., Mathe G., Huguenin P., Morin P., Gaudier H., Parrot R. *Nouvelle presse medicale*, 1975, 4, 1957.
112. Pouillart P., Schwarzenberg A., Amiel J. L., Mathe G., Huguenin P., Morin P., Baron A., Laparse Ch., Parrot R. *Nouvelle presse medicale*, 1975, 4, 721.

113. Taylor S. G., Nelson L., Baxter D., Rosenbaum Ch., Sponzo R. W., Cunningham Th. L., Olson K. B., Horton J. *Cancer*, 1975, 36, 1269.
114. Kovach John S., Moertel Ch. G., Schutt A. J., Hahn R. G., Reitemeier R. J. *Cancer*, 1974, 33, 563.
115. Lokich J. J., Skarin A. J. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 1, 56, 653.
116. Reitemeier R. J., Moertel C. G., Hahn R. G. *Cancer Res.*, 1970, 30, 1425.
117. Tormey D. C., Gailani S., Leone L. *Oncology*, 1974, 29, 244.
118. Lokich J. J., Skarin A. T., Frei E. III. *Cancer*, 1974, 34, 1593.
119. Moertel Ch. G., Schutt A. J., Reitemeier R. J., Hahn R. G. *Cancer Treatment Repts*, 1976, 60, 729.
120. Lokich J. J., Brooks J. R. *Ann. Surg.*, 1973, 177, 13.
121. Lokich J., Chawla P. L., Brooks J., Frei E. III. *Ann. Surg.*, 1974, 179, 450.
122. Moertel C. G., Schutt A. J., Reitemeier R. J., Haber R. G. *Cancer Res.*, 1972, 32, 1280.
123. Baker L. H., Talley R. W. *Cancer*, 1976, 38, 1.
124. Cohen S. M., Weiner M. J., Greenspan E. M. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 1, 56, 751.
125. Rossi A., Riva A., Bonadonna G. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1975, pt 1, 59, 1161.
126. Falkson G., von Eden E. B., Falkson H. C. *Cancer*, 1974, 33, 1207.
127. Comis R. L., Carter S. K. *Cancer*, 1974, 34, 1576.
128. Moertel Ch. G. *JAMA*, 1976, 235, 2135.
129. Van Eden E. B., Falkson G., van Dyk J. J., van der Merwe A. M., Falkson H. C. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1972, pt 1, 56, 107.
130. Presant C. A., Kolhouse J. F., Klahr C. *Cancer*, 1976, 37, 620.
131. Lindell T. D., Moseley H. S., Fletcher W. S. *Amer. Surg.*, 1974, 40, 281.
132. Sonntag R. W., Brunner K. W., Batz K., Rysse H. J. *Cancer Chemotherapy Repts*, 1975, pt 1, 59, 429.
133. Lee B. J., Sahakian G., Clarkson E. D., Krakoff J. H. *Cancer*, 1974, 33, 533.
134. Merrin C., Mittelman A., Fanous N., Wajsman L., Murphy G. P. J. *Urology*, 1975, 113, 21.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Алкильные производные нитрозомочевины, к числу которых относятся препараты 1-нитрозо-1-метилмочевина (НММ), 1,3-бис(2-хлорэтил)-1-нитрозомочевина (БХНМ, ВСNU), 1-(2-хлорэтил)-3-циклогексил-1-нитрозомочевина (ЦГНМ; ССNU), 1-(2-хлорэтил)-3-(4-метил) циклогексил-1-нитрозомочевина (MeЦГНМ, MeССNU) и стрептозотоцин, представляющие собой новый для противоопухолевой химиотерапии класс соединений, во все возрастающей мере рассматриваются в качестве препаратов, наиболее перспективных в современном лекарственном лечении опухолевых заболеваний.

В СССР изучение противоопухолевых свойств в ряду НАМ привело к разработке оригинального противоопухолевого препарата НММ. Это изучение базировалось на представлении о большой вероятности открытия новых антибластомных средств среди биологически активных соединений и на широком использовании кинетических критериев для оценки их эффективности.

В США в основу создания препаратов БХНМ, ЦГНМ и MeЦГНМ положены эмпирические данные, полученные при организованном в этой стране массовом скрининге химических соединений с целью поиска среди них веществ с противоопухолевой активностью, что определило впоследствии развитие работ по рациональному синтезу соответствующих препаратов.

Нитрозоалкилмочевины — производные мочевины, замещенной по одному или обоим атомам азота и нитрозированной по одному из них, — представляют собой класс органических соединений, отличающихся высокой реакционной способностью. С этим связана их значительная биологическая активность.

Одним из важных физико-химических и фармакологических свойств НАМ является их высокая растворимость в липидах, что обеспечивает быстрый транспорт через систему клеточных и цитоплазматических мембран и через гематоэнцефалический барьер.

НАМ вызывают существенные повреждения биомакромолекул в опухолевых и нормальных клетках.

При физиологических условиях НАМ легко распадаются с образованием метил-, винил- и хлорэтилкарбониевых ионов,

которые реагируют с нуклеофильными центрами ДНК, РНК и белков (реакции алкилирования). В процессе разложения НАМ образуются также изоцианаты, карбамоилирующие белки, липиды и в меньшей степени ДНК и РНК. Сочетание алкилирующей и карбамоилирующей активности НАМ определяет их высокую противоопухолевую эффективность.

В терапевтических дозах НАМ непосредственно повреждают аппарат трансляции и транскрипции в опухолевых клетках. Ингибирование синтеза ДНК связано с карбамоилированием ДНК-полимеразы и других ферментов репарации ДНК, а также с повреждением путем алкилирования или карбамоилирования ДНК-матрицы.

НАМ обладают определенной избирательностью действия в отношении опухолевых клеток, что, вероятно, связано с более быстрым восстановлением вызванных ими повреждений в нормальных клетках по сравнению с опухолевыми.

Для НАМ характерен широкий спектр противоопухолевой активности в отношении злокачественных новообразований различного гистогенеза и происхождения (в том числе спонтанных и индуцированных канцерогенами и вирусами), развившихся у инбредных и беспородных животных (мыши, крысы, хомячки). Эти соединения, в частности, высокоэффективны в отношении медленно растущих солидных опухолей животных, устойчивых к обычным видам химиотерапии и близких по своим цитокинетическим характеристикам к новообразованиям человека.

Важной особенностью НАМ, отличающей их от большинства противоопухолевых препаратов, является значительная эффективность при опухолях мозга. Экспериментальные данные, полученные в опытах с глиальными опухолями, индуцированными вирусами или химическими канцерогенами, а также с интерацеребральными формами обычных перевиваемых опухолей, позволяют рассматривать НАМ как группу потенциально очень активных препаратов для лечения больных со злокачественными новообразованиями центральной нервной системы.

Большинство НАМ проявляют максимальную терапевтическую активность при применении в высоких разовых дозах с достаточно длительными интервалами между отдельными введениями препаратов. Способ введения НАМ не играет существенной роли в их противоопухолевом действии. Они в равной мере активны при парэнтеральном и пероральном применении.

В СССР дальнейшее углубленное исследование противоопухолевых свойств НАМ проводится на основе широкого применения кинетических методов. Кинетический подход позволил установить количественные закономерности канцеролитического действия НАМ, выбрать оптимальные режимы их применения, объективно оценить активность каждого из препаратов как при индивидуальном использовании, так и при полихимиотерапии.

Показателем эффективности служил кинетический критерий — коэффициент активности κ^* , позволяющий сопоставить темп развития опухолевого процесса у интактных и подвергавшихся воздействию НАМ животных.

Сравнительное изучение противоопухолевых свойств НАМ в кинетическом аспекте выявило определенные различия в спектре их действия. Так, например, хлорэтилзамещенные НАМ более эффективны при лейкемии L1210, карциносаркоме Уокера и опухоли легких Льюис, а НММ превосходит другие препараты этого класса по активности в отношении лейкоза La и аденокарциномы молочных желез мышей линии СЗН (первая генерация).

НАМ обладают значительной противоопухолевой активностью по отношению к широкому спектру злокачественных опухолей человека. Наиболее эффективно применение препаратов этого класса при злокачественных лимфомах, особенно при лимфогранулематозе, раке легкого, злокачественных опухолях головного мозга, меланоме, аденокарциноме желудочно-кишечного тракта, инсуломе, множественной миеломе. Применение НАМ у больных с распространенными формами этих заболеваний приводит к более или менее длительной регрессии опухоли (полной или частичной), симптоматическому и субъективному улучшению и в ряде случаев к продлению жизни больных.

Подобно тому, как это было установлено в эксперименте, в клинике также имеются определенные различия в эффективности разных НАМ при некоторых опухолях. При лимфогранулематозе и мелкоклеточном раке легкого большей активностью обладает НММ, при глиомах, раке желудочно-кишечного тракта, меланоме — хлорэтильные производные нитрозомочевины, при инсуломе — стрептозотоцин.

Токсические реакции на применение НАМ обычны для большинства цитостатиков и заключаются в основном в развитии побочных явлений со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, диаррея) и кроветворения. Угнетение гемопоэза проявляется лейкопенией и тромбоцитопенией, причем при применении препаратов в терапевтических дозах миелодепрессия, как правило, обратима. Для хлорэтильных производных нитрозомочевины характерно отсроченное развитие миелодепрессии, тогда как при лечении НММ угнетение гемопоэза развивается в процессе лечения.

НАМ оказывают выраженное летальное действие как на пролиферирующие, так и на покоящиеся опухолевые клетки (находящиеся в фазе G_0) и вызывают значительные нарушения в митотическом цикле делящихся клеток. Характерным для действия НАМ на активно пролиферирующие клетки является гибель клеток преимущественно при переходе из фазы G_1 в фазу S и в начале фазы S , а также удлинение фаз S и G_2 и временное блокирование клеток к поздней интерфазе.

Высокая чувствительность покоящихся опухолевых клеток к НАМ, отличающая их от большинства известных цитостатиков, является, вероятно, одним из факторов, определяющих значительную активность этих соединений в отношении распространенных, относительно медленно растущих солидных опухолей животных с низким пролиферативным пулом, а также ряда солидных новообразований человека.

Цикло- и фазонеспецифичность действия НАМ, наряду с отсутствием перекрестной резистентности между этими соединениями и противоопухолевыми препаратами других классов, имеет существенное значение для их использования в комбинированной химиотерапии. Исключительно важным является открытие усиления противоопухолевой активности при сочетании НАМ с цитостатиками другого механизма действия — алкилирующими агентами, антиметаболитами, антибиотиками, винкалкалоидами, кортикостероидными гормонами. Экспериментально терапевтический синергизм установлен при комбинации НАМ с циклофосфаном, сарколизином, метотрексатом, 6-меркаптопурином, цитозин-арабинозидом, блеомицином, винкристином.

В клинике также апробировано большое число разнообразных сочетаний НАМ с другими противоопухолевыми препаратами. Существенное увеличение эффективности лечения достигнуто при применении нескольких схем полихимиотерапии, включающих НАМ, у больных плоскоклеточным раком легкого, лимфогранулематозом, меланомой, раком желудка и толстого кишечника, опухолями мозга.

Изученные комбинации далеко не исчерпывают тех возможностей увеличения эффективности лекарственного лечения опухолевых заболеваний, которые могут быть получены при включении НАМ в полихимиотерапию различных злокачественных опухолей человека.

Накопленный к настоящему времени опыт экспериментального и клинического изучения НАМ свидетельствует о несомненной перспективности дальнейших широких исследований этого нового класса противоопухолевых препаратов. Синтез новых производных, экспериментальное и клиническое изучение их специфической активности на объективной количественной основе, установление молекулярных и клеточных механизмов действия, широкие фармакологические исследования безусловно приведут к появлению в практической онкологии еще более эффективных препаратов.

СОКРАЩЕНИЯ

НАМ	— нитрозоалкилмочевины
НММ	— 1-нитрозо-1-метилмочевина
НЭМ	— 1-нитрозо-1-этилмочевина
НПМ	— 1-нитрозо-1-пропил-мочевина
ДМНМ	— 1,3-диметил-1-нитрозомочевина
ДЭНМ	— 1,3-диэтил-1-нитрозомочевина
НМБ	— 1-нитрозо-1-метилбиурет
БХНМ	— 1,3-бис (2-хлорэтил)-1-нитрозомочевина, ВСNU
ЦГНМ	— 1-(2-хлорэтил)-3-циклогексил-1-нитрозомочевина, ССNU
МеЦГНМ	— 1-(2-хлорэтил)-3-(4-метил)-циклогексил-1-нитрозомочевина, МеССNU
ДТИК	— 5-(3,3-диметил)-1-триазено-имидазол-4-карбоксамид, ДТИС
БТИК	— 5-(3,3-бис(2-хлорэтил)-1-триазено-имидазол-4-карбоксамид, ВТИС
5-ФУ	— 5-фторурацил
ДМНА	— 1,3-диметил-1-нитрозамин
7-МГ	— 7-метилгуанин
ММС	— метилметансульфонат
ЭМС	— этилметансульфонат
ГХЭИЦ	— 2-хлорэтилизоцианат
ЦГИЦ	— циклогексилизоцианат
АРЭ	— асцитный рак Эрлиха мышей
С-180	— саркома 180 мышей
С-37	— саркома 37 мышей
НК/Лу	— опухоль НК/Лу мышей
Са-755	— карцинома 755 мышей

РМЖ	— рак молочной железы мышей
КСУ	— карциносаркома Уокера 256 крыс
С-45	— саркома 45 крыс
ЦНС	— центральная нервная система
ГЭБ	— гемато-энцефалический барьер
СМЖ	— спинно-мозговая жидкость
LD ₁₀₀ , LD ₅₀ .	— летальные дозы, вызывающие гибель 100, 50 и
LD ₁₀	10% животных, соответственно
МПД	— максимально переносимые дозы препаратов.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
--------------------	---

Глава I

КИНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ, СВОЙСТВА И ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Основы рационального изучения новых противоопухолевых препаратов	7
Выявление противоопухолевой активности нитрозоалкилмочевин	20
Физико-химические свойства и реакции нитрозоалкилмочевин	23

Глава II

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Токсические свойства и кумулятивные эффекты	49
Предклинические фармакологические и патоморфологические исследования	50
Фармакокинетика	55
Действие нитрозоалкилмочевин на органы и ткани у онкологических больных. Побочные явления	63
	75

Глава III

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СВОЙСТВ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН

Чувствительность экспериментальных опухолей к нитрозоалкилмочевинам	90
Зависимость противоопухолевого эффекта от доз, схем и путей введения препаратов. Оптимальные режимы применения	91
Кинетическая характеристика противоопухолевой активности НАМ	111
	122

Глава IV

НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИНЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ОНКОЛОГИИ

148

Глава V

**КЛЕТОЧНАЯ КИНЕТИКА В ОПУХОЛЯХ
И ДЕЙСТВИЕ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН**

	191
Влияние НАМ на клеточный цикл опухолей	193
Гибель размножающихся и покоящихся опухолевых клеток	201

Глава VI

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ
НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН**

	208
Реакции алкилирования и карбамоилирования	209
Редупликация	213
Транскрипция и процессинг	221
Трансляция	234
Ферменты	241

Глава VII

**ПРИМЕНЕНИЕ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН
В КОМБИНИРОВАННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ**

	246
Эффективность комбинаций нитрозоалкилмочевин с другими цитостатиками в эксперименте	247
Нитрозоалкилмочевины в полихимиотерапии больных злокачественными новообразованиями	268
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	238
СОКРАЩЕНИЯ	292

2 p. 50 r.