

УДК 615.277.3+615.324

Е.П. Зуева¹, Т.Г. Разина¹, Е.Н. Амосова¹, С.Г. Крылова¹, К.А. Лопатина¹, Л.А. Ефимова¹, Е.А. Сафонова¹,
О.Ю. Рыбалкина¹, Ю.С. Хотимченко²

¹ НИИ фармакологии СО РАМН (634028 г. Томск, пр-т Ленина, 3),

² Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (690041 г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17),

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНОВ С РАЗЛИЧНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ НА РАЗВИТИЕ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИКЛОФОСФАНА У МЫШЕЙ

Ключевые слова: хитозан, аденокарцинома Эрлиха, циклофосфан.

На моделях перевиваемой аденокарциномы Эрлиха у мышей исследованы эффекты хитозанов с различной молекулярной массой (190–300 и 50–190 кДа). Хитозаны вводили энтерально в дозах 50 и 100 мг/кг. Оба образца не влияли на развитие аденокарциномы Эрлиха, но достоверно повышали противоопухолевый эффект циклофосфана.

Хитин и хитозан — полисахариды с молекулярной массой около 1000 кДа, содержащие более 5000 остатков ацетилглюкозамина и глюкозамина соответственно. Хитин входит в состав кутикулы ракообразных и насекомых и клеточной стенки многих грибов и микроорганизмов, а в промышленных объемах его вырабатывают из каркаса крабов и креветок. Хитозан, получаемый путем деацетилирования хитина, широко применяется в пищевой и фармацевтической промышленности и является источником получения модифицированных полисахаридов, различающихся по физико-химическим свойствам и биологической активности [12]. Высокомолекулярные водонерастворимые хитозаны, характеризующиеся большой вязкостью и неспособностью к кишечной абсорбции, обладают гипохолестеринемическим, антимикробным, иммуномодулирующим и противоопухолевым фармакологическими эффектами [4, 5, 14]. Показано, что хитозан со средней молекулярной массой 650 кДа ослаблял нежелательные реакции, вызванные применением противоопухолевых средств (5-фторурацила, цисплатина и доксорубина), но не оказывал прямого противоопухолевого эффекта у мышей с перевиваемой саркомой 180 [7–9].

Низкомолекулярные хитозаны, получаемые путем ферментного или химического гидролиза высокомолекулярного хитозана, обладают меньшей вязкостью и большей водорастворимостью, а также способны в определенной степени к абсорбции в кишечнике человека и животных. Зависимость противоопухолевой и антиметастатической активности хитозанов от их молекулярной массы и других физико-химических свойств была показана на моделях перевиваемых опухолей и химически индуцированного канцерогенеза [10, 11, 13].

В настоящем сообщении приведены результаты изучения противоопухолевой активности хитозанов, различающихся по молекулярной массе, на модели перевиваемой аденокарциномы Эрлиха у мышей.

Материал и методы. В работе использовали два образца хитозана, приобретенные в Sigma-Aldrich (США). Образцы различались по молекулярной массе и характеристической вязкости. Физико-химические свойства образца средномолекулярного хитозана (хитозан-200 сР): характеристическая вязкость — 200–800 сР, молекулярная масса — от 190 до 300 кДа, степень деацетилирования — 75–85%. Физико-химические свойства образца низкомолекулярного хитозана (хитозан-20 сР): характеристическая вязкость — 20–200 сР, молекулярная масса — от 50 до 190 кДа, степень деацетилирования — 85%. Оба использованных хитозана были растворимы в воде.

Исследования проводили на 87 аутбредных конвенциональных мышах-самках массой около 20 г, полученных из лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии СО РАМН (сертификат качества № 188-05). Животных содержали в пластиковых клетках (по 6–8 в каждой) при стандартных параметрах внешней среды (температура — 20–22 °С, влажность — 50–55%, 12-часовой ритм освещения). Мыши имели свободный доступ к воде и пище. Состав стандартной диеты (на 100 г): казеин — 21,0 г, холестерин — 1,0 г, сахароза — 15,0 г, крахмал — 45,9 г, метионин — 0,3 г, минералы — 3,5 г, смесь витаминов — 1,0 г. Содержание животных и экспериментальный дизайн были одобрены этическим комитетом НИИ фармакологии СО РАМН и соответствовали международным правилам по уходу и содержанию экспериментальных животных.

Аденокарциному Эрлиха инъецировали всем подопытным мышам внутривентально в количестве $7,5 \times 10^6$ клеток в 0,2 мл физиологического раствора [2]. После этого животных рандомизировали на группы. Известно, что эффективные дозы полисахаридов составляют, как правило, 50–250 мг/кг массы тела животного [3, 6]. Через 24 часа после инъекции опухолевых клеток препараты хитозанов растворяли в дистиллированной воде и вводили в желудок с помощью металлического зонда в дозах 50 и 100 мг/кг ежедневно в течение 7 суток. Цитостатический лекарственный препарат циклофосфан (Lens-Pharm Co Ltd., Россия) вводили животным опытной группы внутримышечно однократно через 72 часа после инъекции опухолевых клеток в дозе 150 мг/кг. В контрольной группе вводили равное количество дистиллированной воды. По окончании эксперимента

Таблица

Влияние хитозанов на развитие аденокарциномы Эрлиха и эффективность циклофосфана у беспородных мышей-самок ($M \pm m$)

Группа животных	Объем асцита, мл	Объем опухолевых клеток, мл	Ингибирование опухолевого роста, %
Контроль (n=11)	4,93±0,45	1,62±0,17	—
Хитозан (200 сР), 50 мг/кг (n=10)	4,52±0,34	1,23±0,09	24
Хитозан (200 сР), 100 мг/кг (n=10)	4,58±0,46	1,70±0,22	—5
Хитозан (20 сР), 50 мг/кг (n=10)	4,64±0,48	1,55±0,19	4
Хитозан (20 сР), 100 мг/кг (n=10)	4,58±0,46	1,21±0,15	25
Циклофосфан (n=10)	4,62±0,38	1,49±0,11	8
Циклофосфан + хитозан (200 сР), 50 мг/кг (n=8)	3,46±0,47 ¹	0,97±0,12 ¹	40
Циклофосфан + хитозан (200 сР), 100 мг/кг (n=8)	4,74±0,57	1,18±0,15 ¹	27
Циклофосфан + хитозан (20 сР), 50 мг/кг (n=10)	4,38±0,52	1,14±0,07 ¹	30
Циклофосфан + хитозан (20 сР), 100 мг/кг (n=10)	3,49±0,39 ¹	1,44±0,18	11

¹ Различия по сравнению с группой «Циклофосфан» статистически значимы.

мышей умерщвляли передозировкой CO₂-наркоза, вскрывали брюшную полость, и объем клеток опухоли определяли после центрифугирования асцитической жидкости в мерной пробирке в течение 5 мин при 3000 об./мин. Достоверность полученных результатов определяли с помощью непараметрического критерия Вилкоксона—Манна—Уитни и точного теста Фишера [1].

Результаты исследования и обсуждение полученных данных. Образцы хитозанов в дозах 50 и 100 мг/кг не влияли на объем опухолевых клеток и асцитической жидкости. В то же время при введении в схему химиотерапии оба образца усиливали цитостатический эффект циклофосфана. Так, у животных, которым на фоне циклофосфана вводили хитозан-200 сР в дозе 50 мг/кг, объем опухоли был на 34,9% меньше, чем у животных, которым вводили только циклофосфан. У животных, которым вводили хитозан-200 сР в дозе 100 мг/кг, объем опухоли был на 20,8% меньше, а у тех, которым вводили хитозан-20сР — на 23,5% меньше, чем у животных, которым вводили циклофосфан (табл.).

Таким образом, экспериментальные исследования показали, что низкомолекулярные и среднемолекулярные хитозаны не влияют на рост перевиваемой аденокарциномы Эрлиха, но существенно усиливают противоопухолевое действие циклофосфана.

Ранее было доказано, что низкомолекулярные хитозаны и олигохитозаны способны ингибировать рост перевиваемой саркомы 180 у мышей не прямо, а за счет повышения активности кишечных интраэпителиальных лимфоцитов — натуральных киллеров [10]. В то же время хитоолигосахариды *in vitro* достоверно ингибировали пролиферацию в гепатоцеллюлярной карциноме человека HepG2, уменьшая процент клеток, находящихся в S-фазе, и снижая скорость синтеза ДНК. Однако *in vivo* у мышей хитоолигосахариды ингибировали опухолевый рост ксенотрансплантатов HepG2 только при тяжелом

комбинированном иммунном дефиците [11]. Кроме того, хитоолигосахариды угнетали опухолевый рост и метастазирование аденокарциномы Льюис. Создается впечатление, что чувствительность опухолевых клеток к хитозанам не одинакова, что может объяснить отсутствие противоопухолевого действия у средне- и низкомолекулярных соединений. В настоящей работе впервые показано, что водорастворимые хитозаны способны усилить противоопухолевую эффективность цитостатиков, и предстоящие исследования будут направлены на выяснение механизмов этого эффекта.

Литература

1. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 293 с.
2. Софьина З.П., Сыркин А.Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. М.: Медицина, 1980. 296 с.
3. Хотимченко Ю.С., Хасина Э.И., Ковалев В.В. и др. Эффективность пищевых некрахмальных полисахаридов при экспериментальном токсическом гепатите // Вопросы питания. 2000. Т. 69, № 1/2. С. 22–26.
4. Baek K.S., Won E.K., Choung S.Y. Effects of chitosan on serum cytokine levels in elderly subjects // Arch. Pharm. Res. 2007. Vol. 30, N 12. P. 1550–1557.
5. Gallaher D.D., Gallaher C.M., Mahrt G.J. et al. A glucomanan and chitosan fiber supplement decreases plasma cholesterol and increases cholesterol excretion in overweight normocholesterolemic humans // J. Am. Coll. Nutr. 2002. Vol. 21, No. 5. P. 428–433.
6. Khotimchenko M., Sergushchenko I., Khotimchenko Y.S. The effects of low-esterified pectin on lead-induced thyroid injury in rats // Environmental Toxicology and Pharmacology. 2004. Vol. 17. P. 67–71.
7. Kimura Y., Onoyama M., Sera T., Okuda H. Antitumor activity and side effects of combined treatment with chitosan and cisplatin in sarcoma 180-bearing mice // J. Pharm. Pharmacol. 2000. Vol. 52. P. 883–890.
8. Kimura Y., Sawai N., Okuda H. Antitumor activity and adverse reactions of combined treatment with chitosan and doxorubicin in tumor-bearing mice // J. Pharm. Pharmacol. 2001. Vol. 53. P. 1373–1378.
9. Kimura Y., Okuda H. Prevention by chitosan of myelotoxicity, gastrointestinal toxicity and immunocompetent organic toxicity induced by 5-fluorouracil without loss of antitumor activity in mice // Jpn. J. Cancer Res. 1999. Vol. 90. P. 765–774.

10. Maeda Y., Kimura Y. *Antitumor effects of various low-molecular-weight chitosans are due to increased natural killer activity of intestinal intraepithelial lymphocytes in sarcoma 180-bearing mice* // J. Nutr. 2004. Vol. 134. P. 945–950.
11. Shen K.T., Chen M.H., Chan H.Y. et al. *Inhibitory effects of chitoooligosaccharides on tumor growth and metastasis* // Food Chem. Toxicol. 2009. Vol. 47, No. 8. P. 1864–1871.
12. Singla A.K., Chawla M. *Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects – an update* // J. Pharm. Pharmacol. 2001. Vol. 53. P. 1047–1067.
13. Torzszas T.L., Kendall C.W., Sugano M. et al. *The influence of high and low molecular weight chitosan on colonic cell proliferation and aberrant crypt foci development in CFI mice* // Food Chem. Toxicol. 1996. Vol. 34, No. 1. P. 73–77.
14. Zheng I.Y., Zhu J.F. *Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights* // Carbohydr. Polym. 2003. Vol. 54. P. 527–530.

Поступила в редакцию 12.01.2010.

EFFECT OF CHITOSANS OF DIFFERENT MOLECULAR MASS ON EHRlich ADENOCARCINOMA GROWTH AND EFFICIENCY OF CYCLOPHOSPHANE IN MICE
E.P. Zueva¹, T.G. Razina¹, E.N. Amosova¹, S.G. Krylova¹, K.A. Lopatina¹, L.A. Efimova¹, E.A. Safonova¹, O.Yu. Ryibalkina¹, Yu.S. Khotimchenko²

¹ Research Institute of Pharmacology, SB RAMS (3 Lenina Av. Tomsk 634028 Russia), ² Institute of Marine Biology named after A.V. Zhirmundsky, FEB RAS (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690041 Russia)

Summary – Using models of passaged Ehrlich adenocarcinoma in mice, the authors have studied effects of chitosans with different molecular mass (190 to 300 and 50 to 190 kDa). The chitosans were introduced orally at a dose of 50 and 100 mg/kg. Both specimens did not have effect on the Ehrlich adenocarcinoma growth but had reliable anti-tumor effect of cyclophosphane.

Key words: chitosan, Ehrlich adenocarcinoma, cyclophosphane.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 2, p. 82–84.

УДК

Л.В. Устинова, Л.Н. Логунова

Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

ОЦЕНКА ИННОВАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА АПТЕЧНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ

Ключевые слова: инновации, инновационный потенциал, стратегия.

Представлена оценка инновационного потенциала государственных аптек Владивостока. Используемая методика позволяет определить уровни инновационного потенциала и стратегию развития аптечного предприятия, исходя из анализа финансово-экономической деятельности. Предлагаемая система оценки может служить инструментом для выявления перспективных аптечных предприятий для инновационного развития с привлечением инвестиционного капитала.

Основным средством успешной адаптации предприятия к неопределенным и быстро меняющимся условиям рынка является эффективный механизм управления, обеспечивающий формирование и реализацию такого варианта развития, который обеспечит наилучшие в сложившейся ситуации конечные результаты. В этих условиях наряду с важной ролью производственного, ресурсного и технологического решающее значение приобретает инновационный потенциал предприятия. Инновационный потенциал фактически обеспечивает возможность развития предприятия. Но важным является не только обладание этим потенциалом, но и способность его эффективно реализовывать.

В настоящий момент в российской экономике наблюдается диспропорция между наличием инновационных возможностей и их реальным воплощением на практике. Немногие предприятия России имеют сильный инновационный потенциал, но еще меньше могут эффективно его использовать. Проблема для

аптечных предприятий связана с отсутствием комплексных исследований, методических разработок и концептуальных подходов к оценке эффективности использования инновационного потенциала [1].

Предприятие, которое обладает значительным инновационным потенциалом и осознано стремится его формировать и развивать, можно назвать инновационным. Инновационность предприятия является важным конкурентным преимуществом, ибо позволяет своевременно защитить бизнес от назревающих угроз через систему опережающего и непрерывного поиска новых возможностей выживания и развития. При этом усиливаются адаптивные способности предприятия, расширяется горизонт принятия управленческих решений, возрастают разнообразие и вариативность продуктов и технологий. Как правило, рынок всегда меняет отношение к предприятию на более позитивное, если оно становится более интересным, разнообразным и креативным (инновационным) [5].

Сложность определения инновационного потенциала обусловлена различным пониманием данного термина учеными и отсутствием комплексных методических исследований в этой области [1].

В широком смысле потенциал – это совокупность ресурсов, которые могут быть использованы и приведены в действие для достижения определенной цели. Причем потенциал может быть явным и скрытым, используемым или неиспользуемым [7]. Инновация – конечный результат инновационной деятельности, получающий воплощение в виде нового или усовершенствованного продукта, внедренного на

Устинова Любовь Викторовна – канд. фарм. наук, доцент, заведующая кафедрой управления и экономики фармации ВГМУ; тел.: +7 (4232) 21-57-72; e-mail: ustynova.lv@primapteka.ru.