

Сравнительная морфологическая и биохимическая характеристика токсического действия доксорубицина и наносомальной формы PLGA-доксорубицина при лечении экспериментальной глиобластомы

В.В. Куделькина¹, А.С. Халанский¹, О.В. Макарова¹, И.С. Цветков¹,
А.М. Косырева¹, А.И. Алексеева¹, А.Ю. Шелков¹, О.О. Максименко²,
В.А. Разживина², С.Э. Гельперина^{2,3}

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

² ООО «Технология лекарств», Химки, Россия

³ Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Доксорубин (Докс) в составе полилактидгликолидных (Poly(Lactic-co-Glycolic Acid, 50:50, PLGA) наноразмерных частиц имеет высокую противоопухолевую эффективность у крыс с глиобластомой 101.8. Однако токсическое действие Докс-PLGA недостаточно изучено. Цель исследования – морфологическая и биохимическая оценка гепатотоксического и кардиотоксического действия доксорубицина и Докс-PLGA при лечении глиобластомы 101.8 у крыс Вистар.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 24 самцах крыс Вистар с глиобластомой: без лечения (n=7), получавших доксорубин (n=9) или Докс-PLGA (n=8) внутривенно в дозе 1,5 мг/кг на 2-е, 5-е и 8-е сутки после перевивания опухоли. На 14-е сутки эксперимента исследовали морфологические изменения в миокарде и печени. Проводили гематологическое и биохимическое исследование крови.

Результаты. При лечении крыс с экспериментальной глиобластомой 101.8 Докс-PLGA по сравнению с доксорубицином по данным морфологического, гематологического и биохимического исследования оказывает менее выраженное кардиотоксическое и гепатотоксическое действие.

Воспалительные изменения в миокарде у животных, получавших Докс-PLGA, были менее выраженными и распространенными, чем при лечении доксорубицином. При лечении глиобластомы крыс Докс-PLGA активность аспаратаминотрансферазы, общей и сердечной изоформ креатинфосфокиназы была статистически значимо ниже, чем у животных с глиобластомой без лечения и получавших доксорубин. Гепатотоксические эффекты Докс-PLGA оказались минимальными. В отличие от животных, леченных доксорубицином, при введении Докс-PLGA дистрофия гепатоцитов была слабо выраженной. Активность АЛТ во всех группах не отличалась от референсных значений.

Заключение. По сравнению с доксорубицином наносомальная форма Докс-PLGA при лечении экспериментальной глиобластомы 101.8 оказывает менее выраженное кардио- и гепатотоксическое действие.

Ключевые слова: глиобластома 101.8 крыс, доксорубин, PLGA-наночастицы, токсическое действие, печень, миокард, морфология, биохимия

Для корреспонденции: Вера Владимировна Куделькина. E-mail: verakudelkina8047@gmail.com

Для цитирования: Куделькина В.В., Халанский А.С., Макарова О.В., Цветков И.С., Косырева А.М., Алексеева А.И., Шелков А.Ю., Максименко О.О., Разживина В.А., Гельперина С.Э. Сравнительная морфологическая и биохимическая характеристика токсического действия доксорубицина и наносомальной формы PLGA-доксорубицина при лечении экспериментальной глиобластомы. Клини. эксп. морфология. 2021;10(1):58–65. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.58-65.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке федеральной целевой программы «Развитие фармакологической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (государственный контракт № 13411.1008799.13.144).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 10.12.2020. Получена после рецензирования 14.01.2021. Принята в печать 11.02.2021.

Comparative morphological and biochemical characteristics of the toxic effects of doxorubicin and nanosomal PLGA-doxorubicin form in the experimental glioblastoma treatment

V.V. Kudelkina¹, A.S. Khalanskiy¹, O.V. Makarova¹, I.S. Tsvetkov¹, A.M. Kosyreva¹,
A.I. Alekseeva¹, A.Y. Shelkov¹, O.O. Maksimenko², V.A. Razzhivina², S.E. Gelperina^{2,3}

¹ Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

² LLC Drugs Technology, Khimki, Russia

³ D.I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia

Introduction. Doxorubicin (Dox) in the composition of poly(lactic-co-glycolic acid, 50:50) (PLGA) – nanoparticles has high antitumor efficacy in rats with glioblastoma 101.8. However, the toxic effect of Dox-PLGA is not well understood. The aim of the study was morphological and biochemical evaluation of the hepatotoxic and cardiotoxic effects of doxorubicin and Dox-PLGA in the glioblastoma 101.8 treatment in Wistar rats.

Materials and methods. The study was performed on 24 male Wistar rats with glioblastoma: no treatment (n=7), treated with doxorubicin (n=9) or Dox-PLGA (n=8) intravenously at a dose of 1.5 mg/kg on days 2, 5 and 8 after tumor implantation. On the 14th day of the experiment, morphological changes in the myocardium and liver were examined. Hematological and biochemical blood tests were performed.

Results. When treating rats with experimental glioblastoma 101.8, Dox-PLGA in comparison with doxorubicin has less pronounced cardiotoxic and hepatotoxic effects according to the morphological, hematological and biochemical tests. Inflammatory changes in the myocardium of the animals treated with Dox-PLGA were less pronounced and widespread than the ones treated with doxorubicin. The activities of total and cardiac creatine phosphokinase (CPK) isoforms and AST were statistically significantly lower in Dox-PLGA group than in animals with glioblastoma without treatment and receiving doxorubicin. The hepatotoxic effects of Dox-PLGA were minimal. Unlike animals treated with doxorubicin, they had mild hepatocyte dystrophy. ALT activity in all groups did not differ from the reference values.

Conclusion. Compared with doxorubicin, the nanosomal form of Dox-PLGA in the experimental glioblastoma 101.8 treatment has less pronounced cardio- and hepatotoxic effects.

Keywords: rat glioblastoma 101.8, doxorubicin, PLGA-nanoparticles, toxic effect, liver, myocardium, morphology, biochemistry

Corresponding author: Vera V. Kudelkina. E-mail: verakudelkina8047@gmail.com

For citation: Kudelkina V.V., Khalanskiy A.S., Makarova O.V., Tsvetkov I.S., Kosyreva A.M., Alekseeva A.I., Shelkov A.Y., Maksimenko O.O., Razzhivina V.A., Gelperina S.E. Comparative morphological and biochemical characteristics of the toxic effects of doxorubicin and nanosomal PLGA-doxorubicin form in the experimental glioblastoma treatment. Clin. exp. morphology. 2021;10(1):58–65. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.58-65 (In Russ.).

Funding. The study was carried out with the financial support of the federal target program “Development of the pharmacological and medical industry of the Russian Federation for the period up to 2020 and beyond” (state contract No. 13411.1008799.13.144).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 10.12.2020. **Received in revised form** 14.01.2021. **Accepted** 11.02.2021.

Введение

Глиобластома – наиболее часто встречающаяся злокачественная опухоль головного мозга, среди всех новообразований центральной нервной системы она составляет 14,6% и среди злокачественных – 48,3% [1]. Относительная выживаемость пациентов после постановки диагноза варьирует от 1 года до 2 лет, лишь у 6–22% пациентов она достигает 5 лет. Стандартными методами лечения глиобластомы являются хирургический, лучевой и химиотерапевтический [2, 3].

Противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда, выделенный из культуры *Streptomyces peuceletius* var. *caesi*, – доксорубин, а также его липосомальная и пегилированная (PEG, полиэтиленгликоль) формы применяются при лечении целого ряда онкологических заболеваний – лейкозов, лимфом, карцином яичников,

опухолей молочной железы, легких, щитовидной железы и т.д. [4]. Противоопухолевая эффективность доксорубина в отношении глиобластомы выявлена в экспериментах *in vitro* [5] и *in vivo* [6, 7], а также при его внутриопухолевом введении у человека [8]. Тем не менее применение доксорубина в терапии глиом ограничено, так как он не проникает через гематоэнцефалический барьер, а также имеет выраженную кардио- и гепатотоксичность [9].

Доксорубин эффективно снижает экспрессию генов, ответственных за пролиферацию и регуляцию клеточного цикла опухолевых клеток, чувствительных к нему в S- и G₂-фазах. Механизм действия доксорубина заключается в изменении структуры ДНК, ингибировании топоизомеразы II-β, подавлении синтеза нуклеиновых кислот, повреждении митохондриальной

ДНК, образовании свободных радикалов, разрушении мембран, что приводит к некрозу и апоптозу опухолевых клеток. Доксорубин в комбинации с ингибитором гистоновых деацетилаз – энтиностатом в опухолевых клетках снижает экспрессию *tgf-β* (transforming growth factor beta), повышает экспрессию *tp53* (tumorprotein 53), что приводит к замедлению темпов пролиферации клеток опухоли [10, 11]. Указанные механизмы обуславливают также развитие побочных токсических эффектов доксорубина. Поскольку доксорубин метаболизируется преимущественно в печени, накапливается в основном в почках, а также в сердце и тонкой кишке, он оказывает дозозависимое цитотоксическое действие преимущественно на эти органы [12]. По мнению ряда авторов, кардиотоксичность доксорубина обусловлена активацией перекисного окисления липидов в кардиомиоцитах с последующим разрушением миофибрилл [13].

Для снижения общей токсичности и обеспечения доставки доксорубина используют различные носители, в том числе липосомы [14, 15] и наночастицы [16–18]. Показано, что наносомальная форма доксорубина на основе полибутилцианакрилатных наночастиц ((Poly(n-ButylCyanoAcrylate), ПБСА) помимо высокой противоопухолевой активности в отношении глиобластомы крыс 101.8 оказывает меньшее токсическое действие на миокард, печень, семенники и красный костный мозг [19, 20]. По данным обзора A. Shafei et al. [21] по сравнению с доксорубином его липосомальная и наносомальная формы обладают меньшей кардиотоксичностью.

В отличие от ПБСА (Ø 250 нм) наночастицы PLGA (Ø 100–120 нм), используемые для доставки доксорубина, имеют преимущество: они дольше циркулируют в кровотоке и медленнее биodeградируют: 2–3 часа против 24–48 часов, соответственно. Кроме того, выявлена более высокая противоопухолевая эффективность доксорубина, связанного с PLGA- наночастицами, по сравнению с его стандартной формой [16]. Несмотря на высокую противоопухолевую эффективность, побочное действие Докс-PLGA недостаточно изучено.

Цель исследования – сравнительная морфологическая и биохимическая оценка гепатотоксического и кардиотоксического действия доксорубина и Докс-PLGA при лечении глиобластомы 101.8 у крыс Вистар.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 24 самцах крыс Вистар массой тела 200–220 граммов (филиал «Столбовая» НЦБТ ФМБА России). Животных содержали в условиях вивария при температуре +21±3°C и относительной влажности 35–65%. Доступ к воде и корму был свободным. При работе с животными руководствовались Национальным стандартом Российской Федерации «Принципы надлежащей лабораторной практики» (приказ Ростехрегулирования от 02.12.2009 № 544-ст «Об утверждении национального стандарта», ГОСТ Р 53434-2009), ГОСТ 33216-2014 «Правила рабо-

ты с грызунами и кроликами». Соблюдали принципы гуманного обращения в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. В работе применяли тканевую модель глиобластомы 101.8 крыс Вистар из коллекции штаммов опухолей нервной системы НИИ морфологии человека.

Моделирование глиобластомы

Трансплантацию глиобластомы 101.8 в головной мозг крыс проводили под зоветиловым наркозом (5 мг/100 г) – зоветил (Virbac Sante Animale, Франция) – с соблюдением правил асептики и антисептики. Гомогенизованную ткань глиобластомы 101.8 (~10⁶ опухолевых клеток) трансплантировали следующим образом: кожу теменной области головы крыс обрабатывали 70% этанолом и 5% спиртовым раствором йода и делали продольный разрез длиной 10 мм справа от срединной линии. Стоматологическим бором диаметром 2 мм в правой теменной кости черепа на расстоянии 2 мм от сагиттального шва и 2 мм каудально от венечного шва делали отверстие. С помощью троакара диаметром 1,8 мм ткань опухоли вводили на глубину 4 мм от поверхности кости в область полосатого тела.

После операции животные были разделены на три группы: группа 1 – без лечения (n=7); группа 2 – с лечением доксорубином (Teva, Израиль), (n=9); группа 3 – с лечением Докс-PLGA (доксорубин в составе полилактидгликолидных (Poly(Lactic-co-GlycolicAcid), PLGA), ООО «Технология лекарств», Россия) (n=8). Раствор доксорубина вводили животным в хвостовую вену в терапевтической дозе (1,5 мг/кг) трехкратно, на 2-е, 5-е и 8-е сутки после трансплантации опухоли.

На 14-е сутки после трансплантации опухоли животных выводили из эксперимента передозировкой зоветила (100 мг/кг). Печень и сердце фиксировали в жидкости Буэна.

Обезвоживание, проводку в спиртах возрастающей концентрации, ксилоле и парафине осуществляли в автоматизированной системе Tissue-Tek VIP 5 Jr (Sakura, Япония), заливку блоков проводили в системе Tissue-Tek TEC-5 (Sakura, Япония). Ступенчатые срезы изготавливали на ротационном микротоме Microm GmbH HM-340 (Thermo Scientific, Германия). Препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Для заключения гистологических препаратов использовали синтетическую монтирующую среду (Biovitrum, Россия).

Общий анализ крови проводили на гематологическом анализаторе Nihon Kohden MEK-7222 (Япония). Мазки крови окрашивали по Романовскому–Гимзе и проводили оценку патологических форм эритроцитов.

Определение активности ферментов: аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), креатинфосфокиназы (КФК) и ее сердечной изоформы (КФК-МВ) проводили кинетическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе

Mindray Bs-120 (Китай) с использованием наборов Human GmbH (Германия). Полученные данные соотносились с референсными значениями.

Данные анализировали в программе Statistica 8.1 (Statsoft). Характер распределения анализируемых цифровых данных оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова, который показал необходимость применения непараметрической статистики. Показатели центральных тенденций выражали в виде медианы и квартилей. Сравнение цифровых данных между экспериментальными группами проводили с помощью критерия Краскела–Уоллиса (ANOVA, comparing multiple independent samples). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По сравнению с физиологическими значениями в контрольной группе у животных с глиобластомой без лечения и леченных доксорубицином и Докс-PLGA различия по показателям содержания тромбоцитов, эритроцитов и гемоглобина не выявлены (табл. 1). В мазках периферической крови у животных, получавших доксорубицин, обнаружены патологические формы эритроцитов: с тельцами Жолли, эритробласты, акантоциты, макроциты, гипо- и полихромия эритроцитов, что косвенно свидетельствует о токсичности доксорубицина, в то время как в мазках крови крыс, леченных Докс-PLGA, обнаружены только полихроматофильные эритроциты, что отражает его меньшую токсичность по сравнению с доксорубицином.

При морфологическом исследовании сердца у крыс с глиобластомой 101.8 патологические изменения не обнаружены. Кардиомиоциты были с четко выраженной поперечной исчерченностью, ядра нормохромные, овальной формы. В межмышечной рыхлой соединительной ткани определялись единичные гистиоциты и лимфоциты. Сосуды микроциркуляторного русла

были неравномерно полнокровны (рис. 1 А). При лечении животных доксорубицином в миокарде выявлялись зоны с волнообразной деформацией и контрактурными повреждениями кардиомиоцитов, очаги некроза (единичные в поле зрения при $\times 400$) с выраженной инфильтрацией гистиоцитами и лимфоцитами (рис. 1 В). Определялись обширные зоны межочечного отека со слабо выраженной диффузной инфильтрацией лимфоцитами и гистиоцитами. При лечении Докс-PLGA патологические изменения в миокарде были менее выражены, чем в группе крыс, леченных доксорубицином. Очаги некроза определялись в 1–2 из 20 полей зрения при $\times 400$, отмечались волнообразная деформация и контрактурные изменения кардиомиоцитов (рис. 1 С). Межочечный отек и диффузная инфильтрация гистиоцитами и лимфоцитами оказались менее выраженными.

Во всех исследованных группах животных активность КФК была выше по сравнению с референсными значениями (табл. 2). Показано, что активность КФК коррелирует с тяжестью повреждения ткани и может служить маркером распространенности опухолевого процесса и ответа на терапию [22, 23].

При лечении животных Докс-PLGA активность КФК как общей, так и сердечной изоформы была статистически значимо ниже, чем в группе крыс, получавших доксорубицин, и у животных с глиобластомой без лечения (табл. 2). Таким образом, у животных, леченных Докс-PLGA, низкие показатели активности КФК связаны с замедлением опухолевого роста и меньшими повреждениями сердца, что согласуется с результатами морфологического исследования.

Показатели активности АСТ у животных, леченных Докс-PLGA, были ниже по сравнению с другими группами, что также свидетельствует о менее выраженном кардиотоксическом эффекте.

При морфологическом исследовании у крыс с глиобластомой 101.8 патологические изменения в печени

Таблица 1 | Table 1

Гематологические показатели крови у крыс Вистар с глиобластомой 101.8 при лечении доксорубицином и Докс-PLGA. Me (LQ-UQ) |

Hematological parameters of Wistar rats with glioblastoma 101.8 treated with doxorubicin and Dox-PLGA. Me (LQ-UQ)

Показатель Parameter	Группы наблюдения Observation groups		
	глиобластома без лечения glioblastoma untreated (1)	Докс Dox (2)	Докс-PLGA Dox-PLGA (3)
RBC $10^6/\text{мм}^3$ Эритроциты Red blood cell (6,65–7,62)*	6,50 (5,09; 7,56)	6,59 (4,37; 7,33) $P_{2-3} = 0,004$	7,61 (6,63; 8,46)
HGB г/л Гемоглобин Hemoglobin (149–173)*	121 (105; 149)	125 (103; 136) $P_{2-3} = 0,01$	143 (125; 155)
Plt $10^3/\text{мм}^3$ Тромбоциты Platelets (700–1429)*	600 (512; 651)	601 (520; 720) $P_{2-3} = 0,004$	808 (710; 1008) $P_{1-3} = 0,004$

* референсные значения | * reference values

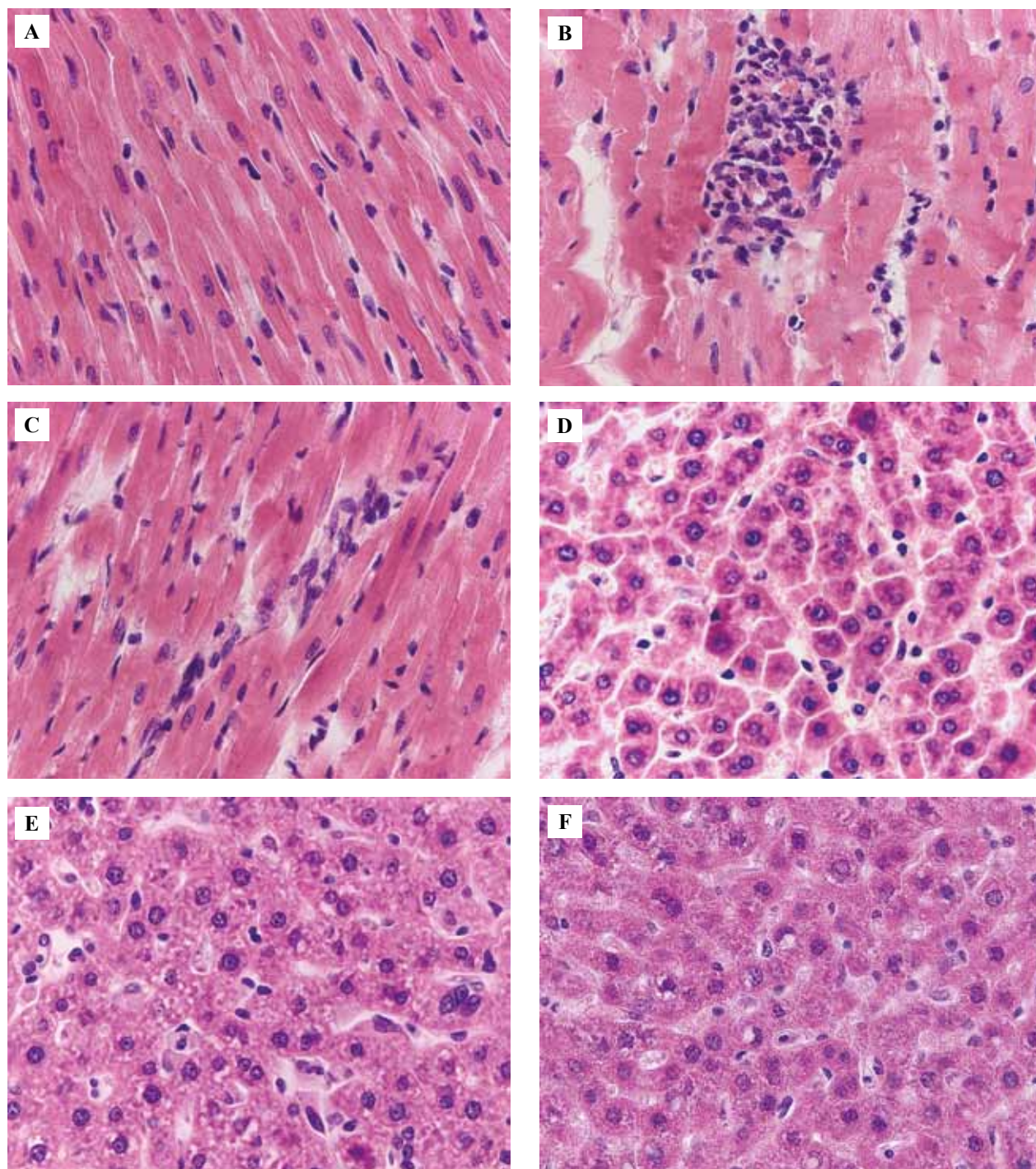


Рис. 1. Морфологическая характеристика миокарда (А–С) и печени (D–F) крыс с глиобластомой 101.8 (А), леченных доксорубицином (В, Е) и Докс-PLGA (С, F). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

А – нелеченные животные: кардиомиоциты с четко выраженной поперечной исчерченностью, ядра овальной формы волокна межмышечной соединительной ткани тонкие; В – очаг некроза кардиомиоцитов с воспалительной инфильтрацией, межучочный отек; С – очаговая лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация; D – нелеченные животные: гепатоциты с базофильной зернистостью цитоплазмы; Е – слабо выраженная вакуольная дистрофия гепатоцитов; F – единичные гепатоциты с вакуолями

Fig. 1. Morphological characteristics of the myocardium (A–C) and liver (D–F) of rats with glioblastoma 101.8, treated with doxorubicin (B, E) and Dox-PLGA (C, F). H&E stain, $\times 400$.

A – untreated animals: cardiomyocytes with clearly expressed cross striation, oval-shaped nuclei; intermuscular connective tissue fibers are thin; B – the cardiomyocyte necrosis focus with inflammatory infiltration; interstitial edema; C – focal lymphoid-histiocytic infiltration; D – untreated rats: hepatocytes with basophilic granularity of cytoplasm; E – weakly expressed hydropic degeneration of hepatocytes; F – single hepatocytes with vacuoles

Таблица 2 | Table 2

Показатели активности ферментов в сыворотке крови у крыс Вистар с глиобластомой 101.8 при лечении доксорубицином и Докс-PLGA. Me (LQ-UQ) | Enzyme activity indicators in the blood serum samples from Wistar rats with glioblastoma 101.8 treated with doxorubicin and Dox-PLGA. Me (LQ-UQ)

Показатель Indicator	Группы наблюдения Observation groups		
	глиобластома без лечения glioblastoma untreated (1)	Докс Dox (2)	Докс-PLGA Dox-PLGA (3)
КФК , Ед/л СРК , U/L (431–686)*	5200 (4096; 6179)	4811 (4286; 5682) $p_{2-3} = 0,0001$	2115 (1920; 2444) $p_{1-3} = 0,00003$
КФК-МВ , Ед/л СРК-МВ , U/L (0–120)*	2743 (1667; 2870) $p_{1-2} = 0,01$	1620 (1423; 1816) $p_{2-3} = 0,0004$	858 (719; 1169) $p_{1-3} = 0,0009$
АЛТ , Ед/л ALT , U/L (63–95)*	57 (46; 71) $p_{1-2} = 0,041$	70 (65; 71)	62 (57; 71)
АСТ , Ед/л AST , U/L (132–161)*	247 (196; 273)	225 (219; 231) $p_{2-3} = 0,002$	182,5 (166; 198) $p_{1-3} = 0,004$

* референсные значения (Ананич И.В. Биохимические характеристики крови крыс. Ветеринарная клиника. 2008;10:18–19)

* reference values (Ananich I.V. Biochemical characteristics of rat blood. Veterinarnaya klinika (Vet clinic). 2008;10:18–19)

не обнаружены. Дольковое и балочное строение было сохранено, гепатоциты – с мелкой базофильной зернистостью цитоплазмы (рис. 1 D). Внутри долек небольшое количество неэпителиальных клеточных элементов – клеток Купфера и лимфоцитов. При лечении крыс доксорубицином гепатоциты периферических отделов долек были с умеренной мелко- и средневакуольной дистрофией, более распространенной в периферических отделах долек (рис. 1 E). При лечении крыс Докс-PLGA дистрофические изменения гепатоцитов были менее выражены, чем при лечении доксорубицином. В периферических отделах долек выявлялось небольшое количество гепатоцитов со слабо выраженной мелковакуольной дистрофией (рис. 1 F). Активность АЛТ в сыворотке крови во всех исследованных группах не изменилась (табл. 2).

Полученные в эксперименте результаты по токсическому действию доксорубицина соотносятся с данными, в том числе, Р. Shivakumar et al. [24], которые показали, что доксорубин при его четырехкратном введении интактным крысам Вистар с интервалом в 7 дней вызывал морфологические изменения в сердце, почках и печени, сходные с выявленными нами [25, 26]. Результаты сравнительного анализа действия Докс-PLGA и доксорубицина в целом соотносятся с данными токсикологических исследований, которые проводились как на здоровых животных [27], так и на крысах с интракраниально имплантированной глиобластомой [20].

Выявленные нами патологические формы эритроцитов и повреждения миокарда при введении доксорубицина и Докс-PLGA сопоставимы с результатами оценки гемато- и кардиотоксичности, обнаруженными другими авторами [28]. Подобные изменения описаны при введении липосомальных форм доксорубицина [29]. Биоразлагаемый полимер PLGA одобрен FDA (Food and Drug Administration, Управление по санитарному над-

зору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США) и ЕМА (European Medicines Agency, Европейское медицинское агентство) для использования в системах доставки лекарств и вакцин у человека как один из наиболее эффективных благодаря контролируемому и длительному высвобождению связанного с ним лекарства, а также низкой токсичности и высокой биосовместимости с тканями и клетками [30]. Несмотря на то, что включение доксорубицина в PLGA-наночастицы не изменило качественные патоморфологические характеристики кардиотоксичности, оно привело к снижению распространенности и выраженности гепатотоксического и кардиотоксического эффекта.

Выводы

При лечении крыс с экспериментальной глиобластомой 101.8 Докс-PLGA по сравнению с доксорубицином по данным морфологического, гематологического и биохимического исследования оказывает менее выраженное токсическое действие.

В миокарде у животных, получавших Докс-PLGA, воспалительные изменения – очаговые некрозы, воспалительная инфильтрация и отек – были менее выраженными и распространенными, чем при лечении доксорубицином. При лечении глиобластомы 101.8 Докс-PLGA активность аспаратаминотрансферазы, общей и сердечной изоформ креатинфосфокиназы в сыворотке крови оказались статистически значимо ниже, чем у животных с глиобластомой без лечения и получавших доксорубицин.

В отличие от животных, леченных доксорубицином, при лечении крыс Докс-PLGA гепатотоксический эффект был минимальным и дистрофические изменения гепатоцитов оказались слабо выраженными. Активность АЛТ во всех группах не отличалась от референсных значений.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – В.В. Куделькина, О.В. Макарова, С.Э. Гельперина, О.О. Максименко, В.А. Разживина. Сбор и обработка материала – В.В. Куделькина, И.С. Цветков, А.С. Халанский. Статистическая обработка данных – В.В. Куделькина. Написание текста – В.В. Куделькина, О.В. Макарова, А.И. Алексеева, А.Ю. Шелков. Редактирование – О.В. Макарова, А.М. Косырева, И.С. Цветков, С.Э. Гельперина.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – V.V. Kudelkina, O.V. Makarova, S.E. Gelperina, O.O. Maksimenko, V.A. Razzhivina. Collected and processed the data – V.V. Kudelkina, I.S. Tsvetkov, A.S. Khalanskiy. Statistical analysis – V.V. Kudelkina. Wrote the paper – V.V. Kudelkina, O.V. Makarova, A.I. Alekseeva, A.Y. Shelkov. Edited the manuscript – O.V. Makarova, A.M. Kosyreva, I.S. Tsvetkov, S.E. Gelperina.

Литература/References

1. *Ostrom QT, Cioffi G, Gittleman H, Patil N, Waite K, Kruchko C et al.* CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2012–2016. *Neuro Oncol.* 2019;21(Suppl. 5):v1–v100. DOI: 10.1093/neuonc/noz150.
2. *Gallego O.* Nonsurgical treatment of recurrent glioblastoma. *Curr Oncol.* 2015;22(4):e273–81. DOI: 10.3747/co.22.2436.
3. *Siegel RL, Miller KD, Jemal A.* Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020;70(1):7–30. DOI: 10.3322/caac.21590.
4. *Rivankar S.* An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J Cancer Res Ther.* 2014;10(4):853–8. DOI: 10.4103/0973-1482.139267.
5. *Stan AC, Casares S, Radu D, Walter GF, Brumeanu TD.* Doxorubicin-induced cell death in highly invasive human gliomas. *Anticancer Res.* 1999;19(2A):941–50. PMID: 10368637.
6. *Gulyaev AE, Gelperina SE, Skidan IN, Antropov AS, Kivman GY, Kreuter J.* Significant transport of doxorubicin into the brain with Ps 80-coated nanoparticles. *Pharm Res.* 1999;16(10):1564–9. DOI: 10.1023/a:1018983904537.
7. *Steiniger SC, Kreuter J, Khalanski AS, Skidan IN, Bobruskin AI, Smirnova ZS et al.* Chemotherapy of glioblastoma in rats using doxorubicin-loaded nanoparticles. *Int J Cancer.* 2004;109(5):757–67. DOI: 10.1002/ijc.20048.
8. *Shimura T, Nakazawa S, Ikeda Y, Node Y, Kitamura T, Akutsu Y.* Histopathological study of a recurrent malignant glioma after an intratumor local injection of adriamycin. *Gan No Rinsho.* 1988;34(11):1537–43. PMID: 3184457.
9. *Henninger C, Huelsenbeck S, Wenzel P, Brand M, Huelsenbeck J, Schad A et al.* Chronic heart damage following doxorubicin treatment is alleviated by lovastatin. *Pharmacol Res.* 2015;91:47–56. DOI: 10.1016/j.phrs.2014.11.003.
10. *Merino VF, Cho S, Nguyen N, Sadik H, Narayan A, Talbot C Jr et al.* Induction of cell cycle arrest and inflammatory genes by combined treatment with epigenetic, differentiating, and chemotherapeutic agents in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2018;20(1):145. DOI: 10.1186/s13058-018-1068-x.
11. *Carryn S, Chanteux H, Serai C, Mingeot-Leclercq MP, van Bambeke F, Tulkens PM.* Intracellular pharmacodynamics of antibiotics. *Infect Dis Clin North Am.* 2003;17(3):615–34. DOI: 10.1080/10611860500411043.
12. *Yesair DW, Schwartzbach E, Shuck D, Denine EP, Asbell MA.* Comparative pharmacokinetics of daunomycin and adriamycin in several animal species. *Cancer Res.* 1972;32(6):1177–83. PMID: 5030818.
13. *Uma Mahesh B, Shrivastava S, Kuncha M, Sahu BD, Swamy CV, Pragada RR et al.* Ethanolic extract of *Boswellia ovalifoliolata* bark and leaf attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013;36(3):840–9. DOI: 10.1016/j.etap.2013.07.016.
14. *Gumulec J, Fojtu M, Raudenska M, Sztalmachova M, Skotakova A, Vlachova J et al.* Modulation of induced cytotoxicity of doxorubicin by using apoferritin and liposomal cages. *Int J Mol Sci.* 2014;15(12):22960–77. DOI: 10.3390/ijms151222960.
15. *McGuire WP, Penson RT, Gore M, Herraes AC, Peterson P, Shahir A et al.* Randomized phase II study of the PDGFR α antibody olaratumab plus liposomal doxorubicin versus liposomal doxorubicin alone in patients with platinum-refractory or platinum-resistant advanced ovarian cancer. *BMC Cancer.* 2018;18(1):1292. DOI: 10.1186/s12885-018-5198-4.
16. *Федосеева В.В., Постовалова Е.А., Халанский А.С., Разживина В.А., Гельперина С.Э., Макарова О.В.* Лекарственный патоморфоз глиобластомы 101.8 у крыс линии Wistar при лечении наноразмерной формой доксорубицина на основе полилактидных наночастиц. Современные технологии в медицине. 2018;10(4):105–112. DOI: 10.17691/stm2018.10.4.12.
17. *Fedoseeva VV, Postovalova EA, Khalansky AS, Razzhivina VA, Gelperina SE, Makarova OV.* Drug-Induced pathomorphosis of glioblastoma 101.8 in Wistar rats treated with doxorubicin bound to poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles. *Modern Technologies in Medicine.* 2018;10(4):105–112. DOI: 10.17691/stm2018.10.4.12.
18. *Maksimenko O, Malinovskaya J, Shipulo E, Osipova N, Razzhivina V, Arantseva D et al.* Doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles for the chemotherapy of glioblastoma: Towards the pharmaceutical development. *Int J Pharm.* 2019;572:118733. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.
19. *Son S, Rao NV, Ko H, Shin S, Jeon J, Han HS et al.* Carboxymethyl dextran-based hypoxia-responsive nanoparticles for doxorubicin delivery. *Int J Biol Macromol.* 2018;110:399–405. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.048.
20. *Steiniger SC, Kreuter J, Khalanski AS, Skidan IN, Bobruskin AI, Smirnova ZS et al.* Chemotherapy of glioblastoma in rats using doxorubicin-loaded nanoparticles. *Int J Cancer.* 2004;109(5):757–67. DOI: 10.1002/ijc.20048.
21. *Gelperina SE, Khalanski AS, Skidan IN, Smirnova ZS, Bobruskin AI, Severin SE et al.* Toxicological studies of doxorubicin bound to polysorbate 80-coated poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles in healthy rats and rats with intracerebral glioblastoma. *Toxicol Lett.* 2002;126(2):131–41. DOI: 10.1016/s0378-4274(01)00456-8.
22. *Shafei A, El-Bakly W, Sobhy A, Wagdy O, Reda A, Aboelenin O et al.* A review on the efficacy and toxicity of different doxorubicin nanoparticles for targeted therapy in metastatic breast cancer. *Biomed Pharmacother.* 2017;95:1209–18. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.059.

22. Wallimann T, Hemmer W. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. *Mol Cell Biochem.* 1994;133–134:193–220. DOI: 10.1007/BF01267955.
23. Wilson IJ, Burchell RK, Worth AJ, Burton SE, Gedye KR, Clark KJ et al. Kinetics of plasma cell-free DNA and creatine kinase in a canine model of tissue injury. *J Vet Intern Med.* 2018;32(1):157–164. DOI: 10.1111/jvim.14901.
24. Zeeshan M, Hamidi M, O'Keeffe T, Hanna K, Kulvatunyou N, Tang A et al. Pediatric liver injury: Physical examination, fast and serum transaminases can serve as a guide. *J Surg Res.* 2019;242:151–6. DOI: 10.1016/j.jss.2019.04.021.
25. Amacher DE. Serum transaminase elevations as indicators of hepatic injury following the administration of drugs. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1998;27(2):119–30. DOI: 10.1006/rtph.1998.1201.
26. Shivakumar P, Rani MU, Reddy AG, Anjaneyulu Y. A study on the toxic effects of Doxorubicin on the histology of certain organs. *Toxicol Int.* 2012;19(3):241–4. DOI: 10.4103/0971-6580.103656.
27. Pereverzeva E, Treschalin I, Treschalin M, Arantseva D, Ermolenko Y, Kumskova N et al. Toxicological study of doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles for the treatment of glioblastoma. *Int J Pharm.* 2019;554:161–78. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.11.014.
28. Zucchi R, Danesi R. Cardiac toxicity of antineoplastic anthracyclines. *Med Chem Anticancer Agents.* 2003;3(2):151–71. DOI: 10.2174/1568011033353434.
29. Soloman R, Gabizon AA. Clinical pharmacology of liposomal anthracyclines: focus on pegylated liposomal Doxorubicin. *Clin Lymphoma Myeloma.* 2008;8(1):21–32. DOI: 10.3816/clm.2008.n.001.
30. Mirakabad FS, Nejati-Koshki K, Akbarzadeh A, Yamchi MR, Milani M, Zarzhami N et al. PLGA-based nanoparticles as cancer drug delivery systems. *Review Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(2):517–35. DOI: 10.7314/apjcp.2014.15.2.517.

Информация об авторах

Вера Владимировна Куделькина – научный сотрудник лаборатории нейроморфологии НИИ морфологии человека.

Александр Сергеевич Халанский – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нейроморфологии НИИ морфологии человека.

Ольга Васильевна Макарова – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека.

Иван Сергеевич Цветков – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека.

Анна Михайловна Косырева – доктор биологических наук, заведующая лабораторией нейроморфологии НИИ морфологии человека.

Анна Игоревна Алексеева – младший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии НИИ морфологии человека.

Артем Юрьевич Шелков – лаборант-исследователь лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека.

Ольга Олеговна Максименко – кандидат медицинских наук, заместитель заведующей лабораторией систем доставки лекарств, ООО «Технология лекарств».

Виктория Александровна Разживина – кандидат биологических наук, руководитель отдела клинических исследований ООО «Технология лекарств».

Светлана Эммануиловна Гельперина – доктор химических наук, заведующая лабораторией систем доставки лекарств, ООО «Технология лекарств»; профессор кафедры химии и технологии биомедицинских препаратов Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева.

Author information

Vera V. Kudelkina – Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-2620-7427>

Aleksandr S. Khalanskiy – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-2575-7523>

Olga V. Makarova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0001-8581-107X>

Ivan S. Tsvetkov – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0003-0946-1105>

Anna M. Kosyeva – Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Neuromorphology, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-6182-1799>

Anna I. Alekseeva – Junior Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-0370-6477>

Artem Y. Shelkov – Research Assistant, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation, Research Institute of Human Morphology.

<https://orcid.org/0000-0002-5491-6802>

Olga O. Maksimenko – Cand. Sci. (Med.), Deputy Head of the Drug Delivery System Laboratory, LLC Drugs Technology.

<https://orcid.org/0000-0002-1230-4680>

Victoria A. Razzhivina – Cand. Sci. (Biol.), RCO Manager, LLC Drugs Technology.

<https://orcid.org/0000-0002-7826-9937>

Svetlana E. Gelperina – Dr. Sci. (Chem.), Head of the Drug Delivery System Laboratory, LLC Drugs Technology;

Professor of the Department of Chemistry and Technology of Biomedical Drugs, D.I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia.

<https://orcid.org/0000-0003-1113-6715>