

Progresses in Basic Studies and Clinical Application of Kanglaite Injection (KLT)

Li Dapeng
Zhejiang Kanglaite Pharmaceutical Co., Ltd

Abstract

Kanglaite Injeciton (KLT) is a novel type anticancer injection prepared by extracting its efficacious anticancer component from a Chinese crude drug/coix seed (Semen Coicis) with the world advanced technology and formulated into a lipid emulsion for intravenous as well as intra-arterial injection. Currently, KLT has been extensively used in more than 2,000 hospitals around the country. Experiences obtained from clinical applications have demonstrated that KLT is markedly effective in treating a variety of malignant tumors such as carcinomas at the sites of lung, liver, stomach and breast. Meanwhile, it significantly raise patient's immune functions and improve his quality of life: Combined with radio-chemotherapy, and intervention therapy can significantly improve its clinical therapeutic effect and reduce its incidence of toxic and side effects; An application of KLT before the operation can facilitate the apoptosis and necrosis of tumor, thus raising the healing rate of the operation; with regard to the advanced malignant tumors, KLT can effectively control cancerous pain, increase body weight and improve patient's quality of life. Moreover, there have been no harmful effects on cardiac, hepatic and renal functions and hematopoietic system as well as other severe adverse effects observed. This fact showed that KLT is safe as well as efficacious in the treatment of cancers and can be regarded as an ideal anti-cancer drug among the currently available comprehensive tumor therapies. In the meantime, an in-depth investigation into the mechanism of KLT's actions was performed by the extensive research institutes around the country. The results of these investigations have verified its mechanism as follows:

1. KLT inhibits the mitosis of tumor cells during G2/M Phases.
2. KLT induces apoptosis of tumor cells.
3. KLT affects the genetic expression of tumor cells by increasing FAS/Apo-1 gene expressing, which inhibits the growth of cancer cells and inhibiting Bel-2 gene express, which promotes the growth of cancer cells.
4. KLT markedly inhibits the formation of newly generated blood vessels.
5. KLT effectivley counteracts the cachexia of cancers.
6. KLT can reverse the multi-resistance of tumor cells to anti-tumor drugs and the resistance modification index (RMI) in some of chemotherapeutics can be increased to 50 folds.

The research on the mechanism of KLT's actions has brought about numerous achievements, which laid a theoretical basis for its clinical applications. The advent of KLT has changed people's conception on anticancer TCM and received the new idea and knowledge for the evaluation of the clinical therapeutic effect of antitumor agents.

ПРОГРЕСС В ОСНОВНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ И КЛИНИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА КАНГЛАЙТ ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ.

Ли Дапэн
ЗЕЙДЖИАНГ КАНГЛАЙТ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПАНИЯ, ЛТД

Резюме

Канглайт для инъекций (КЛТ) является новым типом противоопухолевых препаратов, приготовленным методом экстракции активных противоопухолевых компонентов из сырья семян китайского растения Semen Coicis, используемого в традиционной китайской медицине как противоопухолевое средство. Лекарствен-

ная форма КЛТ - ультраэмульсия, приготовленная по современной технологии для внутривенных и артериальных инъекций. КЛТ активно используется более чем в двух тысячах больниц Китая. Опыт клинического применения наглядно показывает, что КЛТ обладает существенной эффективностью при лечении различных видов опухолей, включая злокачественные забо-

левания лёгких, печени, желудка и молочной железы. В то же время, он существенно поднимает иммунные функции и улучшает качество жизни. В комбинации с лучевой и химиотерапией и вспомогательной терапией КЛТ демонстрирует значительное увеличение терапевтического эффекта и уменьшение его токсического действия и вреда для организма. Применение КЛТ перед операцией может вызывать апоптоз и некроз опухоли, таким образом увеличивая положительный эффект операции. КЛТ способен успешно противостоять кахексии, боли при раке, увеличивать вес тела и улучшать качество жизни пациентов. КЛТ не оказывает вредного действия на функции сердца, печени, почек и кроветворение. Это доказывает, что КЛТ и безопасен, и эффективен в лечении различных видов рака и может быть признан идеальным противоопухолевым препаратом среди известных и доступных в настоящее время терапевтических средств. КЛТ оказывает противоопухолевое действие по следующим механизмам:

1. КЛТ блокирует митоз опухолевых клеток на границе G2 и M фаз клеточного цикла;
2. КЛТ индуцирует апоптоз опухолевых клеток;
3. КЛТ влияет на экспрессию генов опухолевых клеток, увеличивая экспрессию Fas/Apo-1 гена, который ингибирует рост опухолевых клеток, и ингибируя экспрессию bcl-2 гена, являющегося промотором их роста;
4. КЛТ ингибирует ангиогенез, существенно уменьшая образование новых кровеносных сосудов;
5. КЛТ эффективно противодействует кахексии при раке;
6. КЛТ может преодолевать множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток, индекс преодоления устойчивости для некоторых видов химиотерапии может увеличиваться в 50 раз.

Появление КЛТ изменило концепцию клинических методов противоопухолевой терапии и принесло новые идеи и знания в оценке клинического терапевтического эффекта противоопухолевых препаратов.

Введение

Систематическое исследование противоопухолевого препарата из растения *Semen Coicis* было начато в 1976 году профессором Ли Дапэн, который занимался изучением лекарственных трав, используемых в традиционной китайской медицине, экстракцией и очисткой их активных компонентов, разработкой технологий производства, контроля качества и фармакологического тестирования. Впоследствии учёные многих медицинских и фармацевтических научно-исследовательских институтов включались изучение фармакодинамики, токсикологии, фармакокинетики, механизма действия и клинические исследования.

В 1995 году препарат Конглайт для инъекций (КЛТ) получил сертификат Нового лекарственного средства Государственного Фармакопейного Комитета и Министерства Общественного Здоровья Китая, а в 1997

году - официальное разрешение на производство и продажу. В настоящее время КЛТ широко используется в больших и средних больницах Китая. В течение многих лет по объёму продаж КЛТ был признан первым в списке отечественных противоопухолевых препаратов на внутреннем рынке. Он также был удостоен Правительством Китая наименования «Ключевой новый препарат государственного масштаба». КЛТ уже успешно применялся для терапии злокачественных опухолей лёгких, печени, желудка, пищевода, кишечника, панкреатической железы, почек, яичников, лимфомы, лейкемии. В настоящее время препарат получили более чем 300 тысяч пациентов.

Цитостатическое воздействие КЛТ на опухолевые клетки *in vitro* и *in vivo*

Профессор Ли Биншен и его коллеги из Шанхайского института фармацевтической промышленности провели систематическое фармакологическое изучение КЛТ. Их исследования показали, что КЛТ обладает сильным цитостатическим действием на клеточные линии многих видов опухолей в тестах *in vitro*, такие, как лейкозы мышей P388, L1210, человеческой карциномы шейки матки HelaS3, рака кишечника человека M7609. Индекс гибели клеток IC50 на этих моделях составляет 15,1µл/мл, 28,8µл/мл, 12,5µл/мл и 11,9µл/мл, соответственно. Если концентрация КЛТ превышает 50 µл/мл, то размножение клеток этих линий почти полностью ингибируется. В экспериментах по оценке эффективности подавления роста перевиваемых опухолей мышей было показано, что КЛТ оказывает сильное ингибирующее действие на клетки карциномы лёгких Льюис, метастазирующей меланомы B16, саркомы W256. Противоопухолевый эффект был дозо-зависимым [1]. У бестимусных мышей с ксенотрансплантатами карциномы печени (QGY), которым вводили 25 мг/кг КЛТ внутривенно 10-кратно, индекс гибели клеток составил 83,3% [2]. В других экспериментах голым бестимусным мышам с перевитыми человеческими опухолями лёгких (SPC), кишечника (M7609), молочной железы (Vcap-37) вводили по 25 мг/кг КЛТ внутривенно. Уровень ингибирования роста опухоли составил 62,4 %, 57,2 % и 50,0 %, соответственно .

Профессор Ху Бин, директор Консультационного Центра по противоопухолевым препаратам Шанхайского института Материя Медика, исследовал ингибирующий эффект КЛТ *in vitro* на клетках линий человеческой карциномы яичников 3АО. Результаты экспериментов показали, что IC50 КЛТ для клеток 3АО составляет 47 µг/мл. При введении КЛТ в дозах 25 мг/кг мышам с ксенотрансплантатами 3АО в надпочечники был достигнут отличный терапевтический эффект.

КЛТ усиливает иммунные функции организма

Исследования, проведённые в Шанхайском институте фармацевтической промышленности, показали,

что КЛТ, подобно действию лентинана, может существенно стимулировать размножение лимфоцитов селезенки мышей *in vitro*, при этом наблюдается линейная зависимость стимуляции пролиферации от концентрации препарата. Подобным же образом КЛТ стимулирует пролиферацию лимфоцитов селезенки у мышей с лейкемией L1210 *in vivo*, при этом эффект возрастает с увеличением дозы. В экспериментах по определению действия КЛТ на активность естественных киллеров (NK-клеток) *in vivo* у мышей с лейкемией L1210 обнаружили стимуляцию активности ТЛ-клеток. Аналогичное действие оказывал лентинан. Экспериментальные результаты показали, что необходимая для активации NK-клеток доза КЛТ составляет 25 мг/кг. Активация интерлейкина-2 (IL-2) у мышей с перевитыми опухолями при введении КЛТ (10 мг/кг) оказалась почти в 2,5 раза выше, чем под действием лентинана. В дозах 6,25 мл/кг и 12,5 мл/кг КЛТ сильно активирует фагоцитоз макрофагов. Кроме того КЛТ способен стимулировать у макрофагов секрецию интерлейкина-1 (IL-1). Контрольные эксперименты показали, что КЛТ действует гораздо сильнее, чем иммуномодулятор Бестатин.

В эксперименте по определению воздействия КЛТ на противоопухолевое действие лимфокин-активированных киллеров (Lak-клетки), исследователи обнаружили, что активность Lak-клеток против опухолевых клеток, обработанных КЛТ, была намного выше, чем против контрольных необработанных клеток. Активность NK-клеток также возрастает при обработке клеточной мишеней КЛТ.

Синергизм и уменьшение токсичности при комбинации КЛТ с химиотерапией

Специалисты Шанхайского института фармацевтической промышленности провели ряд экспериментов на животных по изучению синергического действия и токсичности химиопрепаратов при комбинированной с КЛТ. Результаты показали, что при комбинации КЛТ (20 мл/кг) с малыми дозами циклофосфамида (CTX, 10 мг/кг) индекс гибели клеток солидной опухоли W256 составил 72,4 %, Эффективность CTX в монорежиме при той же дозе и способе введения составляет только 38,58 %. КЛТ (25 мл/кг) в комбинации с DNAD (2мг/кг) увеличивает индекс гибели с 50 % (DNAD) до 67 % (DNAD + КЛТ). В то же время КЛТ заметно восстанавливает угнетенное кроветворение, лейкоцитоз, устраняет расстройства функций печени и почек, вызываемых химиопрепаратами. Эти эксперименты подтверждают, что комбинация КЛТ с химиотерапией может не только увеличивать терапевтический эффект, но и существенно снижать токсичность. При использовании CTX в монорежиме лейкоцитоз у мышей снижался до $27 \times 10^9/\text{мм}^3$, в то время как при комбинации с КЛТ лейкоцитоз поддерживался на уровне $68 \times 10^9/\text{мм}^3$ как и у контрольных мышей ($64 \times 10^9/\text{мм}^3$). КЛТ также способен уменьшать уровень лейкоцитоза, вызванный харрингтонином. У нормальных животных лейкоцитоз

после обработки харрингтонином, снижался до $44 \times 10^9/\text{мм}^3$, а при комбинации с КЛТ его удавалось поддерживать на уровне $81-96 \times 10^9/\text{мм}^3$ (в контрольной группе - $88 \times 10^9/\text{мм}^3$). В другом эксперименте химиотерапевтические препараты 5-фторурацил (5-Fu), циклофосфамид (CTX), дихлордиаминплатину (DDP) комбинировали с КЛТ. При комбинации КЛТ с химиопрепаратами лейкоцитоз у мышей оставался на уровне нормы, даже при действии высоких доз химиопрепаратов. Функции печени (ALT), почек (BUN) также поддерживались на нормальном уровне, по сравнению с химиотерапией в монорежиме [3].

Действие КЛТ на клеточный цикл

Экспериментальные результаты воздействия КЛТ на клеточный цикл были получены проф. Yang Hua и соавт [3, 4]. Они подтвердили способность КЛТ дозозависимым образом тормозить прогрессию клеточного цикла в человеческой эритробластной линии клеток K-562. При обработке 1 $\mu\text{л}/\text{мл}$ в течение 48 часов процент клеток, находящихся в S и G2+M фазах существенно увеличивался, в то время как количество клеток в G1 фазе сокращалось. При увеличении дозы до 5 $\mu\text{л}/\text{мл}$ процент клеток в S фазе уменьшался, а клеток в G2+M фазе возрастал. При увеличении дозы до 10 $\mu\text{л}/\text{мл}$ процент клеток в S фазе уменьшался до 11,6 % по сравнению с контролем, а количество клеток в G2+M фазе увеличивалось в 11 раз. Когда дозу увеличивали до 50 $\mu\text{л}/\text{мл}$, все клетки погибали и было невозможно анализировать их распределение по фазам клеточного цикла. Эти результаты показывают, что механизм действия КЛТ заключается в ингибировании прогрессии клеточного цикла на границе G2 и M фаз. При этом уменьшается количество клеток, входящих в G0 и G1 фазы, уменьшается процент клеток в S фазе, количество митозов и, соответственно, прекращается деление опухолевых клеток, которое приводит к вхождению их в апоптоз [4]. Данное исследование доказывает, что один из механизмов противоопухолевого действия КЛТ заключается в ингибировании митоза и пролиферации опухолевых клеток.

Индукция апоптоза опухолевых клеток под действием КЛТ

Считается, что причина развития злокачественных опухолей заключается в неконтролируемом делении раковых клеток и задержкой апоптоза. Изучение механизмов, препятствующих апоптозу, является одним из ведущих направлений в современной онкологии. Препараты, индуцирующие апоптоз в опухолевых клетках, открыли новый подход в лечении рака. Yang Hun и соавт. [4], Shen Wenjiang и соавт [5] провели экспериментальное исследование индукции апоптоза в клетках линии K562 с помощью КЛТ. Апоптоз регистрировали методами TUNEL и Annexin V Данное исследование наглядно показало, что клетки человеческого эритролейкоза K562 после обработки 10 $\mu\text{л}/\text{мл}$ эмуль-

сии КЛТ в течение 6 часов входят в апоптоз. При повышении дозы КЛТ наблюдается повреждение клеточной мембраны и клетки погибают путем некроза. КЛТ в дозе 10 $\mu\text{л/мл}$ также индуцирует апоптоз в клетках солидной опухоли кишечника человека SW1116. Однако, процент положительных TUNEL-меченных клеток уменьшается с увеличением дозы КЛТ. Было также обнаружено, что после обработки КЛТ ультраструктура опухолевых клеток сильно меняется, наблюдается сильная дегенерация вакуолей, конденсация хроматина, появление гранул апоптоза, эти изменения являются морфологическими характеристиками клеточного апоптоза. В этих экспериментах большинство культур клеток оказались чувствительны к индукции апоптоза КЛТ, за исключениями линия рака кишечника Colo 205.

She Tingzhang и соавт. использовали методы морфологической цитофлуориметрии, горизонтального электрофореза и Annexin V для определения индукции апоптоза, а также обратную полимеразную цепную реакцию (RT-PCR) для определения изменения экспрессии генов Fas/Apo-1, bcl-2, c-myc и других связанных в апоптозом генов. Экспериментальные результаты показали, что: индуцируемый КЛТ апоптоз не наблюдался на линии клеток человеческой аденокарциномы лёгких LA549, но был обнаружен на линии острого промиелоцитарного лейкоза HL60. В процессе апоптоза клеток HL60 повышался уровень транскрипции гена Fas. Экспрессия гена c-myc слабо изменилась.

Shen Wenjiang и соавт. [5] метод TUNEL-метод для определения апоптоза в клетках рака почек. Обнаружили, что КЛТ ингибирование рост клеток рака почек в дозе 19,31 $\mu\text{л/мл}$. КЛТ в дозах 5 $\mu\text{л/мл}$ и 10 $\mu\text{л/мл}$ был эффективен в индукции апоптоза. Процент апоптотических клеток карциномы почек составил 89,6 % в опытной группе по сравнению с 31,30 % в контроле. Однако, с увеличением концентрации КЛТ число апоптотических клеток резко сокращалось. В дозах 15 $\mu\text{л/мл}$ и 20 $\mu\text{л/мл}$ КЛТ процент апоптотических клеток был менее 10% [5]. Авторы заключили, что существует тесная зависимость между концентрациями КЛТ и индукцией апоптоза или некроза.

Влияние КЛТ на экспрессию онкогенов

Shen Wenjiang и соавт. [5] использовали МТТ-тест для определения цитостатического эффекта КЛТ на клетки карциномы почек, а также иммуно-гистохимическое окрашивание для анализа действия КЛТ на экспрессию генов p53 (ген-супрессор) и bcl-2 (прото-онкоген). Индекс ингибирования экспрессии (LI) p53 в группе КЛТ был 16,8 %, в то время как в контроле его экспрессия не наблюдалась; LI экспрессии bcl-2 в контрольной группе был 25 %, а при обработке 10 $\mu\text{л/мл}$ КЛТ - 6,6 %. Результаты показывают, что индуцируемый КЛТ апоптоз опухолевых клеток может находиться под положительной регуляцией экспрессии p53 и отрицательной регуляцией экспрессии bcl-2 генов.

Yang Hua и соавт. [4] провели исследование влияния КЛТ на экспрессию Fas гена на поверхности клеток линии Colo 205, которая оценивалась RT-PCR методом. Клетки предварительно обрабатывали КЛТ в течение 4 часов и затем инкубировали 24 часа. КЛТ увеличивал экспрессию Fas гена. В контроле PCR-продукт этого гена (0,46 kb) не наблюдался. Для оценки экспрессии Fas на поверхности клеток линии Colo 205 до и после предварительной обработки КЛТ использовался метод иммунофлуоресцентной цитофлуориметрии. Уровень экспрессии Fas-антигена на поверхности клеток Colo 205 до предварительной обработки КЛТ был $21,1 \pm 3,4$ %, после обработки он увеличился до $60,4 \pm 7,8$ %. Моноклональные антитела против антигена Fas/APO-1 индуцировали апоптоз в активированных КЛТ клетках [4].

Вышеуказанные эксперименты также позволяют предположить, что КЛТ отрицательно регулирует экспрессию bcl-2, промотора пролиферации опухолевых клеток, и одновременно положительно регулирует экспрессию p53, ингибитора роста клеток рака. Этот результат заслуживает дальнейшего изучения.

Действие КЛТ на ангиогенез

Ангиогенез служит основой быстрого роста и метастазирования злокачественных опухолей. Ингибирование образования новых кровеносных сосудов стало одним из основных направлений в онкологических исследованиях. Zhang Liang и соавт., которые провели изучение влияния КЛТ на ангиогенез [7]. В этой работе использовалась бессывороточная культуральная среда (DMEM/HAMF12, 1:1), в которой культивировали клетки дуги аорты в трёхмерном геле в течение 28 дней. Опыт разделили на три группы: контрольная, обрабатываемая 0,1 мг/мл витамина E, обрабатываемая 10 $\mu\text{л/мл}$ КЛТ. Каждая группа включала по 8 дуг аорты. Состояние ангиогенеза наблюдали с помощью инвертированного микроскопа. Результаты показали, что КЛТ существенно ингибирует образование новых кровеносных сосудов, увеличивает скорость деградации сосудов, входящих в фазу регрессии. Ингибирующий эффект КЛТ был намного выше, чем у витамина E [7]. Результаты указывают, что ингибирование ангиогенеза является одним из механизмов противоопухолевого действия КЛТ.

Wei Pinkang и соавт. наблюдали влияние КЛТ на ангиогенез, используя модель мембраны аллантаоиса куриного эмбриона. Он обнаружил свойство КЛТ ингибировать деление эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, процесс, который индуцируется опухолевыми клетками, подавлять миграцию эндотелиальных клеток сосудов и образование новых сосудов в мембране аллантаоиса куриного эмбриона.

Анти-кахексическое действие КЛТ

Кахексия при раке - одно из основных осложнений у пациентов в тяжёлых стадиях развития заболевания.

Её главные симптомы - это потеря аппетита, предельное истощение, анемия, слабость и прикованность к постели. Приблизительно 50 % онкологических больных в последних стадиях рака погибают от кахексии. Поэтому так важно исследовать её механизм, разработать эффективные методы борьбы, чтобы улучшить качество жизни пациентов. Сейчас международный уровень знаний о появлении и развитии кахексии определяет её причину, как ненормальный уровень содержания в сыворотке крови цитокинов, таких как TNF-, IL-1 и IL-6.

Li Tongdu с коллегами провели экспериментальное исследование противо-кахексического действия КЛТ при раке. В своей работе они создали модель кахексии, перевивая мышам Т 739 опухоль LA795 (мышинная аденокарцинома лёгких) и наблюдали изменение веса тела, снижение приёма пищи, развитие опухолей. У кахексических мышей в группе, получавшей КЛТ, и контрольной группе в сыворотке крови был измерен уровень цитокинов, имеющих отношение к развитию кахексии. Результаты эксперимента подтвердили, что начиная с 14-го дня после прививки опухолевых клеток у мышей развивалась кахексия. В это время больные мыши входят в фазу кахексии, выражающуюся в уменьшении потребления пищи, воды, снижении веса тела и т.д. Мышам постоянно давали лекарство в течение 1 недели, потребление пищи и вес тела явно восстановились, и по этим показателям не было существенной разницы со здоровыми животными. Однако по сравнению с группой кахексических мышей, не получавших лечение КЛТ, наблюдалась большая разница ($p < 0,01$). Патологическое обследование также показало, что после лечения животных КЛТ рост опухолей в основном прекратился. Более того, у части мышей появилось разжижение и некроз опухолей, а продолжительность их жизни увеличилась. Лабораторные исследования содержания цитокинов, ассоциированных с кахексией, принесли неожиданный результат: уровень интерлейкина-6 в сыворотке крови пролеченных КЛТ мышей не только не сократился, но, наоборот, сильно вырос и более чем в два раза превысил таковой показатель у контрольной группы [8]. Этот феномен совершенно опровергает точку зрения о том, что вслед за лечением кахексии, уровень IL-6 в сыворотке крови должен уменьшаться одновременно с уровнями TNF- и IL-1.

Преодоление множественной лекарственной устойчивости под действием КЛТ

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) - одна из важных причин конечного отсутствия терапевтического эффекта химиотерапии рака. Согласно точке зрения большинства учёных, появление МЛУ связано с повышением экспрессии Р-гликопротеина на поверхности опухолевых клеток. Функция Р-гликопротеина заключается в выбрасывании препарата, попавшего внутрь опухолевой клетки, наружу, таким

образом накопление лекарства в клетках уменьшается, и это приводит к проявлению феномена МЛУ. Вещества, преодолевающие МЛУ, ингибируют действие Р-гликопротеина и восстанавливают чувствительность опухолевых клеток к химиотерапии.

Верапамил (VER) в комбинации с химиотерапией ревертирует МЛУ опухолевых клеток. Однако, его токсичность ограничивает его интенсивное использование в клинической практике. Большое количество экспериментов по клинической фармакологии подтвердило, что КЛТ в комбинации с химиотерапевтическими средствами обладает хорошим синергическим действием в борьбе с клетками опухолей и очевидно повышает терапевтический эффект при снижении токсичности и побочных эффектов химиопрепаратов. Zheng Shu и Yang Hua исследовали влияние КЛТ на МЛУ опухолевых клеток [9]. Результаты их исследования продемонстрировали, что устойчивая линия человеческого эритробластного лейкоза K562/vcr - типичная МЛУ-линия с очень сильной устойчивостью к различным химиотерапевтическим агентам, включая растительные препараты (винкристин, харрингтонин), препараты антраценового ряда (доксорубин, этопозид), антибиотики (митомин). Она слегка резистентна и к КЛТ: IC50 для КЛТ на исходных клетках K562 был 38,5 μ л/мл, а на устойчивой линии K562/vcr - 136,4 μ л/мл. Результаты также показали, что IC50 для доксорубина (DOX) на K562 составляет 0,9 μ л/мл, а на K562/vcr - 30 μ л/мл, что в 33 раза выше, чем для чувствительной линии. Если КЛТ использовался в комбинации с DOX в концентрации КЛТ 2 μ л/мл, IC50 для DOX на K562/vcr составила всего лишь 0,705 μ л/мл; если концентрацию КЛТ повышали до 4 μ л/мл, IC50 для DOX на K562/vcr снижалась до 0,664 μ л/мл; если концентрацию КЛТ повышали до 8 μ л/мл, IC50 для DOX на K562/vcr составляла только 0,555 μ л/мл. Эти результаты дают основание думать, что для достижения одинакового терапевтического эффекта при вышеуказанных разных концентрациях КЛТ требуемая доза DOX может быть уменьшена во много раз (индекс изменения резистентности RMI для различных концентраций DOX составил 42,6; 45,2 и 54,1 соответственно). Результаты также показывают, что комбинативная терапия КЛТ с DOX совершенно преодолевает устойчивость линии K562/vcr к доксорубину. Более того, КЛТ таким же образом преодолевает устойчивость к другим химиотерапевтическим препаратам на иных линиях с МЛУ. Это открытие стало очень полезным в клинической практике для решения проблем химиотерапевтической устойчивости опухолей и уменьшения токсичности химиотерапии.

Все приведённые выше исследования свидетельствуют, что механизм противоопухолевого действия КЛТ многогранен. КЛТ задерживает клеточный цикл на границе фаз G2/M, ингибирует ангиогенеза сосудов опухолей, влияет на экспрессию онкогенов, регулирует уровень цитокинов в сыворотке крови, преодо-

лежит лекарственной устойчивости к цитостатическому и цитотоксическому эффектам, ингибирует рост и метастазирование опухолей.

Клинические исследования КЛТ

С 1995 года широкомасштабные клинические исследования показали, что КЛТ не только оказывает цитостатическое воздействие на опухолевые клетки, но также стимулирует иммунитет, проявляет синергическое действие и снижает токсичность при комбинации с химио- и лучевой терапией. Он также облегчает боль, улучшает качество жизни пациентов и увеличивает продолжительность выживания. Он действительно является идеальным противоопухолевым препаратом в Китае.

Лечение первичной карциномы лёгких при помощи КЛТ

Piao Bingkui и соавт. лечили первичную бронхо-лёгочную карциному при помощи КЛТ [10]. Результаты показали, что уровень терапевтического эффекта у пациентов, получавших монотерапию КЛТ и традиционную химиотерапию существенно не различались. Полная ремиссия (CR) + частичная ремиссия (PR) составляет 12,15 % (26/214 больных) при лечении КЛТ; а в контрольной группе больных, леченных только химиотерапией частота CR+PR составила 14,29 % (13/91). У леченных КЛТ больных уменьшился кашель, кровохарканье, боль в груди, лихорадка, слабость и анорексия. Также было обнаружено, что КЛТ проявил определённые иммуностимулирующие свойства: увеличил активность NK-клеток и уровень IL-2 в крови, улучшил соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов.

Лечение немелкоклеточной карциномы лёгких (NSCLC) комбинацией КЛТ с химиотерапией.

Комбинативное лечение КЛТ с химиотерапией (PVM-схема) проводили Chu Datung и соавт. [11] Результаты клинических наблюдений перечислены ниже: уровень терапевтического эффекта у пациентов, получавших PVM + КЛТ составляет 45% (18/40); группа контрольной химиотерапии - 22 % (7/32); наблюдалась существенная разница между этими двумя группами. Этот результат подтверждает синергизм действия КЛТ в комбинации с химиотерапией, который сильно увеличивает терапевтический эффект химиопрепаратов в лечении немелкоклеточной карциномы лёгких. Из различных лабораторных исследований стало понятно, что КЛТ улучшает общее состояние пациентов, восстанавливает и повышает количество тромбоцитов в крови.

Лечение КЛТ первичной карциномы печени

Клиническое наблюдение терапевтического эффекта КЛТ при лечении первичной карциномы печени было выполнено Li Peiwen и соавт. [12] Результаты лечения показали, что уровень терапевтического эффекта КЛТ в монорежиме при лечении карциномы печени состав-

ляет 11,42 %; а в группе химиотерапии (PAF-режим) - 9,8 %. КЛТ существенно улучшил симптомы заболевания. Общий уровень его эффективности составил 89,95 %. Кроме всего прочего, КЛТ улучшил качество жизни пациентов и усилил иммунные функции. Также было показано, что КЛТ не угнетает костномозговое кроветворение, не нарушает функции печени и почек, побочные эффекты, такие как тошнота, лихорадка, были умеренными и спонтанно исчезали.

Лечение первичной карциномы печени и первичной карциномы лёгких комбинацией КЛТ с интервенционной химиотерапией (КЛТ+ИТ)

Химиотерапия через канюляцию артерий стала быстро развивающимся в последние годы методом лечения злокачественных заболеваний. Однако часто пациенты не выдерживают введение больших доз химиопрепаратов из-за их высокой токсичности и побочных эффектов, и поэтому упускается время, что ведёт к снижению терапевтического эффекта. Интервенционная химиотерапия (ИТ) - один из новых и наиболее важных методов лечения карцином печени и лёгких на сегодняшний день. Qian Mingshan и соавт. провели в рамках III-ей фазы клинических испытаний комбинированную терапию КЛТ и интервенционной терапии лечение первичной карциномы печени и первичной карциномы лёгких [13]. Клинические наблюдения включают 198 случаев первичной карциномы печени. Уровень терапевтического эффекта у пациентов, получавших КЛТ+ИТ (CR+ PR), достигал 69,23 % (90/130); уровень эффективности ИТ без КЛТ - 38,23 % (26/68). Улучшения в группе КЛТ+ИТ выражались также в симптомах по шкале Карновского, восстановлении веса тела и функции иммунитета, лейкоцитоза, которые были намного лучше, чем в группе ИТ-терапии [13].

Комбинация КЛТ и лучевой терапией в лечении злокачественных новообразований

Комбинация КЛТ с лучевой терапией была изучена Shen Weujiang и соавт [14]. Они использовали этот метод для лечения карцином лёгких, влагиалища, пищевода и т.д. 190 пациентов были разделены на две группы: комбинация КЛТ с лучевой терапией (104 случая) и монорadiотерапия (86 случаев). В первой группе КЛТ вводили внутривенной инфузией по 100 мл/сутки, всего было введено 2000 мл ультраэмульсии. В группе лучевой терапии применялась рутинная схема лечения: 200сGy одновременно, один раз в сутки, 5 раз в неделю, общая доза 6000сGy. Результаты лечения были следующими. Уровень терапевтической эффективности комбинации КЛТ и лучевой терапии (CR+PR) достигал 82,2 % (83/101), а в контрольной группе (CR+PR) - 60,4 % (52/86). При комбинации КЛТ с лучевой терапией фактор эффективности был равен 1,36 (82,2%/60,4%) [14].

Комбинация КЛТ с хирургическим лечением злокачественных опухолей

Fu Yu и соавт. лечили онкологических больных комбинацией КЛТ с оперативным удалением опухолей. КЛТ вводили по 200 мл внутривенно 1 раз в сутки в течение 10 дней. Затем на 3-7 день после лечения больных оперировали. По результатам гистологического исследования после операции стало ясно, что у больных, получавших терапию КЛТ, появилась большая зона некротизированной опухолевой ткани. Из них те, у кого некроз опухолевой ткани достиг 25%, составили 62,22 % (28/45) от общего числа больных. В контрольной группе пациентов, не получавших КЛТ, эта величина была 26,67 % (8/30). Пациенты, у которых некроз опухолевой ткани достиг 50%, в КЛТ-группе составили 28,9 % (13/45), а в контрольной группе - 13,3 % (4/30), разница между группами статистически значительная [15].

Обезболивающий эффект КЛТ и улучшение качества жизни пациентов

Li Tongdu и соавт. в процессе проведения III-й фазы клинических испытаний КЛТ оценили его действие на улучшение качества жизни пациентов. 376 пациентов III - IV стадий дали добровольное согласие на лечение КЛТ. Из них в 328 случаях больные жаловались на боль. Это были больные с карциномами лёгких, печени, молочной железы, пищеварительного тракта и т.д. В результате: лечения КЛТ уровень ослабления боли был 80,49% (из них PR 56,1%, CR 24,39%). Для боли разной степени выраженности (умеренная, средняя, сильная) уровень ослабления умеренной боли был 100% (62/62), уровень ослабления средней боли 86,18% (131/152), сильной боли 62,28% (71/114). Было обнаружено, что боль постепенно уменьшается с 1-3 дня введения лекарства. Среди этих больных 96 использовали анальгетики морфинового типа, в 31 случае доза морфина была снижена в курсе терапии и в конце совсем отменена. Отмена анальгетиков стала возможной в 32,29 % случаев (31/96). Ослабление боли сохранялось в течение 1-7 дней после прекращения введения препарата. Среди пациентов, получавших терапию КЛТ, 92,02% (346/376) имели более высокие показатели по шкале Карновского, из них те, чьи показатели выросли более чем на 20%, насчитывали 76,60% (288/376), оценка уровня качества жизни составила 91,22% (343/376). В то же время исследование показало, что из пациентов, получавших терапию КЛТ, вес тела увеличился у 42,29% (159/376) и вес тела стабилизировался у 52,13% (196/376) [16].

Заключение

В 2000 году применение КЛТ как Нового лекарственного средства для лечения онкологических заболеваний было рассмотрено Ассоциацией по Пищевым и Лекарственным Веществам (FDA) Соединённых Штатов. После строгой экспертной оценки согласно

требованиям FDA и анализа 15 специалистами было разрешено начало клинических испытаний в США. Основные критерии качества КЛТ не только удовлетворяли всем требованиям, предъявляемым к инъекционным препаратам Фармакопейным Комитетом США (качество распределения по размерам гранулярных частиц эмульсии оказалось выше, чем у двух препаратов, производимых в США), но характерный спектр содержания компонентов лекарственного вещества достигал уровня контроля для западных препаратов.

В 2002 г КЛТ разрешен Фармакологическим комитетом Российской Федерации для лечения рака легких.

В заключении, на большом количестве клинических исследований было доказано, что КЛТ обладает отличным терапевтическим эффектом на различных видах злокачественных опухолей, включая рак лёгких, печени, карцинома желудка, рак молочной железы, и т.д. и существенно стимулирует иммунные функции, улучшает качество жизни пациентов; комбинация КЛТ с лучевой и химиотерапией или с интервенционной терапией увеличивает клиническую эффективность лучевой и химиотерапии, уменьшает её токсичность и побочные эффекты; послеоперационное применение КЛТ может увеличивать чувствительность к лучевой и химиотерапии; КЛТ стимулирует апоптоз и некроз опухолевой ткани, что увеличивает успех операций. Мы не обнаружили каких-либо свидетельств вредного воздействия на функции сердца, печени, почек и гематопозитической системы и других серьёзных побочных реакций, что доказывает его безопасность и эффективность. Поэтому Канглайт можно считать идеальным противоопухолевым препаратом среди современных химиотерапевтических средств.

Список литературы

1. Li Bingsheng et al.// Proceedings of the 7th Academic Meeting of Chinese Pharmacological Society. Division of Pharmaceutical Industrial pharmacology. -1996.-P 52.
2. Li Bingsheng et al.// Proceedings of the 7th Academic Meeting of Chinese pharmacological Society. Division of pharmaceutical Industrial pharmacology.- 1995.-P. 52.
3. Yang Hua et al. //Collection of the Studies of Kanglaite Injection Against Tumors [M] Zhejiang University Press, Zhejiang,- 1998,- P/107-109.
4. Yang Hua et al.// Collection of the Studies of Kanglaite Injection Against Tumors [M]. Zhejiang University Press, Zhejiang,- 1998.- P. 110-114.
5. Shen Wenjiang et al. Studies on the Apoptosis of Renal Cancer Cells Induced by KLT Injection and Its Effect on the Expression of P53 and bcl-2, // Chinese Journal of Clinical Oncology.- 1999.- 26(6).- P. 439-442.
6. Jin Hongchuan et al. Study on Biological sensitivity Enhancing Effect of Kanglaite Injection in Human Colon Carcinoma Cells, // Journal of Practical Oncology.- 1999,- 14(5). - P.308-310.
7. Zhang Liang et al. Effect of Kanglaite Injection on

- Angiogenesis.// Journal of Oncology.- 2000. - 20(4). - P. 313-314.
8. Li Tongdu et al. Experimental Study of the Counteractive Effect of Kanglaite Injection on Cancerous Cachexia. //Chinese Journal of Clinical Oncology.- 1998.0 25(2).- P. 131.
9. Zheng Shu et al.// Collection of the Studies of Kanglaite Injection Against Tumors [M], Zhejiang University Press, Zhejiang.- 1998.- P. 115-118.
10. Piao Bingkui et al.// Collection of the Studies of Kanglaite Injection Against Tumor. [M],Zhejiang University Press, Zhejiang. - 1998.- P. 152-168.
11. Chu Datong et al. Collection of the Studies of Kanglaite Injection Against Tumors [M], Zhejiang University Press Zhejiang.- 1998.- P. 192-197.
12. Li Peiwen et al. Clinical Study of Kanglaite Injection in Treating Primary Hepatic Carcinoma.// Chinese Journal of Clinical Oncology.- 1999. - 26 (6).- P. 475-476.
13. Qian Mingshan et al.// Collection of the Studies of Kanglaite Injection Against Tumor [M] Zhejiang University Press, Zhejiang. - 1998.- P. 214-229.
14. Shen Wenjiang et al.// Collection of the Studies of Kanglaite Injection Against Tumor.Zhejiang University Press, Zhejiang.- P.198-203.
15. Li Shiye et al. Clinical and Pathological Observations of Kanglaite Injection in the Treatment of Primary Pulmonary Carcinoma. // Journal of Tuberculosis and Thoracic Tumors.- 1998.- 3.- P19-21.
16. Li Tongdu et al.// Collection of the Studies of Kanglaite Injection Against Tumors [M] Zhejiang University Press, Zhejiang - 1998 -P84-191.
-