

**НЕМЦОВА ЕЛЕНА РОМАНОВНА**

**ПРИНЦИПЫ И МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ  
РАЗРАБОТКИ И ИЗУЧЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ  
СРЕДСТВ ДЛЯ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ КЛИНИКИ**

**14.00.14 - онкология**

**Автореферат**

**диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук**

**Москва - 2006**

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении  
«Московский научно-исследовательский онкологический институт  
имени П.А.Герцена Росздрава»

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Научный консультант:

доктор биологических наук, профессор

**Р.И.Якубовская**

### Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор

**А.А. Болдырев**

доктор биологических наук, профессор

**Е.С.Герштейн**

доктор медицинских наук, профессор

**И.Г.Русаков**

### Ведущая организация:

Государственное учреждение науки «Научно-исследовательский  
институт онкологии им. профессора Н.Н.Петрова Росздрава»

Защита состоится 19 декабря 2006г. в 14.00 на заседании диссертационного  
совета Д 208.047.01 при ФГУ «Московский научно-исследовательский  
онкологический институт им. П.А.Герцена Росздрава»

по адресу: 125284, г. Москва, 2-ой Боткинский проезд, д.3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «МНИОИ им.  
П.А.Герцена Росздрава»

Автореферат разослан "14" ноября 2006г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**С.А.Седых**

### Актуальность темы диссертации

Человек существует в аэробной среде, и кислород и его активные метаболиты (АКМ), обладая широким спектром физиологического действия, играют существенную роль в поддержании гомеостаза организма в нормальном состоянии [Bergendi L., et al, 1999, Salganik RI., 2001, Droge W, 2002, Seifried HE, et al, 2003].

Многие физические и химические прооксидантные воздействия на организм приводят к значительному увеличению образования в нем АКМ, что в свою очередь обуславливает усиление окислительной модификации макромолекул [McCord JM, 2000, Marnett LJ, 2003, Ohshima H., 2003].

Контроль свободнорадикальных процессов в организме осуществляет 3-ье звено системы детоксикации - антиоксидантное [Fang Y-Z, et al, 2002, Меньшикова Е.Б. и др., 2006]. Оно представляет собой многокомпонентную сеть физиологически активных соединений гидрофобной и гидрофильной природы, что позволяет осуществлять антиоксидантную защиту как в водной среде организма (цитозоле клеток и в биологических жидкостях), так и в липидных структурах (мембранах клеток).

В нормальных условиях существования антиоксидантное звено системы детоксикации обеспечивает сбалансированное течение окислительных и антиокислительных процессов в организме, инактивируя избыточное количество всего многообразия высокоактивных окислителей и устраняя повреждения, вызванные свободными радикалами.

Усиление свободнорадикальных реакций ведет к ответной реакции системы антиоксидантной защиты, что в свою очередь вызывает напряжение, а в ряде случаев истощение механизмов антиоксидантной защиты - возникает дисбаланс окислительных-антиокислительных процессов и избыточные окислители начинают оказывать повреждающее действие на ткани организма.

Патогенетическая функция активных метаболитов кислорода и органических свободных радикалов идентифицирована более чем для 100 заболеваний человека и в различной степени присуща любым патологическим состояниям [Н.К.Зенков и др., 2001]. Одним из самых серьезных последствий длительного воздействия на организм повышенного количества АКМ является неопластическая трансформация клеток, приводящая к развитию злокачественной опухоли [Undurti ND, 2002, Xu C, et al, 2005].

Развитие опухолевого процесса ведет к появлению выраженных нарушений в системах гомеостаза больного. Все методы противоопухолевой терапии: хирургический,

химиотерапевтический, лучевой способствуют углублению этих нарушений путем индукции повышенного радикалообразования [Mantovani G, 2002]. Таким образом, больные со злокачественными новообразованиями испытывают двойную оксидантную нагрузку: обусловленную опухолевым процессом и противоопухолевым лечением. Это приводит к повреждению мембран большого количества клеток, в том числе нормальных, вызывает в них структурные и метаболические нарушения и обуславливает развитие выраженных местных и системных токсических реакций. В частности, повреждение иммунокомпетентных клеток приводит к развитию вторичного иммунодефицита, который, в свою очередь, ухудшает переносимость лечения и качество жизни больных. Поэтому онкологические больные нуждаются в особенно активной детоксикационной терапии.

Поскольку наибольшая эффективность антиоксидантной терапии может быть достигнута только при соответствии активности используемого антиоксидантного средства глубине нарушений окислительно-антиокислительного баланса в организме, актуальной является разработка алгоритма обследования больных для оценки состояния антиоксидантной и иммунной систем до и в процессе противоопухолевой и поддерживающей терапии.

В условиях недостаточной активности эндогенной антиоксидантной системы одним из наиболее эффективных способов защиты клеток от повреждающего действия окислителей является введение либо экзогенных антиоксидантных средств (прямые антиоксиданты), либо лекарственных средств, способных активировать эндогенные антиоксидантные механизмы (косвенные антиоксиданты).

В настоящее время во всем мире проводится широкий поиск и разработка лекарственных средств с антиоксидантными свойствами, эффективных как для профилактики различных, в том числе онкологических, заболеваний, так и для их вспомогательной терапии [Kontogiorgis AC, 2005].

Однако пока набор официальных антиоксидантных лекарственных средств в современной медицине остается довольно ограниченным и представлен в основном однотипными препаратами на основе синтетических витаминов. Биологически активные добавки к пище, широко представленные в торговой сети, как правило, недостаточно корректно исследованы предклинически и их свойства не соответствуют аннотированным в сопроводительной документации и рекламных проспектах.

Таким образом, актуальным остается целенаправленный поиск более эффективных детоксицирующих средств, которые обладают совокупностью следующих свойств: эффективно корректируют нарушения в различных звеньях антиокислительной системы; купируют токсические реакции, вызванные лечением онкологического заболевания, безвредны и хорошо переносятся при длительном приеме; не снижают терапевтический эффект лечения основного

заболевания. Важным является тщательное изучение их физиологического действия в экспериментальных исследованиях, доказательство отсутствия влияния на рост опухолей, отработка показаний к их применению, подбор оптимальных доз, так как известно, что при определенных условиях ряд антиоксидантов способен проявлять прооксидантные свойства.

В экспериментальных исследованиях показано, что наибольшей антиоксидантной активностью обладают белковые антиоксиданты: церулоплазмин, супероксиддисмутаза, лактоферрин [Немцова Е.Р., 2003]. Однако препараты на их основе слабо представлены в фармакопее. В современной клинической практике в России используют лишь препарат на основе церулоплазмينا, а за рубежом клинические испытания проходят препараты на основе рекомбинантного лактоферрина человека для перорального применения [Varadhachary A, 2004, Hayes TG, 2005]. Лактоферрин человека представляется одним из наиболее перспективных соединений для разработки лекарственного препарата на его основе, так как помимо высокой антиоксидантной активности, обуславливающей его детоксицирующее действие, он обладает антибактериальным и иммуномодулирующим эффектами, которые реализуются за счет прямых механизмов воздействия на патогены и иммунокомпетентные клетки, а не опосредованы антиоксидантными свойствами [Valenti P, 2004, Ward PP, 2005]. Однако в настоящее время в мировой фармакопее отсутствуют официальные препараты на основе лактоферрина человека. Поэтому разработка такого лекарственного препарата, прежде всего для парентерального применения, является актуальной и своевременной.

Широкое применение в настоящее время парафармацевтиков - комплексных антиоксидантных средств на основе экстрактов лекарственных растений (БАД) диктует необходимость их серьезного изучения в различных аспектах. Подтверждением этому явилось создание в США в 1998 году Национального центра комплементарной и альтернативной медицины (NCCAM), который вошел в состав Национальных институтов здоровья США (NIH) [Richardson MA, 2001].

Растительные парафармацевтики содержат обширную гамму биологически активных соединений, в том числе полифенольные соединения - активные природные антиоксиданты, что обуславливает многогранность их физиологического действия. Поэтому представляется целесообразным включение их в схемы поддерживающей терапии больных со злокачественными опухолями в качестве детоксицирующих и общеукрепляющих средств [Deng G, 2005]. Однако отсутствие специальных исследований, направленных на оценку влияния БАД на рост злокачественных опухолей, ограничивает их применение в онкологической практике. Поэтому актуальной является разработка и тщательное доклиническое изучение парафармацевтиков с высокой антиоксидантной активностью на основе лекарственных

растений, предназначенных для применения у больных со злокачественными новообразованиями.

В настоящее время четко прослежена связь общетоксических и иммунных нарушений. Поэтому антиоксидантные средства, оказывающие детоксицирующее действие, как правило, проявляют иммуномодулирующие свойства [Караулов А.В., 2001]. В то же время взаимосвязь иммунных нарушений с общей интоксикацией организма обуславливает возможность создания и применения в клинике плейотропных препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием и способных активировать эндогенную антиоксидантную систему, то есть непрямым антиоксидантов. Одним из подходов к решению этой задачи является синтез иммунорегуляторных пептидов тимуса с включением направленно модифицированных аминокислотных остатков. Препарат «Имунофан» (НПЦ «Бионокс», Москва, Россия) - иммуномодулирующий препарат IV поколения получен именно таким путем [Лебедев В.В., 1998]. По активности он в 1000 раз превышает естественные гормоны тимуса (препарат «Тактивин») и обладает широким спектром физиологического действия, оказывая выраженное влияние на противовирусный и антибактериальный иммунитет и другие системы защиты организма. Поэтому актуальным является изучение его эффективности у больных со злокачественными новообразованиями в качестве средства, способного снизить выраженность побочных реакций противоопухолевого лечения путем стимуляции иммунной и антиоксидантной систем.

#### **Цель исследования**

Оценка состояния антиоксидантной и иммунной систем гомеостаза больных со злокачественными новообразованиями; разработка, экспериментальное изучение и апробация в клинике средств для коррекции нарушений в системах гомеостаза при эндо- и экзотоксикозах различного генеза.

#### **Задачи исследования**

1. Разработать алгоритм оценки системы детоксикации организма на основе определения продуктов окисления липидов и эндогенных антиоксидантов.
2. Изучить в экспериментальных моделях влияние роста злокачественной опухоли и химиотерапевтического лечения на развитие токсикоза.
3. Изучить состояние антиоксидантной и иммунной систем у больных с токсикозами, обусловленными онкологическими заболеваниями.
4. Оценить влияние различных методов лечения (хирургического, химио-лучевого, химиотерапевтического, фотодинамического) на состояние антиоксидантного и иммунного звеньев гомеостаза у больных со злокачественными новообразованиями.

5. Разработать методологические подходы к созданию и доклиническому изучению антиоксидантных средств, предназначенных для применения в онкологической клинике.

6. Разработать оригинальные средства для коррекции токсических состояний различного генеза:

препарат на основе белкового антиоксиданта - лактоферрина женского молока, получивший название «Лапрот»;

биологически активную добавку на основе сухих экстрактов лекарственных растений, получившую название «Антиоксифит».

7. В экспериментальных исследованиях на животных с токсикозами различного генеза изучить физиологическое действие созданных антиоксидантных средств - препарата «Лапрот» и БАД «Антиоксифит», а также витаминных препаратов на основе индивидуальных витаминов и их комплексов.

8. Оценить корригирующее влияние антиоксидантных средств различных классов: белкового препарата Лапрот, витаминных комплексов, БАД на антиоксидантное и иммунное звенья гомеостаза больных со злокачественными новообразованиями на разных этапах противоопухолевого лечения.

9. Оценить эффективность применения препарата «Имунофан» в качестве стимулятора иммунной и антиоксидантной систем у больных со злокачественными новообразованиями.

#### **Научная новизна исследования**

Осуществлен новый подход к диагностике и коррекции нарушений антиоксидантного и иммунного звеньев гомеостаза больных с онкологическими заболеваниями путем разработки и внедрения новых диагностических и лечебных технологий:

разработана оригинальная схема лабораторного исследования крови больного, позволяющая выявить нарушения гомеостаза больных с различными формами заболеваний на более тонком уровне, чем общепринятые в настоящее время варианты анализа;

впервые на основании лабораторных данных предлагается индивидуальный подход к коррекции антиоксидантного звена гомеостаза средствами заместительной терапии с различной антиоксидантной активностью и (или) индукторами эндогенной антиоксидантной защиты организма.

Впервые для проведения заместительной антиоксидантной терапии разработан, изучен в эксперименте по оригинальной схеме, отработанный для отбора корригирующих средств для онкологических больных, и сертифицирован для применения в клинике ряд оригинальных средств на основе субстанций различной природы:

- не имеющий аналогов в мировой фармакопее препарат Лапрот на основе белкового антиоксиданта - лактоферрина человека, обладающего детоксицирующим и противовоспалительным действием, для внутривенного и местного применения;
- иммуотропный препарат Имунофан в качестве средства для индукции активности эндогенной антиоксидантной защиты и нормализации клеточного иммунитета у онкологических больных;
- оригинальная биологически активная добавка «Антиоксифит» на основе лекарственных растений с антиоксидантной активностью, превышающей таковую индивидуальных витаминов, витаминных комплексов и БАД, используемых в клинической практике в настоящее время.

Впервые с учетом показателей антиоксидантного и иммунного статусов больных определена роль антиоксидантных витаминов в поддерживающей терапии больных с местнораспространенным опухолевым процессом.

Показано, что разработанные технологии позволяют наиболее рационально осуществлять активацию и поддержание деятельности защитных эндогенных систем организма - антиоксидантной и иммунной.

#### **Практическая значимость работы**

Разработан алгоритм оценки состояния окислительно-антиокислительного и иммунного звеньев гомеостаза у больных с онкологическими заболеваниями до начала противоопухолевой терапии, а также на различных этапах специфического лечения.

Обоснована целесообразность проведения корригирующей терапии выявленных нарушений средствами с различной антиоксидантной активностью и разработаны показания к ее назначению.

Разработан оригинальный препарат «Лапрот» на основе белкового антиоксиданта лактоферрина человека, обладающий детоксицирующим и противовоспалительным действием. На этот препарат оформлена и зарегистрирована нормативно-техническая документация (Фармакопейная статья предприятия, регистрационный № 42 - 0618-6810-05) и налажено его опытное производство, позволившее обеспечить проведение I и II фаз клинических испытаний. Изучение физиологического действия этого препарата в эксперименте позволило обоснованно рекомендовать его применение у больных. В результате апробации этого препарата в клинике разработаны показания к его применению и даны практические рекомендации по его использованию в различных клинических ситуациях. На основании этих рекомендаций оформлена и утверждена «Инструкция по медицинскому применению препарата «Лапрот» (Протокол № 2 заседания Бюро ФГУ НЦ ЭСМП от 26.01.2006). Препарат находится на регистрации в Федеральном агентстве по здравоохранению и социальному развитию РФ.

Оценена эффективность применения отечественного иммуномодулирующего препарата Имунофан у больных со злокачественными процессами, что позволило обосновать целесообразность назначения этого препарата не только для стимуляции иммунной системы, но и для активации эндогенной антиоксидантной системы организма, то есть в качестве детоксицирующего средства.

За исследования по теме «Разработка пептидного препарата «Имунофан» и его практическое применение в патогенетической терапии» в соавторстве с другими исследователями была присуждена Премия Правительства РФ 1999г. в области науки и техники (Диплом №2817).

Оценена эффективность применения антиоксидантных витаминных комплексов в качестве средств для поддерживающей терапии больных с местнораспространенным опухолевым процессом, что позволило дать рекомендации к их использованию с целью детоксикации у этого контингента больных.

Разработаны методологические подходы к изучению БАД, пригодных для применения в онкологической клинике.

Разработана и зарегистрирована (регистрационное удостоверение № 002313.643.12.2000, ТУ 9373-001-05784466-00) оригинальная биологически активная добавка «Антиоксифит» на основе лекарственного растительного сырья, с антиоксидантной активностью, превышающей официальные антиоксидантные средства - витаминные комплексы и БАД. Изучение ее физиологического действия и безвредности на животных показало возможность ее применения у больных со злокачественными новообразованиями. Апробация этой БАД в клинике позволила дать рекомендации по ее использованию у различных групп больных со злокачественными новообразованиями с целью профилактики и купирования токсических состояний.

Практические рекомендации для внедрения полученных результатов в широкую клиническую практику нашли свое отражение в пособиях для врачей, утвержденных Министерством здравоохранения РФ.

#### **Апробация работы**

Основные результаты исследований доложены на: 5-ом Всероссийском Съезде анестезиологов и реаниматологов (Москва, 1996), 7th International Congress on Anti-Cancer Treatment (Paris, 1997), 10th International Congress on Oncogynecology (Portugal, 1997), Симпозиуме "Онкология на рубеже XXI века. Возможности и перспективы" (Москва, 1999), Всероссийской конференции "Сорбционные, электрохимические и гравитационные методы в современной медицине" (Москва, 1999), International Congress "Modern Methods of Diagnostics and Treatment of Allergy, Asthma and Immunodeficiency", Tbilisi, Georgia, September, 1999, IV

Международном симпозиуме "Биологически активные добавки к пище: XXI век" (С-Петербург, 2000), II съезде онкологов стран СНГ (Киев, 2000), V Международном симпозиуме «Биологически активные добавки к пище и проблемы здоровья семьи» (Красноярск, 2001), VIII Всероссийском съезде анестезиологов и реаниматологов (Омск, 2002), 3-ей национальной научно-практической конференции с международным участием "Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека" (Смоленск, 2003), Медико-фармацевтическом форуме (Москва, 2003), Научно-практической конференции «Критические технологии в реаниматологии» (Москва, 2003), Научно-практической конференции «Проблемы онкоиммунологии: научные и прикладные аспекты» (Киев, 2003), X Конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2003), XI Конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2004), Научно-практической конференции, посвященной 30-летию кафедры анестезиологии и реаниматологии МГМСУ «Актуальные вопросы анестезиологии и реаниматологии» (Москва, 2005), 4-ой национальной научно-практической конференции с международным участием "Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека" (Смоленск, 2005), Научно-практической конференции «Наука Москвы - городу» (Москва-Ярославль, 2005).

Апробация диссертационной работы проведена на межотделенческой научной конференции в ФГУ «МНИОИ им. П.А.Герцена Росздрава» 15 июня 2006г.

#### **Публикации по теме диссертации**

По материалам диссертации опубликовано 87 печатных работ. Эти публикации включают 30 статей в рецензируемых журналах, 9 статей в сборниках научных трудов, 32 тезисов в материалах научных форумов, 5 пособий для врачей, 1 ФСП на препарат «Лапрот», 10 патентов, из них 8 патентов Российской Федерации, 2 зарубежных патента.

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 380 страницах машинописного текста, состоит из Введения, Обзора литературы (Глава I), описания материалов и методов (Глава II), 6-и глав, содержащих собственные результаты (Главы III - VIII), Практических рекомендаций и Выводов. Диссертация иллюстрирована 109 таблицами и 74 рисунками. Библиографический указатель включает 621 источник (118 отечественных и 503 зарубежных).

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Гомеостаз животных и больных со злокачественными новообразованиями характеризуется сдвигом окислительно-антиокислительного баланса в сторону окисления и супрессивными нарушениями в иммунной системе, которые увеличиваются по мере увеличения распространенности опухолевого процесса; все виды противоопухолевого лечения способствуют усилению нарушений в окислительно-антиокислительной и иммунной системах.

2. Коррекция токсикоза организма-опухоленосителя антиоксидантными средствами до начала противоопухолевого лечения способствует уменьшению количества и степени выраженности токсических реакций лечения, а применение антиоксидантов после специфической терапии ускоряет процесс реабилитации.

3. Эффективность средств в восстановлении нарушенного окислительно-антиокислительного баланса и в детоксикации организма прямо коррелирует с их антиоксидантной активностью.

4. Разработанные оригинальные антиоксидантные средства: препарат «Лапрот» на основе лактоферрина женского молока и БАД «Антиоксифит», а также официальный препарат «Имунофан» могут быть рекомендованы к применению в качестве детоксицирующих средств на различных этапах противоопухолевого лечения больных со злокачественными новообразованиями.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **I. Материалы и методы**

#### **1.1. Экспериментальные исследования**

**В работе использовали белковые соединения и препараты:** лактоферрин женского молока (ЛФМ), лактоферрин нейтрофилов (ЛФн), лапрот - лиофилизат ЛФМ для приготовления растворов для инъекций во флаконах, 50 мг, супероксиддис.мутазу рекомбинантную, сывороточный альбумин человека, церулоплазмин - препарат для внутривенного введения во флаконах, 100. мг; **официальные витаминные препараты и поливитаминные комплексы:** Р-каротин в драже, 5мг, ретинол-ацетат в капсулах. З3000МЕ, а-токоферол-ацетат в капсулах, 100мг, аскорбиновую кислоту в драже. 50мг, рутин в таблетках, 20мг, OPTISHARP (зеаксантин), Ликопин, Лютеин, Триовит, Дуовит. Ревиталайз М, Декамевит, Центрум, Веторон, Каскатол; **оригинальные антиоксидантные витаминные комплексы:** ПВК1 (драже: Р-каротин - 5мг, аскорбиновая кислота - 25мг), ПВК2 (драже: р-каротин, аскорбиновая кислота - 25мг, витамин Е - 12,5мг), ПВК3 (драже: р-каротин - 1мг, аскорбиновая кислота - 5мг, витамин Е - 5мг, рутин - 2мг), ПВК4 (драже: р-каротин - 1мг, аскорбиновая кислота - 20мг, рутин - 10мг), ПВК (набор отдельных фармакопейных витаминных препаратов: р-каротин - 5 мг, аскорбиновая кислота - 200мг, витамин Е - 100мг, витамин А - 10мг), **оригинальную БАД «Антиоксифит»** - сухой экстракт сбора лекарственных растений состава: трава герани луговой - 30%; корни и корневища дягиля низбегающего- 30%; побеги курильского чая- 12%; листья календулы лекарственной- 12%; листья подорожника большого- 12%; **противоопухолевые препараты:** 5-Фторурацил (5-Фу), Доксорубин (Др), Платидиам (ДДП), Циклофосфан (Цф).

В работе использовали **животных**: 9000 мышей-самцов и мышей-самок линий C57BL/6, CBA, DBA, гибридов F1 (CBA x C57BL/6) массой 20-22г, 144 неинбредных крыс-самок и крыс-самцов массой 150 - 250 г.

**Выделение белков** из биологических жидкостей проводили методами высаливания, ионообменной хроматографии, аффинной хроматографии.

**Анализ белковых фракций** проводили спектрофотометрически, методами Лоури, электрофореза в ПААГ в денатурирующих и неденатурирующих условиях, иммунохимическими методами: двойной иммунодиффузией по Оухтерлони, радиальной иммунодиффузией по Манчини, двойным перекрестным иммуноэлектрофорезом, иммуноферментным анализом в «сэндвич» варианте.

**Антиоксидантную активность** препаратов и БАД оценивали по ингибированию промежуточного продукта окисления - диеновых конъюгатов (ДК) и по ингибированию конечного продукта окисления - малонового диальдегида (МДА) в системе *in vitro* - в гомогенате печени мышей и в системе *in vivo* на мышцах с токсикозом, индуцированным четыреххлористым углеродом (ССЦ).

**Детоксицирующее действие** изучали на 2-х моделях токсикоза.

**1-ая модель:** Токсикоз индуцировали введением гепатотропного яда ССЦ. Эксперименты проводили по **схеме** 1: Антиоксидант → 30мин → ССЦ → 24часа → антиоксидант → 24часа → антиоксидант → 15мин → тиопентал. ССЦ вводили мышам в виде 75%-ого масляного раствора, подкожно однократно в дозе 2мл/кг. Эффективность детоксицирующего действия препаратов оценивали по уменьшению продолжительности наркотического сна относительно контрольных животных, затравленных ССЦ и не получавших антиоксидантов.

**2-ая модель:** Токсикоз индуцировали цитостатиками: ДР (8мг/кг и 13мг/кг), ЦФ (80мг/кг и 450мг/кг), ДДП (8мг/кг и 12мг/кг), 5-ФУ (80мг/кг и 250мг/кг). Указанные дозы - терапевтическая и токсическая, вызывающая 50% гибель животных от токсичности. В исследовании характеризовали гемато-, гепато-, нефро- и гастроэнтеро-протекторное действие антиоксидантных средств на основании гематологических и биохимических показателей крови, потери массы тела и гибели животных.

**Общеукрепляющее действие** оценивали с использованием плавательного теста.

**Безвредность** антиоксидантных средств изучали по программе "mini-toxi" совместно со с.н.с, к.б.н. А.А.Панкратовым.

**Влияние антиоксидантных средств на рост экспериментальных опухолей** изучали на животных с перевиваемыми опухолями различного гистогенеза: **гемобластомы** - лимфолейкоз Р-388 (Р388), лимфолейкоз L1210 (L1210); **солидные опухоли** - аденокарцинома молочной

железы Са755 (Са755), эпидермоидная карцинома легкого Льюис (LLC), меланома В16 (В 16); карцинома Эрлих (ОЭ).

ОЭ и Р388 инокулировали подкожно и внутрибрюшинно, моделируя, соответственно, солидный и асцитный варианты роста опухолей. Влияние антиоксидантных средств на процессы метастазирования изучали на моделях LLC, В16 и солидного варианта Р388. При этом влияние на метастазирование LLC в легкие оценивали как при сохранении первичного опухолевого очага, так и с его удалением, что моделирует клинические варианты метастатического поражения удаленных органов: при наличии первичной опухоли и после ее хирургического удаления.

Влияние антиоксидантных средств на рост асцитных опухолей оценивали по скорости накопления асцита в брюшной полости животных, по средней продолжительности жизни (СПЖ) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ); на рост первичного опухолевого узла солидных опухолей - по торможению роста опухоли (ТРО), СПЖ, УПЖ; на процессы метастазирования опухолей - по массе метастазов (М) в легких и индексу торможения метастазирования (ТМ), %. Биологически значимым считали: ТРО > 50%, УПЖ > 25%, ТМ > 25%.

**Влияние антиоксидантных средств на терапевтическое действие** цитостатиков изучали на животных с Р388 (солидный вариант), оценивая ТРО, УПЖ и ТВ.

**Химиопрофилактическое действие** препарата «Лапрот», ПВКЗ и БАД «Антиоксифит» оценивали на модели химически индуцированной фибросаркомы у мышей. В качестве индуктора использовали 20-метилхолантрен (20-МХ), который вводили однократно в виде 1% раствора в оливковом масле внутримышечно в область бедра в дозе 5мг/мышь. Антисканцерогенное действие оценивали по выходу олеом, истинных опухолей, по СПЖ, УПЖ, ТРО.

Химиопрофилактическое действие препарата «Лапрот» оценивали также на модели химически индуцированного плоскоклеточного рака кожи. В качестве индуктора опухоли использовали 0,2% раствор в бензоле 7,12-диметилбензантрацена (7,12-ДМБА), который наносили на небольшой участок (1см<sup>2</sup>) кожи спины мышей в 2-х режимах: 1 раз в неделю в течение 18 недель или 3 раза в неделю в течение 2-х недель.

**Фармакокинетику** препарата «Лапрот» изучали на интактных мышцах линии BALB/c, самках, двумя методами: путем введения животным препарата, содержащего нативный ЛФ, и ЛФ, меченный "Т".

## 1.2. Клинические исследования

### Общая характеристика больных

В исследования включили 80 здоровых доноров, 48 больных с предопухолевыми заболеваниями и 672 больных со злокачественными новообразованиями, из них 410 женщин и 310 мужчин.

Исследования проводили на базе отделений: реанимации и интенсивной терапии (руководитель - проф. Н.А.Осипова, заведующая - к.м.н. Н.В.Эделева), лучевой терапии (руководитель - проф. А.В.Бойко), химиотерапии (руководитель - к.м.н. Л.В.Болотина) и поликлиники с группой амбулаторной химиотерапии (руководитель - к.м.н. Н.В.Богданова)

По локализации патологического процесса распределение больных следующее: желудок - 15%, пищевод - 20%, кишечник - 9%, молочная железа - 21%, шейка матки - 23%, голова-шея - 7%, другие - 5%. Распределение обследованных до начала лечения больных (n=437) по стадиям процесса представлено на рис. 1.

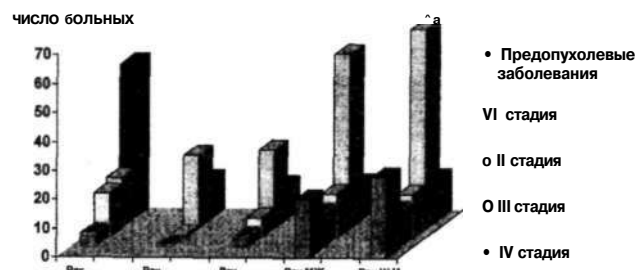


Рис 1. Распределение обследованных до начала лечения больных (n=437) по стадиям процесса.

Характеристика групп больных, которым проводили коррекцию гомеостаза антиоксидантными средствами (препарат «Лапрот», витаминный комплекс ПВК и БАД «Антиоксифит») и иммуностропным препаратом «Имунофан», а также режимы их обследования и лечения приведены в разделе «Результаты исследования и их обсуждение».

При клиническом обследовании оценивали общее состояние больного по шкале Карновского, а также частоту, степень выраженности общих и местных токсических реакций в соответствии с рекомендациями ВОЗ и Международного противоракового Союза.

Лабораторное обследование больных включало: определение в сыворотке крови концентрации МДА и ЛФ, активности ЦП и определение в плазме крови активности Кат. Сбалансированность течения окислительных и антиокислительных процессов в организме определяли, вычисляя коэффициент окислительно-антиокислительного баланса (Каос).

Показатели лимфоцитарного звена иммунитета определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к поверхностным антигенам клеток. Состояние лимфоцитарного звена иммунной системы в целом оценивали, вычисляя лимфоцитарный интегральный показатель (ЛИП). Состояние нейтрофильного звена иммунитета определяли по адгезивной и окислительной активности нейтрофилов.

### 1.3. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистических программ по методу Фишера-Стьюдента. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## II. Результаты исследования и их обсуждение

### II.1. Состояние антиоксидантной и иммунной систем организма с токсикозом, индуцированным злокачественным процессом и противоопухолевым лечением Экспериментальные исследования.

Влияние опухолевого процесса на состояние окислительно-антиокислительной системы организма оценили у животных с перевиваемыми опухолями: аденокарциномой легких Льюиса (LLC) и лимфоидной лейкемией P388 по концентрации МДА - интегрального показателя, характеризующего интенсивность окислительных процессов, и активности ЦП - ключевого фермента, диспропорционирующего супероксиданион радикал, который является родоначальником свободных радикалов в организме (табл. 1).

Таблица 1

Состояние окислительно-антиокислительной системы у животных с перевиваемыми опухолями

Опухоль	День роста опухоли (сутки)	МДА (Мкмоль/л)	ЦП У.е.
P388 (п/к)	7	3,4±0,7	0,29±0,10
P388 (в/б)	3	5,5±1,3	0,40±0,09
LLC (п/к)	7	6,1±1,1*	0,79±0,23*
	20	11,4±2,9*	1,09±0,47*
Интактные животные		2,6±1,1	0,21±0,09

\* - достоверное отличие от показателя у интактных животных ( $p < 0,05$ )

Как видно из представленных в таблице 1 данных, развитие и генерализация опухолевого процесса приводят к усилению окислительных реакций в организме, которые обуславливают состояние ракового токсикоза.

Цитостатики (ДДП - 12мг/кг, 5-ФУ - 280мг/кг, ЦФ - 450мг/кг и ДР - 12мг/кг) также вызывают интенсификацию пероксидации липидов и активацию ЦП даже при исходно нормальном состоянии этих показателей у интактных животных (табл. 2). Это приводит к выраженным нарушениям баланса окислительного и антиокислительного звеньев, что обуславливает развитие токсических реакций при проведении химиотерапии.



Таблица 2

Состояние окислительно-антиокислительной системы у животных с токсикозом, индуцированным цитостатиками

Время после Воздействия цитостатика (сут)	ДДП		5-ФУ		ЦФ		Д Р	
	МДА Мкмоль /л	ЦП У.е.	МДА Мкмоль /л	ЦП У.е.	МДА Мкмоль /л	ЦП У.е.	МДА Мкмоль /л	ЦП У.е.
До введения цитостатика	2,6x1,1	0,21x0,10						
3	3,5±1,2	0,24±0,10	2,4x1,1	0,19=0,08	2,8x0,9	0,16±0,09	3,9±1,0	0,16x0,03
7	2,6x1,0	0,40x0,09	7,9*2,1*	0,72x0,20*	5,1x1,3	0,74x0,32'	2,6x1,1	0,48x0,13
14	3,0x1,2	0,28x0,19	6,1x2,1*	0,24x0,19	5,8x1,9	0,60x0,23*	3,1x0,9	0,23±0,10

\* - достоверное отличие от показателя у интактных животных (p<0,05)

#### Клинико-лабораторные исследования.

Лабораторное обследование проведено у больных с предопухолевыми заболеваниями и со злокачественными новообразованиями различной локализации: органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), молочной железы (МЖ) и шейки матки (ШМ) до лечения и на различных этапах противоопухолевого лечения с целью выявления нарушений в окислительной-антиокислительной и иммунной системах для обоснованного подбора адекватной поддерживающей терапии.

Результаты оценки состояния окислительно-антиокислительной и иммунной систем у обследованных до лечения больных представлены в таблицах 3 и 4, соответственно.

Таблица 3

Состояние окислительно-антиокислительной системы у онкологических больных до лечения

Группа	Кони. МДА (мкМ/л)	Актив. ЦП (У.е.)	Актив. Кат (У.е.)	Конц. ЛФ (мг/л)	Каос
Рак ЖКТ I-II стадия (n=33)	4,0±0,3*	0,56±0,05	544±41	1,210,2	0,710,1
Рак ЖКТ III-IV стадия (n=146)	4,4±0,1*	0,58±0,02	534±20	1,810,2*	1,110,2
ДОМЖ (n=20)	3,5±0,1	0,46±0,04	451±87	1,210,2	0,7310,18
РМЖ, I-II стадия (n=27)	3,7±0,2	0,49±0,02	476±58	1,310,2	0,8410,17
РМЖ, III-IV стадия (n=72)	4,0±0,1*	0,52±0,02	465±133	2,0±0,2*	1,2410,15
Предопухолевые забол. ШМ (n=28)	3,8±0,2*	0,45±0,03	425±141	1,010,1	0,5610,08
РШМ, I-II стадия (n=28)	3,4±0,1	0,47±0,08	469±108	0,9±0,2	0,60±0,05*
РШМ, III-IV стадия (n=83)	3,9±0,1*	0,64±0,02*	480±29	1,910,3*	1,5410,07
Норма	2,8-3,3	0,49-0,53	500-600	0,9-1,5	0,8-1,5

\* - достоверное отличие от средне статистически нормальных значений показателей (p<0,05)

Как видно из представленных в таблице 3 данных, окислительно-антиокислительный гомеостаз больных уже с I-II стадией рака различных органов характеризуется повышенной интенсивностью окислительных процессов и разбалансировкой антиокислительных механизмов, усугубляющейся по мере прогрессирования опухолевого процесса. На этом фоне развивается вторичный иммунодефицит (табл.4).

Таблица 4

Состояние лимфоцитарного звена иммунной системы у онкологических больных до лечения

Группа	CD3+ (%)	CD4+ (%)	CD8+ (%)	CD20+ (%)	CD16+ (%)	ЛИП
Рак ЖКТ I-II ст. (n=33)	55,8±2,9	33,112,0	23,811,8	4,510,5	12,212,5	17,711,1
Рак ЖКТ III-IV ст. (n=146)	50,511,5*	29,8±1,1*	18,511,0	4,610,4	11,8±0,8	16,2±0,6*
ДОМЖ (n=20)	73,013,3	45,112,8	24,8±1,6	5,010,9	12,7±1,4	22,510,2
РМЖ I-II стадия (n=27)	67,712,0	43,812,1	23,011,9	4,4±0,5	12,911,3	21,2±0,1
РМЖ III-IV стадия (n=72)	60,511,8	35,311,5	27,611,4	4,210,5	11,511,5	19,510,1
Предопухолевые забол. ШМ (n=28)	66,112,7	40,112,5	28,211,7	5,5Ю,5	14,011,6	20,211,3
РШМ I-II стадия (n=28)	66,413,4	38,512,9	24,8±3,5	3,910,8	12,913,6	20,310,8
РШМ III-IV стадия (n=83)	54,811,8	33,211,4	25,311,4	5,0±0,5	17,111,2	18,4±0,5
Норма	61-75	36-50	19-32	5-15	12-19	19-26

\* - достоверное отличие от средне статистически нормальных значений показателей (p<0,05)

В таблицах 5 и 6 представлены данные о влиянии хирургического лечения на состояние окислительно-антиокислительной и иммунной систем у онкологических больных.

Обследование больных, оперированных в МНИОИ им. П.А.Герцена, показало, что уже через сутки после операции намечается тенденция к интенсификации окислительных процессов и компенсаторному увеличению активности эндогенных антиоксидантов, которая сохраняется длительное время после операции и резко усиливается при развитии гнойно-воспалительных осложнений (табл.5). Осложненное послеоперационное течение заболевания сопровождается развитием вторичного иммунодефицита (табл.6).

Таблица 5

Влияние хирургического лечения на состояние окислительно-антиокислительной системы у больных раком органов ЖКТ и ШМ

Группа	Конц. МДА	Актив. ЦП	Актив. Кат	Конц. ЛФ	Каос
Рак ЖКТ I-II-III стадия, до лечения (n=44)	4,010,1*	0,6210,03*	585±149	1,4*0,1	1,3±0,2
Рак ЖКТ I-II-III стадия, 1-е сутки после операции (n=44)	4,4±0,2*	0,41±0,02*	716±156*	1,910,3	1,3±0,2
Рак ЖКТ I-II-III стадия, 3-й сутки после операции без осложнений (n=30)	4,610,2* **	0,4810,02	679±151	2,2Ю,3* **	1,610,2
Рак ЖКТ I-II-III стадия, 3-е сутки после операции, гнойно-воспалительные осложнения (n=14)	4,910,3* **	0,47±0,03	722±181*	2,7±0,4*	1,910,4
РШМ I-II стадия, до лечения (n=28)	3,410,1	0,4710,08	469±108	0,910,2	0,6010,05*
РШМ I-II стадия, 14 сутки после операции (n=25)	4,3±0,1***	0,6710,03* **	537±148	1,2±0,1	1,0±0,12**
Норма	2,8-3,3мкМ/л	0,49-0,53у.е.	500-600у.е.	0,9-1,5мг/л	0,8-1,5

\* - достоверное отличие от средне статистически нормальных значений показателей (p<0,05)

\*\* - достоверное отличие от исходного значения показателя (p<0,05)

II.2. Препарат «Лапрот» на основе белкового антиоксиданта - разработка и экспериментальное изучение

Предпосылкой разработки препарата на основе лактоферрина женского молока послужили результаты изучения нами механизмов действия гемосорбции, которые показали резкое увеличение (в 100-200 раз) концентрации ЛФ в сыворотке крови [Якубовская Р.И., 1990]. Корреляция между высоким уровнем ЛФ, его физиологическими свойствами и клиническим эффектом гемосорбции указывала на возможность успешного использования экзогенного введения ЛФ для моделирования многочисленных эффектов гемосорбции.

В рамках создания препарата на основе ЛФ человека были разработаны методы выделения высокоочищенного ЛФ из женского молока и нейтрофилов (ЛФм и ЛФн. соответственно), и доказано их тождество по физико-химическим и иммунохимическим свойствам (рис. 2 и 3), что позволило использовать ЛФ женского молока в качестве основного компонента при разработке препарата для парентерального введения.

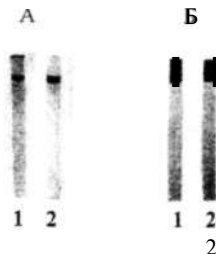
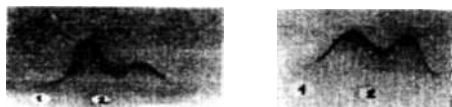


Рис. 2. Электрофореграммы ЛФ нейтрофилов (1) и ЛФ молока (2): А.-электрофорез в ПААГ в денатурирующих условиях; Б. - электрофорез в ПААГ в иеденатурирующих условиях.



Антигела к ЛФм, в лунках: 1-ЛФм; 2-ЛФн  
Антигела к ЛФн, в лунках: 1-ЛФм; 2-ЛФн

Рисунок 3. Сравнение ЛФм и ЛФн человека методом иммуноэлектрофореза.

Была разработана технология получения препарата, названного «Лапрот». отработаны показатели контроля его качества, оформлена и зарегистрирована Фармакопейная статья предприятия (ФСП 42 - 0618-6810-05).

Физиологическую активность препарата изучали с учетом биологических свойств и действия ЛФ человека, выявленных нами в предварительных экспериментальных исследованиях и известных по данным литературы.

Препарат «Лапрот» обладал антиоксидантной активностью, поскольку он дозозависимо ингибировал образование промежуточных (ДК) и конечных (МДА) продуктов перекисидации липидов в гомогенате печени мышей *in vitro* и *in vivo* в печени мышей, затравленных ССЦ.

Сравнение препарата «Лапрот» с официальными антиоксидантными средствами по антиоксидантной активности, оцененной в системе *in vitro* (в гомогенате печени мышей), показало, что только препарат «Церулоплазмин» на основе белкового антиоксиданта церулоплазмينا обладал более высокой, чем Лапрот, антиоксидантной активностью (6500±160ед.акт и 670±30ед акт, соответственно), а все исследованные витаминные препараты - как на основе индивидуальных витаминов, так и комплексные, существенно ниже по антиоксидантной активности, чем «Лапрот» (активность колебалась в пределах от 110±15 ед.акт. до 2,2±0,2 ед.акт).

Изучение детоксицирующего действия препарата «Лапрот» (разовая доза - 8,7мг/кг, курсовая доза - 26,1мг/кг) на модели токсикоза, индуцированного ССЦ, показало достоверное (более, чем в 2 раза) уменьшение продолжительности сна, вызванного введением животным тиопентала, по сравнению с показателем у животных, не получавших препарат «Лапрот» (табл.9).

Влияние антиоксидантных препаратов на продолжительность наркотического сна у животных

Таблица 9

группы	Воздействие	Продолжительность сна (мин)
1	Контроль (животные без воздействия)	4,2±1,2
2	Контроль (животные, затравленные ССЦ)	25,2±5,4*
3	ЛФ-»30м->СС1<-»ЛФ->24ч->ЛФ-> 15м->тиопентал	12,2±3,4**

\*- биологически значимое отличие от группы животных без воздействия (p<0,05)

\*\* - биологически значимое отличие от группы животных, затравленных ССЦ (p<0>05)

Выраженное десенсибилизирующее действие препарата «Лапрот» было подтверждено на модели токсикоза, индуцированного цитостатиками различных классов.

Препарат достоверно снижал общетоксическое действие всех изученных аятибластомных средств, что проявлялось в значительном уменьшении потери массы тела животных относительно исходной и сокращении гибели животных от острой токсичности цитостатических препаратов (рис.4). Он не оказывал протекторного действия в отношении красного ростка кроветворения, но способствовал сохранению у животных на все сроки наблюдения количества лейкоцитов на уровнях, близких к нормальным. Препарат «Лапрот» оказывал выраженное гепато- и нефропротекторное действие по всем исследованным биохимическим показателям.

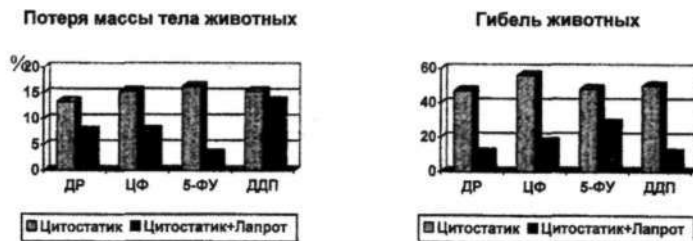


Рисунок 4. Влияние препарата «Лапрот» на потерю массы тела и гибель животных от острой токсичности противоопухолевых препаратов.

Лапрот вводили в/в однократно в разовой дозе 8,7мг/кг веса мыши через 24 часа после введения цитостатика.

Для доказательства антибактериального эффекта препарата «Лапрот» изучили влияние препарата на рост различных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* (совместно с с.н.с. к.б.н. Т.С.Максимовой (Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф.Гаузе РАМН).

Минимальная подавляющая концентрация препарата составила от 0,3 до 5,0мг/мл (по лактоферрину). При этом рост максимального количества штаммов препарат задерживал в концентрации 0,6-1,25мг/мл. Эти значения минимальной подавляющей концентрации ЛФ соответствуют концентрации гликопротеина, реально присутствующей в очаге воспаления, инфицированном патогенными микроорганизмами [Bennett R.M., et al, 1976, Baveye S., et al, 2000], что свидетельствует о том, что ЛФ человека является природным антибиотиком.

Для оценки безопасности применения препарата «Лапрот» у больных со злокачественными новообразованиями изучили его влияние на рост различных по гистогенезу опухолей.

«Лапрот» вводили животным внутривенно однократно и перорально многократно в разовой дозе 0,2мг/мышь, что моделирует предполагаемые схемы клинического применения препарата.

Пероральное и внутривенное введение препарата «Лапрот» в исследованных режимах не оказывает стимулирующего действия на рост первичного опухолевого узла и метастазирование изученных опухолей, а в отношении роста солидных опухолей: карциномы Са755, карциномы Эрлиха, лимфоидной лейкемии Р-388 «Лапрот» даже оказывает противоопухолевое действие.

*Отсутствие стимуляции опухолевого роста свидетельствует о безопасности клинического изучения препарата «Лапрот» у больных со злокачественными новообразованиями.*

В результате изучения фармакокинетики препарата «Лапрот» на интактных мышцах линии BALB/c, самках, двумя методами: путем введения животным препарата «Лапрот»,

содержащего нативный ЛФ, и ЛФ, меченного <sup>14</sup>C, показали, что при введении в организм животных ЛФ быстро распределяется в органы (печень, почки, кишечник), в которых осуществляет защитное действие [Regoeczi E, 1985, Suzuki Y.A., 2002], а затем выводится с мочой и калом; выведение характеризуется быстрой и медленной фазами, через 24 час в организме животных обнаруживается не более 12% от введенного препарата [Казачкина Н.И., 1991]. Быстрая фармакокинетика свидетельствует о целесообразности многократного введения препарата для достижения терапевтического эффекта.

На основании рассмотрения экспериментальных данных было получено разрешение МЗ РФ на проведение клинических испытаний препарата «Лапрот», которые завершены к настоящему времени. Принято решение о рекомендации медицинского применения препарата «Лапрот» (Протокол №2 заседания Бюро НЦ ЭСМП от 26 января 2006г.) и утверждена Инструкция по медицинскому применению препарата «Лапрот». Препарат «Лапрот» находится на регистрации в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения и социального развития Росздравнадзора.

### П.3. Антиоксидантные витаминные комплексы - доклиническое изучение

В настоящее время, несмотря на широкое применение витаминных препаратов, отсутствует однозначное представление относительно возможности и целесообразности включения их в качестве детоксицирующих средств в схемы поддерживающей терапии онкологических больных. Поэтому целью исследования индивидуальных и комплексных витаминов-антиоксидантов явилась оценка возможности их использования у больных со злокачественными новообразованиями при токсикозах различной этиологии.

В биологической тест-системе *in vitro*, основанной на ингибировании перекисного окисления липидов в гомогенате печени мышей, оценили антиоксидантную активность индивидуальных и комплексных витаминных препаратов, а также каротиноидов, не обладающих витаминной активностью. Показали, что наибольшую антиоксидантную активность, приходящуюся на единицу лекарственной формы выпуска препарата - таблетку, капсулу, драже и т.д., проявляют наиболее богатые по составу витаминные комплексы.

В результате изученные витаминные комплексы по общей антиоксидантной активности были разделены нами на 4 группы:

- I группа - Ревиталайз М, Веторон, Триовит;
- II группа - ПВК3, ПВК, Декамевит;
- III группа - ПВК4, Дуовит, Центрум;
- IV группа - ПВК2, ПВК1.

С учетом уровня антиоксидантной активности наиболее целесообразным для терапии токсикозов представляется использование поливитаминных комплексов I и II групп, а поливитаминные комплексы III и IV групп предпочтительнее использовать в качестве профилактических средств.

При изучении **влияния** витаминных препаратов на **рост перевиваемых опухолей** препараты вводили через 24 часа (L1210, Ca755, P388) или 48 часов (LLC, B16, Sa37) после перевивки опухоли, то есть при наличии опухолевых клеток в организме, но отсутствии клинической манифестации болезни. Аскорбиновую кислоту вводили также на 7 день роста опухоли, что моделирует клиническую ситуацию лечения при наличии большого массива опухоли.

Разовые дозы р-каротина, использованные нами, в 3 (Юмг/кг) и 30 (100мг/кг) раз превышали дозы, эквивалентные терапевтическим для человека. Аскорбиновую кислоту (в виде аскорбата) использовали в максимально переносимой животными разовой дозе - 4670мг/кг (курсовая доза - 14010мг/кг), определенной в предварительных экспериментах. Для сравнения использовали также разовую дозу 144мг/кг (курсовая доза - 432мг/кг), которая является эквитерапевтической суточной дозой аскорбиновой кислоты, рекомендуемой для человека. ПВКЗ исследовали в широком диапазоне доз: от 8000мг/кг, что в 5 раз превышает рекомендуемую суточную дозу для человека (1600мг/кг), до 160мг/кг, что в 10 раз меньше суточной дозы для человека.

Изученные индивидуальные витамины (витамин С и Р-каротин) и витаминный комплекс №3 во всех использованных дозах, включая сверхвысокие (витамин С), не оказывают существенного влияния ни на рост первичного очага различных по гистогенезу опухолей, ни на процессы метастазирования. Это свидетельствует, с одной стороны, о безопасности применения изученных антиоксидантных витаминов при наличии опухолевого процесса в организме, а с другой стороны - об отсутствии у них противоопухолевого действия (у витамина С в том числе).

**Таким образом, как индивидуальные витамины, так и ПВК сложного состава в пределах изученных доз могут быть использованы у больных с различной стадией злокачественного процесса без опасности стимуляции опухолевого процесса.**

**Детоксицирующее действие** Р-каротина (курсовая доза 100мг/кг) и поливитаминного комплекса на его основе (курсовая доза по р-каротину 100мг/кг) оценили на модели токсикога, индуцированного введением ДДП или доксорубина у животных с привитыми опухолями L1210НСa755.

Показали на основании биохимических показателей, что многократное введение р-каротина индивидуально и в составе ПВК уменьшает гемато-, гепато- и нефротоксическое

действие ДДП и ДР, не влияя на противоопухолевое действие цитостатиков, что делает перспективным использование этих витаминных препаратов в терапии токсикозов у больных злокачественными новообразованиями, находящихся на химиотерапевтическом лечении.

*Полученные данные позволили рекомендовать ПВКЗ и ПВК для клинического изучения в качестве средств терапии токсикозов у больных со злокачественными новообразованиями.*

#### **П.4. БАД «Антиоксифит» на основе лекарственных растений - разработка и экспериментальное изучение**

Целью настоящего раздела исследований явилась разработка новой БАД с высокой АОА на основе экстрактов лекарственных растений, пригодной для использования в онкологической клинике.

Проведенный нами скрининг 24-х водных экстрактов сборов лекарственного растительного сырья позволил выявить наиболее перспективный экстракт с высокой антиоксидантной активностью для разработки БАД на его основе. В ФГУП «ГНЦ РФ «НИОПИК» была разработана стандартная по составу и физико-химическим свойствам БАД «Антиоксифит» на основе отобранного экстракта.

Доклиническое изучение БАД «Антиоксифит» проводили по разработанной в лаборатории схеме исследований БАД, предназначенных для применения у больных со злокачественными новообразованиями, которая, наряду с общепринятым изучением безвредности (общетоксического действия) и специфической активности БАД, включала изучение безопасности применения БАД у животных с перевиваемыми экспериментальными опухолями различного гистогенеза и изучение химиофилактического (антиканцерогенного) действия БАД. Эта схема по объему исследований приближена к схемам доклинического изучения лекарственных препаратов.

Изучение безвредности по программе «mini-toxi» (совместно с к.б.н. А.А.Панкратовым) показало, что БАД «Антиоксифит» при многократном пероральном применении в диапазоне разовых доз 4г/кг - 8г/кг (мыши и крысы) и суммарных доз 9г/кг - 11г/кг (мыши) и 6г/кг - 80г/кг (крысы) не проявляла общетоксического действия, а также гемато-, гепато-, нефро-, нейро- и гастроинтестинальной токсичности, то есть является нетоксичной БАД.

Пероральное введение БАД «Антиоксифит» в интервале курсовых доз 4,5-30г/кг животным с различными перевиваемыми опухолями не оказывает токсического действия, а также стимулирующего и ингибирующего действия на рост первичного очага и процессы метастазирования изученных опухолей, оказывает самостоятельное противоопухолевое действие в отношении лимфоидной лейкемии Р-388, привитой подкожно, и способствует

уменьшению проявлений токсикоза, вызванного прогрессированием перевиваемой злокачественной опухоли.

*Эти результаты указывают на возможность применения БАД «Антиоксифит» у больных со злокачественными новообразованиями.*

Сравнение Антиоксифита по антиоксидантным свойствам с различными официальными поливитаминными комплексами и рядом БАД выявило, что по антиоксидантной активности он значительно (более чем в 3 раза) превышает изученные средства.

Высокая антиоксидантная активность Антиоксифита обуславливает его общеукрепляющее и детоксицирующее действие.

**Детоксицирующее действие** БАД «Антиоксифит» показали на двух моделях токсикоза: у затравленных ССЦ животных в тиопенталовом тесте и у животных с токсикозом, индуцированным цитостатическими препаратами. Антиоксифит снижал продолжительность тиопенталового сна у животных на  $30 \pm 7\%$  по сравнению с животными, затравленными ССЦ, но не получавшими БАД. Антиоксифит снижал также общетоксическое действие цитостатиков, уменьшал, по данным биохимических анализов крови, проявления гепатотоксичности и нефротоксичности 5-Фу, Др и ДЦП.

*Таким образом, на изученных моделях токсикоза выявлено детоксицирующее действие БАД «Антиоксифит», которое коррелирует с его антиоксидантной активностью.*

Влияние антиоксифита на лечебный эффект цитостатиков изучили на животных с лимфолейкозом Р-388, которым вводили однократно в/б Цф, ДЦП, Др и 5-Фу на следующие сутки после перевивки опухоли по схеме 2.

#### Схема 2

**Инокуляция опухоли → 24ч —• цитостатик → 24ч → Антиоксифит (до конца жизни животных)**

БАД «Антиоксифит» вводили многократно перорально в разовой дозе 0,5г/кг в течение всей жизни животных с Р-388 (схема 2), что моделирует клиническую ситуацию поддерживающей терапии после химиотерапевтического лечения онкологического заболевания.

Представленные в таблице 10 данные свидетельствуют о том, что антиоксифит не отменял лечебного действия 5-Фу и ДЦП, а в случае сочетанного применения с Др или с Цф способствовал увеличению противоопухолевого действия последних.

Влияние БАД «Антиоксифит» на терапевтическое действие противоопухолевых препаратов у животных с гемобластомом Р-388

Воздействие (разовая доза цитостатика, мг/кг)	Торможение роста опухоли, %			СПЖ, сут	УПЖ, %	ТВ, %
	Сроки наблюдения, С/КН					
	7	14	21			
ЦФ (80)	98±2	99±1	84±16	40,6±3,4	113127	
Цф (80) + Аф	100	100	100	55,0±5,2	<b>189±36*</b>	<b>35,5111,0*</b>
5-Фу (80)	88±9	94±5	64122	22,5±0,7	18±3	
5-Фу (80) + Аф	96-3	98±2	<b>89±Н</b>	23,8±1,3	25±2	5,8±2,0
ДДШ(8)	88±3	88±10	51121	22,0±1,4	16±3	
ДДП(8) + Аф	100	9811	89±11	24,8±0,9	3116*	12,713,1
Др(8)	64±12	70±8	<b>57±13</b>	22,0±0,6	16±2	
Др(8) + Аф	95±1	9312	<b>95±2</b>	24,4±1,9	28±4*	10,812,3
Аф	36±13	68±17	49±12	23,5±4,2	23i3	
контроль				19,1±1,2		

\*- p < 0,05 по сравнению с соответствующим контролем

*Таким образом, полученные данные свидетельствуют о перспективности применения этой БАД у онкологических больных, находящихся на химиотерапевтическом или химио-лучевом лечении.*

*Проведенные исследования показали, что применение разработанной нами схемы доклинического изучения БАД позволяет оценить возможность применения БАД у больных с опухолевым процессом, охарактеризовать стандартность образцов различных партий по АОА in vitro и детоксицирующему действию in vivo, и дать рекомендации по ее клиническому применению в онкологической клинике.*

*Стандартность БАД «Антиоксифит» по составу, биологическому действию, токсичности позволяет отнести ее скорее к парафармацевтикам, чем к биологически активным добавкам к пище.*

#### U.S. Оценка антиканцерогенного действия антиоксидантных средств

Антиканцерогенное действие антиоксидантных средств: препарата «Лапрот», ПВКЗ и БАД «Антиоксифит» изучили на модели химически индуцированной фибросаркомы мягких тканей (индуктор - 20-метилхолантрен).

На рис.5 представлены данные о влиянии антиоксидантных средств на развитие олеом (А), характеризующих реактивное состояние ткани в месте введения масляного раствора канцерогена, выход истинных опухолей - фибросаркомы мягких тканей (Б), торможение роста злокачественных опухолей (В) и увеличение продолжительности жизни (Г).

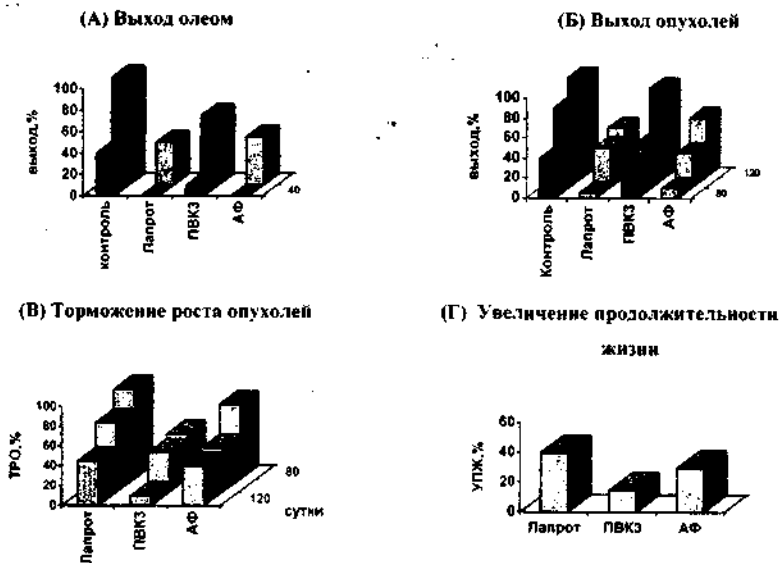


Рисунок 5. Влияние антиоксидантных средств на образование химически индуцированной фибросаркомы мягких тканей

Как видно из представленных на рис.5 данных, антиоксиданты с высокой антиоксидантной активностью - лапрот и антиоксифит оказывали выраженное антиканцерогенное действие, уменьшая частоту возникновения и замедляя рост индуцированных опухолей у мышей в опытных группах, что привело к увеличению продолжительности жизни этих животных на  $40 \pm 7\%$  и  $35 \pm 9\%$  соответственно. Антиканцерогенное действие ПВК3 существенно слабее (УПЖ -  $18 \pm 5\%$ ).

Антиканцерогенное действие лапрота подтвердили на другой модели - химически индуцированного 7,12-ДМБА плоскоклеточного рака кожи. Препарат оказывал выраженное защитное действие в отношении химически индуцированных повреждений кожи, а также ослаблял общую токсичность канцерогена.

*Полученные данные свидетельствуют о том, что лапрот и антиоксифит могут быть рекомендованы к изучению в качестве средств для вторичной профилактики индуцированных опухолей у лиц, прошедших консервативную противоопухолевую терапию, а БАД «Антиоксифит» - к изучению в качестве средства для профилактики злокачественных новообразований у широкого контингента лиц, длительно находящихся в неблагоприятных экологических условиях.*

## П.6. Оценка эффективности применения антиоксидантных средств различных классов в схемах поддерживающей терапии онкологических больных

В настоящем исследовании провели апробацию разработанных антиоксидантных средств в сравнении с официальными антиоксидантными препаратами.

### 11.6.1. Применение препарата «Лапрот» у больных с послеоперационными гнойно-воспалительными осложнениями

Больные с тяжелыми гнойно-воспалительными осложнениями, развившимися в различные сроки после больших полостных операций по поводу злокачественного новообразования, составили группу 1 ( $n=67$ ). В нее вошли подгруппы 1а и 1б:

**подгруппа 1а** ( $n=52$ ), в которой больным в схему интенсивной терапии включали препарат «Лапрот»: внутривенно, в суточной дозе 50-100мг, ежедневно, в течение 5-10 дней в зависимости от тяжести состояния и эффективности терапии;

**подгруппа 1б** ( $n=15$ ) - группа сравнения к 1а подгруппе (без Лапрота).

С целью санации гнойных очагов у больных были выполнены повторные хирургические вмешательства с последующей комплексной интенсивной терапией. Всем больным в комплексную терапию включали стандартные антиоксидантные препараты (α-токоферол, аскорбиновая кислота). Однако по данным клинического обследования, несмотря на комплексную интенсивную терапию после проведенной хирургической санации у больных сохранялась клинически выраженная интоксикация, которая подтверждалась данными лабораторных анализов, в том числе повышением уровня МДА ( $5,0 \pm 0,4$  мкмоль/л), разнонаправленными изменениями активности и концентрации эндогенных антиоксидантов и иммуносупрессией (CD3+  $45,2 \pm 4,2\%$ , CD4+  $26,7 \pm 3,7\%$ , ЛИП  $14,6 \pm 1,6$ ).

На фоне терапии с включением Лапрота (подгруппа 1а) в большинстве наблюдений отмечено уменьшение клинических признаков эндотоксемии, улучшение состояния больных, что коррелировало с положительной динамикой лабораторных показателей.

Отмечено выраженное уменьшение признаков печеночной недостаточности (билирубин общий -  $47,8 \pm 4,8 \rightarrow 12,5 \pm 1,2$  мкмоль/л, прямой -  $28,7 \pm 3,6 \rightarrow 3,9 \pm 0,6$  мкмоль/л, АСТ -  $105 \pm 19 \rightarrow 38,7 \pm 6,9$  у.е., АЛТ -  $105 \pm 26 \rightarrow 34,0 \pm 5,9$  у.е.), ослабление проявлений эндотоксемии (палочкоядерные нейтрофилы -  $30,4 \pm 2,9 \rightarrow 9,1 \pm 1,4\%$ , лимфоциты -  $6,3 \pm 1,0 \rightarrow 15,4 \pm 1,9\%$ , среднемолекулярные пептиды -  $0,43 \pm 0,03 \rightarrow 0,29 \pm 0,03$  у.е., МДА -  $5,0 \pm 0,4 \rightarrow 4,2 \pm 0,2$  мкмоль/л), нормализация показателей лимфоцитарного звена иммунитета (CD3+  $45,2 \pm 4,2 \rightarrow 59,0 \pm 3,8\%$ , CD4+  $26,7 \pm 3,7 \rightarrow 38,0 \pm 5,0\%$ , ЛИП -  $14,6 \pm 1,6 \rightarrow 20,5 \pm 1,1$ ). Подобных положительных сдвигов в показателях гомеостаза больных группы сравнения не наблюдалось.

**Таким образом, включение препарата «Лапрот» в комплексную интенсивную терапию больных с послеоперационными гнойно-воспалительными осложнениями после**

хирургической санации гнойного очага способствует улучшению клинического течения заболевания, что коррелирует с выраженной положительной динамикой показателей гомеостаза, характеризующих глубину эндотоксемии и печеночной недостаточности. Препарат «Лапрот» может быть рекомендован как эффективное средство детоксикации при гнойно-воспалительных заболеваниях.

#### 11.6.2. Применение препарата «Лапрот» у больных, находящихся на химио-лучевом лечении

При обследовании больных, получавших химиолучевое лечение (ХЛЛ), были выявлены лабораторные признаки токсических реакций терапии: интенсификация окислительных процессов, разбалансировка эндогенных антиоксидантов, что коррелировало с клиническими проявлениями побочных токсических эффектов. В связи с этим актуальной задачей являлось клиническое внедрение средств, направленных на предотвращение и купирование общих и местных токсических реакций ХЛЛ.

В качестве средства корригирующей терапии был исследован препарат «Лапрот». Для оценки его эффективности была сформирована группа 2 (n=70) - больные с различной локализацией опухолевого процесса III-IV стадии, которым проводили ХЛЛ. Группу 2 составили подгруппы 2а и 2б:

подгруппа 2а (n=34), в которой препарат «Лапрот» назначали перед проведением ХЛЛ: внутривенно, в суточной дозе 50мг, ежедневно, в течение 3-х дней.

подгруппа 2б (n=36) - группа сравнения к подгруппе 2а (без Лапрота).

Еще до начала лечения гомеостаз больных с местно-распространенным злокачественным процессом (2-ая группа) характеризовался значительным усилением как интенсивности окислительных процессов, так и активности эндогенных компонентов защиты от окислительного стресса (табл.11).

Таблица 11

Динамика изменения показателей окислительно-антиокислительной системы у больных с местнораспространенными злокачественными новообразованиями под влиянием препарата «Лаорот» и химио-лучевого лечения

Группа	Этап обследования	МДА Мкмоль/л	Кат У.е.	ЦП У.е.	ЛФ Мг/л	Каос
2а	До коррекции	4,9±0,9*	436±58	0,60±0,04*	4,2±0,9*	2,0±0,7
	После коррекции	3,9±0,6	521±67	0,58±0,03	3,7±0,5*	2,6±0,6*
	После ХЛЛ	3,5±0,8	429±43	0,56±0,04	2,9±0,7*	
2б	До ХЛЛ	4,2±0,8	451±49	0,62±0,03*	3,8±0,8*	2,2±0,8
	После ХЛЛ	4,8±0,5*	413±38*	0,59±0,05	2,5±0,9	1,1±0,5
Норма		2,8-3,3	500-600	0,49-0,53	0,9-1,5	0,8-1,5

Применение препарата «Лапрот» для коррекции гомеостаза перед проведением ХЛЛ способствовало предупреждению развития окислительного стресса в организме больных при проведении ХЛЛ (рис. 6).

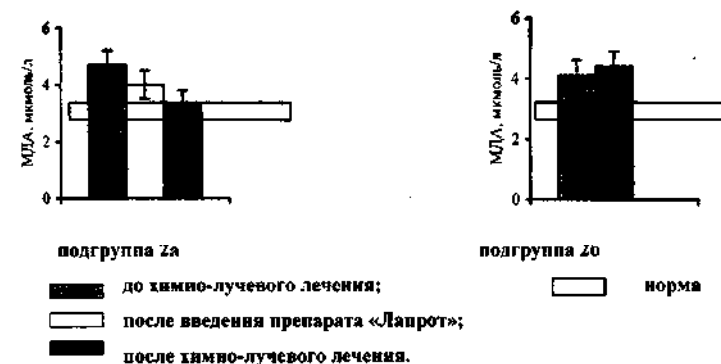


Рисунок 6. Динамика изменения интенсивности ПОЛ под влиянием препарата «Лапрот» и ХЛЛ у больных с местнораспространенным опухолевым процессом.

подгруппа 2а

■ до химио-лучевого лечения;

□ после введения препарата «Лапрот»;

— норма

подгруппа 2б

■ до химио-лучевого лечения;

□ после введения препарата «Лапрот»;

— норма

Рисунок 6. Динамика изменения интенсивности ПОЛ под влиянием препарата «Лапрот» и ХЛЛ у больных с местнораспространенным опухолевым процессом.

Положительная динамика показателей гомеостаза больных, получавших превентивную корригирующую терапию препаратом «Лапрот», сопровождалась практически 2-х кратным уменьшением числа и степени выраженности общих и местных токсических реакций химио-лучевого лечения: токсические реакции отмечены у 26,5% больных подгруппы 2а (9 из 34 больных) и у 44,5% больных подгруппы 2б (16 из 36 больных).

Результаты экспериментальных исследований показали, что поливитаминный комплекс (ПВК) на основе антиоксидантных витаминов А, Е, С и Р-каротина обладает детоксицирующей способностью. Поэтому его использовали в качестве корригирующего средства в схеме подготовки больных местнораспространенным раком шейки матки (РШМ, Т3NX-1M0) к ХЛЛ с целью профилактики постлучевых токсических реакций.

Обследованные больные составили группу 3 (n=52), включившую 2 подгруппы:

подгруппу 3а (n=25), больным которой в плане подготовки к ХЛЛ назначали ПВК,

подгруппу 3б (n=27), группа сравнения к подгруппе 3а (без ПВК)

ПВК назначали больным **подгруппы 3а** перорально в течение 7 дней до начала ХЛЛ. Курсовые дозы витаминов составляли: р- каротин - 70мг; о-токоферола ацетат - 2100мг; ретинола ацетат - 231000МЕ; аскорбиновая кислота - 4200мг.

Гомеостаз больных РШМ еще до начала лечения характеризовался интенсификацией ПОЛ (МДА  $3,9 \pm 0,1$ мкМ/л), увеличением активности ЦП ( $0,64 \pm 0,02$ у.е.), концентрации ЛФ ( $1,9 \pm 0,3$ мкг/мл), секреторной активности нейтрофилов ( $0,60 \pm 0,20$ ) и снижением процентного содержания некоторых показателей лимфоцитарного звена иммунитета (CD3+  $55 \pm 2\%$ , CD4+  $33 \pm 3\%$ , ЛИП  $18,2 \pm 0,5$ ).

По окончании витаминотерапии у больных подгруппы 3а выявлена тенденция к нормализации параметров антиоксидантной системы. Однако последующее проведение ХЛЛ вызвало дисбаланс окислительно-антиокислительной системы и угнетение лимфоцитарного звена иммунитета (ЛИП -  $13,2 \pm 1,9$ ). Выявленные по окончании ХЛЛ нарушения гомеостаза у больных 3а подгруппы сравнимы с таковыми у больных 3б подгруппы (группы сравнения) и согласуются с клиническим состоянием больных. То **есть** данная схема превентивной витаминотерапии с использованием ПВК не приводила к сокращению частоты возникновения и сроков купирования побочных реакций противоопухолевого лечения.

*Таким образом, превентивная витаминотерапия уменьшает выраженность ракового эндотоксикоза, но она недостаточна для предотвращения развития постлучевых токсических реакций.*

#### **П.6.4. Применение БАД «Антиоксифит» у больных раком шейки матки, находящихся на химио-лучевом лечении**

Учитывая данные экспериментальных исследований о высокой антиоксидантной активности и детоксицирующем действии БАД «Антиоксифит», ее использовали в качестве детоксицирующего средства у больных местнораспространенным раком шейки матки ( $T_3N_xiM_0$ ), находящихся на ХЛЛ. Для оценки эффективности БАД «Антиоксифит» была сформирована **группа 4** (n=62) больных, включающая две подгруппы:

**подгруппа 4а** (n=20), больным которой назначали БАД «Антиоксифит» в течение 7-10 дней до начала ХЛЛ (курсовая доза -21-30г) и в течение 30 дней по окончании ХЛЛ (курсовая доза -90г);

**подгруппа 4б** (n=42), группа сравнения к подгруппе 4а (без БАД "Антиоксифит").

Еще до проведения противоопухолевого лечения у обследованных больных группы 4 обнаруживались различной степени выраженности нарушения в антиоксидантной и иммунной системах, аналогичные таковым у больных группы 3. Без превентивной корригирующей терапии проведение ХЛЛ вызывало усиление окислительных реакций в организме:

концентрация МДА у 63% пациенток подгруппы 4б превышала нормальные значения. При дальнейшем наблюдении (через 30 дней после проведения ХЛЛ) число больных с повышенной интенсивностью ПОЛ увеличилось до 78%. Интенсификация окислительных процессов после ХЛЛ сопровождалась угнетением лимфоцитарного звена иммунитета: общее количество CD3<sup>-</sup>, CD 16<sup>+</sup> - позитивных субпопуляций лимфоцитов было снижено у 60% и 47% больных, соответственно.

Назначение БАД «Антиоксифит» больным РШМ III стадии перед началом ХЛЛ в течение 7-10 дней способствовало поддержанию активности антиокислительного звена системы детоксикации на высоком уровне после ХЛЛ (Каос  $1,8 \pm 0,3$ ), в то время как в подгруппе 4б интенсивность окислительных процессов возросла на фоне снижения активности эндогенных антиоксидантов (Каос  $0,8 \pm 0,2$ ).

Однако анализ клинического статуса больных группы 4 в процессе и по окончании проведения противоопухолевого лечения показал, что применение БАД «Антиоксифит», также как применение ПВК у больных подгруппы 3а. не привело к выраженному клиническому эффекту. Вероятно, что местные реакции, вызванные столь агрессивным лечением как химио-лучевая терапия, не могут быть купированы БАД и поливитаминными препаратами - мягкими антиоксидантными и иммуномодулирующими средствами, относящимися к группе адаптогенов.

#### **Н.6.5. Применение БАД «Антиоксифит» у больных с генерализованным опухолевым процессом**

Проблема оказания эффективной медицинской помощи больным с распространенными формами злокачественных новообразований остается актуальной для клинической онкологии.

Одним из путей нормализации гомеостаза больных с распространенным злокачественным процессом может быть включение в комплекс паллиативной помощи антиоксидантных средств растительного происхождения - БАД.

Для оценки эффективности применения БАД «Антиоксифит» у больных со злокачественными новообразованиями, находящихся на симптоматическом амбулаторном лечении, была сформирована **группа 5** больных (n=42), включавшая две подгруппы:

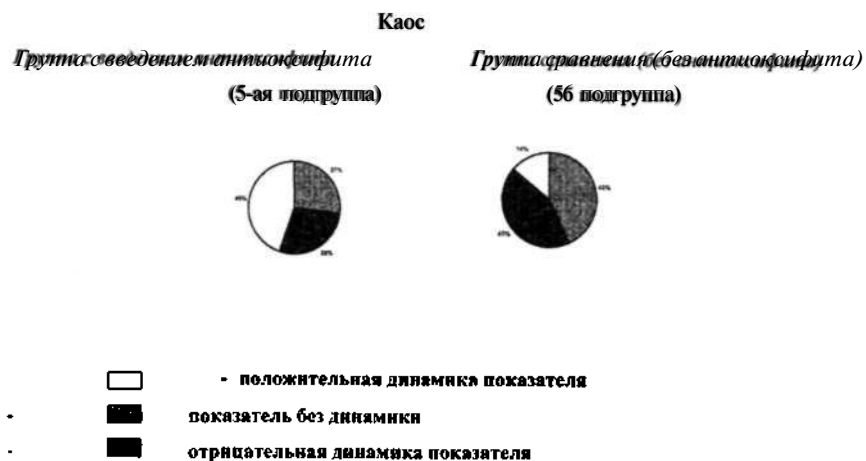
**подгруппа 5а** (n=19) - больные с распространенным опухолевым процессом (IV стадии) различной локализации, находящиеся на симптоматическом лечении, которым на фоне симптоматического лечения назначали БАД «Антиоксифит» в течение 30 дней (курсовая доза **90г**);

**подгруппа 5б** (n=23) - группа сравнения к подгруппе 5а (без БАД «Антиоксифит»).



Больные с генерализованным злокачественным процессом (IV стадии) независимо от локализации первичного опухолевого очага характеризовались резко выраженным токсикозом. Общее состояние больных по шкале Карновского составляло 60-70%. Лабораторное обследование выявило изменения показателей окислительно-антиокислительной и иммунной систем, которые коррелировали с клиническим состоянием больных. При этом гематологические и биохимические показатели крови в большинстве случаев достоверно не отклонялись от средне-статистических нормальных величин. Это свидетельствует о меньшей информативности рутинных анализов крови по сравнению с показателями окислительно-антиокислительного и иммунного статусов.

Под влиянием БАД «Антиоксифит» у больных наметилась тенденция к нормализации показателей окислительно-антиокислительной системы (рис.7), которая коррелировала со значительным улучшением качества жизни у 56% больных группы 5а. Такой положительной динамики состояния больных не наблюдалось в группе сравнения (подгруппе 5б), где во время 2-ого обследования (через месяц после 1-ого обследования) отмечено нарастание слабости у 43% пациентов.



**Рисунок 7.** Динамика изменения Каос у больных с генерализованным опухолевым процессом с применением БАД «Антиоксифит» (подгруппа 5а) и без нее (подгруппа 5б).

*Таким образом использование БАД «Антиоксифит» в схемах поддерживающей терапии у больных с генерализованным злокачественным процессом приводит к уменьшению выраженности ракового токсикоза.*

#### 11.6.6. Применение БАД «Антиоксифит» у больных, находящихся на химиотерапевтическом лечении

Основным методом противоопухолевого лечения больных с генерализованным злокачественным процессом является полихимиотерапия (ПХТ). Проведение химиотерапевтического лечения оказывает значительную нагрузку на систему детоксикации и нередко приводит к угнетению ее функциональной активности, что является причиной возникновения общих и местных токсических реакций ПХТ [Prasad K., et al, 2004, Kwong KK., et al, 2004, Ladas EJ, et al, 2004].

Поэтому актуальной является разработка способов коррекции системы детоксикации у больных, находящихся на химиотерапевтическом лечении.

Перспективными средствами для этого представляются БАД с высокой антиоксидантной активностью и с широким спектром физиологического действия, к которым относится БАД «Антиоксифит».

Для оценки эффективности применения БАД «Антиоксифит» у больных раком молочной железы III стадии (T34N12M0), находящихся на химиотерапевтическом лечении, была сформирована группа 6 больных (n=49), включившая две подгруппы:

подгруппа 6а (n=22), в которой больным после проведения курса ПХТ по схемам CAF или CMF назначали БАД "Антиоксифит" в суточной дозе 3г в течение 14 дней (курсовая доза 42г);

подгруппа 6б (n=27) - группа сравнения к подгруппе 6а (без БАД «Антиоксифит»),

Состояние окислительно-антиокислительной системы больных группы 6 до проведения курса ПХТ характеризуется значительными нарушениями: активация окислительных процессов и разбалансировка эндогенных антиоксидантов отмечена у 54±5% обследованных больных. Отмечена также иммуносупрессия у этих больных.

Через 10-14 дней после окончания курса ПХТ у больных группы сравнения выявлено углубление нарушений в состоянии окислительно-антиокислительной системы, что проявилось в интенсификации окислительных процессов у 89% больных и отрицательной динамике эндогенных антиоксидантов у 67% больных.

По данным клинического обследования, назначение антиоксифита способствовало улучшению переносимости последующего курса ПХТ, что объективно подтвердилось данными лабораторного обследования: нормальный уровень ПОЛ отмечен у 47% больных, общее количество Т-лимфоцитов (CD3+) находилось в пределах нормальных значений у 48% больных, естественных киллеров (CD 16+) - у 30% больных подгруппы 6а, в то время как в группе сравнения (подгруппа 6б) не было ни одного больного с ПОЛ в пределах нормы,

содержание Т-лимфоцитов и естественных киллеров находилось в пределах нормы у 7% и 13% больных, соответственно.

*Проведенная апробация антиоксидантных средств различных классов и с различной антиоксидантной активностью позволяет заключить, что у больных с распространенным опухолевым процессом, который обуславливает наличие ракового токсикоза, в качестве детоксицирующих средств для поддерживающей терапии эффективно применение поливитаминных комплексов на основе витаминов А, С, Е и /I-каротина, а также биологически активных добавок к пище с высокой антиоксидантной активностью (БАД «Антиоксифит»). Однако их применение мало эффективно для снижения токсикоза, обусловленного агрессивным противоопухолевым лечением - химио-лучевой терапией. Для успешной детоксикации и уменьшения количества токсических постлучевых реакций целесообразно применять более мощные антиоксиданты, такие как препарат «Лапрот» на основе эндогенного гликопротеида - лактоферрина человека.*

*В то же время совокупность результатов доклинических исследований и клинических испытаний БАД «Антиоксифит» позволяет рекомендовать ее для дальнейшего изучения и регистрации в качестве лекарственного средства.*

#### II.7. Препарат Имунофан на основе синтетического модифицированного тимического гормона - оценка эффективности применения в схеме поддерживающей терапии онкологических больных

Препарат «Имунофан» относится к препаратам на основе иммунорегуляторных пептидов IV поколения [Лебедев В.В. и др., 1998]. Нами показано, что Имунофан оказывает модулирующее действие в отношении антиоксидантного звена системы естественной резистентности организма, то есть является иммунооксидоредуктантом.

Целью настоящего раздела исследований явилась оценка эффективности применения препарата «Имунофан» в схеме поддерживающей терапии онкологических больных.

Препарат «Имунофан» применили в плане подготовки к ХЛЛ больных с местно-распространенным опухолевым процессом: больных раком пищевода III-IV стадии (группа 7, n=83) и больных РШМ III стадии (группа 8, n=91).

Каждую группу составили две подгруппы, которые были сформированы не методом рандомизации, а с учетом выраженности нарушений в антиоксидантной и иммунной системах (у больных опытных групп нарушения были более выраженными):

**подгруппа 7а** (n=35) - больные раком пищевода, которым вводили имунофан в дозе 1мл 0,005% раствора внутримышечно, 3-хкратно через день;

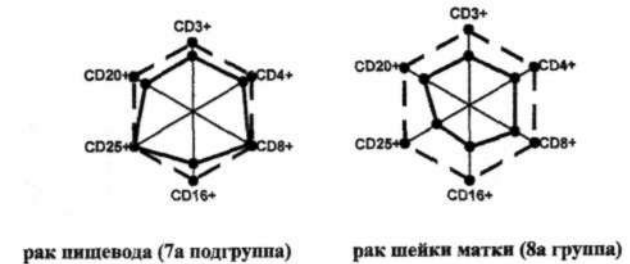
**подгруппа 7б** (n=56), группа сравнения к подгруппе 7а (без имунофана)

**подгруппа 8а** (n=43) - больные РШМ, которым вводили имунофан в дозе 1мл 0,005% раствора внутримышечно, ежедневно в течение 5-и дней перед ХЛЛ;

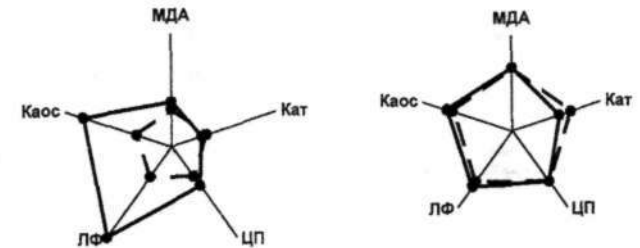
**подгруппа 8б** (n=40) - группа сравнения к подгруппе 8а (без имунофана).

Состояние антиоксидантного и иммунного звеньев гомеостаза больных групп 7 и 8 отражено на рисунке 8.

#### Лимфоцитарное звено иммунитета



#### Окислительно-антиокислительная система



\* - статистически достоверное отличие от нормальных значений ( $p < 0,05$ )

^ норма;

^^ онкологические больные;

**Рисунок 8.** Состояние гомеостаза у больных раком пищевода и раком шейки матки до начала химио-лучевого лечения.

При детальном анализе влияния имунофана на систему антиоксидантной защиты у больных раком пищевода (подгруппа 7а) были обнаружены значительные различия в лабораторных показателях больных, перенесших последующее ХЛЛ с выраженными воспалительными реакциями в зоне облучения (подгруппа 7а<sub>2</sub> n=8) и без таковых (подгруппа 7а<sub>1</sub>, n=27) (рис.9).

Гомеостаз больных подгруппы 7а<sub>1</sub> (с реакциями) характеризовался значительно более выраженным дисбалансом окислительно-антиокислительной системы, а именно избыточной

активацией компонентов антиоксидантной системы, являющихся белками острой фазы воспаления (ЦП  $0,67 \pm 0,04$  у.е. и ЛФ  $5,0 \pm 1,2$  мг/л), при низком значении активности каталазы ( $351 \pm 66$  у.е.), в то время как эти показатели у больных подгруппы 7аг имели меньшие отклонения от нормальных значений: ЦП  $0,57 \pm 0,02$  у.е., ЛФ  $2,7 \pm 0,6$  мг/л, Кат  $493 \pm 84$  у.е. При этом у больных подгруппы 7а<sub>1</sub> в отличие от больных подгруппы 7аг, отсутствовал адекватный ответ компонентов системы естественной резистентности на имунофан.

Подгруппа 7а<sub>1</sub> (с реакциями)Подгруппа 7а<sub>2</sub> (без реакций)

— норма

— онкологические больные

Рисунок 9. Состояние системы антиоксидантной защиты у больных раком пищевода до начала проведения иммунохимиолучевого лечения.

\* - статистически достоверное отличие от нормальных значений ( $p < 0,05$ ).

Имунофан оказывал протекторное действие в отношении лимфоцитарного звена иммунитета на протяжении всего курса противоопухолевой терапии (табл.12).

Динамика изменения показателей лимфоцитарного звена иммунитета у больных раком пищевода под влиянием препарата «Имунофан» и ХЛЛ

Таблица 12

Группа	Срок обслед.	CD3+ %	CD4+ %	CD8+ %	CD20+ %	CD25+ %	CD 16+ %	ЛИП
7а подгруппа (Имунофан)	До коррекции	51,8±2,1	25,3±1,8	16,2±1,9	3,9±0,4	3,3±0,4	9,5±1,9	15,2±0,6
	После коррекции	57,6±2,9	36,0±2,1	22,1±1,3	3,6±0,4	3,2±0,4	13,6±2,0	18,7±1,3
	После ХЛЛ	50,5*3,6	30,2±2,6	20,6±2,4	3,0*0,3	4,6±0,6	10,8*1,4	16,3±1,2
	После ХЛЛ	55,2±3,9	30,2±2,0	18,3±2,4	4,5±0,5	1,9±0,9	12,1±1,2	16,9±0,5
7б подгруппа (сравнения)	До ХЛЛ	42,8±3,2	24,6±2,3	13,1±2,0	3,5±1,8	5,8±0,7	8,7±2,4	13,4±0,9
	После ХЛЛ	42,8±3,2	24,6±2,3	13,1±2,0	3,5±1,8	5,8±0,7	8,7±2,4	13,4±0,9
Норма		61-75	36-50	19-32	5-15	0-2	12-19	19-26

\* - статистически достоверное отличие от нормальных значений ( $p < 0,05$ )

\*\* - статистически достоверное отличие от исходных значений ( $p < 0,05$ )

Больные раком пищевода, получавшие превентивную корригирующую терапию препаратом имунофан (подгруппа 7а), перенесли лучевое лечение значительно лучше, чем больные раком пищевода подгруппы 7б (сравнения), о чем свидетельствует количество и спектр осложнений ХЛЛ (рис. 10).



1 - больные раком пищевода, получавшие терапию имунофаном (подгруппа 7а)

2 - больные раком пищевода, не получавшие терапию имунофаном (подгруппа 7б)

Рисунок 10. Частота развития лучевых реакций у больных раком пищевода с корригирующей терапией препаратом «Имунофан» и без нее.

При оценке влияния имунофана на показатели антиоксидантной системы у больных РШМ отмечена тенденция к нормализации состояния окислительно-антиокислительной системы. Однократное ежедневное (в течение 5-и дней) введение препарата имунофан больным РШМ приводило к достоверному повышению показателей лимфоцитарного звена иммунитета: содержание цитотоксических клеток и В-лимфоцитов увеличилось в 2-3 раза и сохранилось на этом уровне после окончания ХЛЛ (табл. 13).

Таблица 13

Динамика изменения показателей лимфоцитарного звена иммунитета у больных РШМ под влиянием препарата имунофан и ХЛЛ

Группа	Срок обслед.	CD3+ %	CD4+ %	CD8+ %	CD20+ %	CD25+ %	CD16+ %	ЛИП
8а (Имунофан)	До коррекции	39,3±4,2	24,2*3,1	12,4*2,3	3,0±0,5	1,5*0,6	6,2*1,3	13,0*1,3
	После коррекции	50,1±3,2	26,1*3,4	24,1±3,2	7,0±0,1	4,3*1,0	18,3±3,2	17,8*1,5
	После ХЛЛ	47,3±4,4	24,1*2,4	18,3*2,1	5,0*1,1	2,3*0,4	6,2*1,3	15,9*1,0
8б (сравнения)	До ХЛЛ	58,8±1,2	39,2+1,6	27,3+1,4	5,0±0,5	3,9*0,9	17,1±1,2	20,3±0,5
	После ХЛЛ	43,1±3,2	22,6±2,3	21,4±2,0	5,3+1,3	4,1*0,7	16,9±2,6	14,7+0,9
Норма		61-75	36-50	19-32	5-15	0-2	12-19	19-26

\* - статистически достоверное отличие от исходных значений ( $p < 0,05$ )

Превентивное введение Имунофана способствовало 2-х кратному снижению частоты токсических реакций со стороны ЖКТ, мочевого пузыря и слизистой оболочки в зоне облучения.

Анализ динамики изменения состояния лимфоцитарного звена иммунитета больных РШМ выявил, что ХЛЛ приводит к углублению иммуносупрессии у 96,3% больных.

В связи с этим для проведения реабилитационной терапии применили препарат имунофан (**группа 9**, n=40). Для отработки более эффективной схемы корригирующей терапии исследовали два режима введения препарата: 5 инъекций (по 1-ой инъекции в сутки) через день - **подгруппа 9а** (n=20); 10 инъекций (по 1-ой инъекции в сутки) препарата ежедневно - **подгруппа 9б** (n=20).

Результаты лабораторного обследования показали, что 5-и кратное введение имунофана через день является менее эффективным, чем 10-и кратное ежедневное введение, что коррелировало с меньшей клинической эффективностью 1-ого режима. 10-и кратное введение способствовало 2-х кратному сокращению сроков купирования местных токсических реакций ХЛЛ.

*Таким образом, терапевтическое действие имунофана реализуется в существенной положительной динамике показателей гомеостаза, особенно его иммунного звена, что приводит к улучшению общего состояния больных, уменьшению количества и ослаблению интенсивности побочных реакций специфического лечения при превентивном применении имунофана и к сокращению сроков купирования возникших реакций при его последующем назначении.*

*Клиническое применение имунофана показало, что помимо выраженного иммуномодулирующего эффекта, препарат нормализует состояние окислительно-антиокислительной системы организма, что подтверждает его принадлежность к новому классу иммуотропных препаратов - иммунооксидоредуктантов.*

#### **Практические рекомендации**

Результаты проведенных исследований показали, что состояние антиоксидантной и иммунной систем гомеостаза организма значительно изменяется при развитии злокачественного опухолевого процесса. Все методы противоопухолевого лечения усугубляют нарушения, имеющиеся у онкологических больных. Это приводит к ухудшению переносимости специфического противоопухолевого лечения и качества жизни больных. Применение антиоксидантных и иммуотропных препаратов уменьшает степень нарушений, улучшает переносимость лечения и качество жизни больных.

Полученные результаты позволяют сформулировать следующие практические рекомендации:

1. Включить в обследование больных со злокачественными новообразованиями любой локализации и стадии определение показателей окислительно-антиокислительного и иммунного статусов.

2. Оценку состояния окислительно-антиокислительной и иммунной систем проводить до начала и по окончании каждого этапа или курса специфического противоопухолевого лечения.

3. При выявлении нарушений в окислительно-антиокислительной и/или иммунной системах проводить их коррекцию антиоксидантными и/или иммуотропными средствами с учетом выраженности нарушений:

при снижении коэффициента антиоксидантной системы (Каос) не более чем на 25% (по сравнению со средне статистически нормальными значениями) для коррекции может быть использован пероральный прием поливитаминного антиоксидантного комплекса в суточной дозе: аскорбиновая кислота - 600 мг, ретинола ацетат - 3300МЕ, а-токоферола ацетат - 300 мг, Р-каротин - 10мг или БАД «Антиоксифит» в суточной дозе 3г в течение 10-14 дней;

при снижении Каос более чем на 25% для коррекции может быть использовано внутривенное введение препарата «Лапрот» в суточной дозе 50мг или 100мг в течение 3-10 суток в зависимости от тяжести выявленных нарушений и эффективности лечения;

при снижении лимфоцитарного интегрального показателя (ЛИП) более чем на 25% (по сравнению со средне статистически нормальными значениями) для коррекции состояния лимфоцитарного звена иммунитета может быть использовано внутримышечное введение препарата «Имунофан» в суточной дозе 1мл 0,005% раствора в течение 3-10 суток в зависимости от степени выявленной иммуносупрессии.

#### **Выводы**

1. Рациональный алгоритм оценки системы детоксикации у больных со злокачественными новообразованиями должен включать определение компонентов окислительно-антиокислительного баланса в организме: концентрации малонового диальдегида, лактоферрина, активности церулоплазмينا, каталазы.

2. Результаты экспериментальных и клинических исследований с использованием данного разработанного алгоритма свидетельствуют, что в патогенезе токсических состояний организма со злокачественной опухолью важную роль играют свободно-радикальные окислительные процессы; изменение активности компонентов окислительно-антиокислительной системы происходит на более раннем этапе токсического состояния, чем

общепринятых биохимических показателей крови, и служит диагностическим признаком развития токсикоза.

3. По данным экспериментальных и клинических исследований распространенность опухолевого процесса и выраженность нарушений в окислительно-антиокислительной системе организма находятся в прямой зависимости: у интактных животных концентрация МДА в крови составляет  $2,6 \pm 1,1$  мкмоль/л, при локальном росте опухоли повышается до  $3,4 \pm 0,7$  мкмоль/л, при генерализованном процессе - до  $5,8 \pm 1,3$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ). У больных со злокачественными новообразованиями нарушения в этих системах наблюдаются в  $37 \pm 15\%$  случаев при I-II стадии заболевания, в  $83 \pm 8\%$  случаев - при III-IV стадии.

4. Все виды противоопухолевого лечения обуславливают усиление дисбаланса в окислительно-антиокислительной и иммунной системах, который прямо коррелирует с возникновением и степенью выраженности токсических последствий специфического лечения и сопровождается развитием вторичного иммунодефицита. Ухудшение показателей окислительно-антиокислительной системы наблюдается в  $25 \pm 7\%$  случаев после операции при неосложненном течении послеоперационного периода, в  $96 \pm 4\%$  случаев - при гнойно-воспалительных послеоперационных осложнениях, в  $18 \pm 4\%$  случаев после ПХТ и в  $27 \pm 6\%$  случаев после ХЛТ.

5. Разработанные методологические подходы к созданию и доклиническому изучению антиоксидантных средств, предназначенных для применения в онкологической клинике, включают изучение:

- безвредности (общетоксического действия);
- безопасности применения у животных с перевиваемыми экспериментальными опухолями различного гистогенеза;
- специфической активности;
- химиофилактического (антиканцерогенного) действия.

6. Разработаны оригинальные средства для коррекции токсических состояний различного генеза:

- препарат «Лапрот» на основе лактоферрина женского молока (лекарственная форма: лиофилизат для приготовления растворов для инъекций 50/2,5 мг во флаконе), не имеющий аналогов в мировой фармакопее (препарат проходит регистрацию);
- биологически активная добавка «Антиоксифит» на основе сухих экстрактов лекарственных растений: дягиля низбегающего, календулы лекарственной, герани луговой, подорожника большого, лапчатки кустарниковой (регистрационное удостоверение № 002313.643.12.2000).

7. Экспериментальные исследования физиологического действия антиоксидантных средств показали, что:

- препарат «Лапрот» обладает высокой антиоксидантной активностью ( $710 \pm 25$  у.е.), детоксицирующим, антибактериальным, иммуномодулирующим и антиканцерогенным действием;
- наиболее эффективное детоксицирующее действие оказывает сочетанное применение белковых антиоксидантных препаратов «Лапрот» и «Церулоплазмин»;
- БАД «Антиоксифит» обладает антиоксидантной активностью ( $50 \pm 4$  у.е.), превышающей таковую витаминов-антиоксидантов (А, Е, С, р-каротина), общеукрепляющим, детоксицирующим, и антиканцерогенным действием;
- антиоксидантные витамины (в моноварианте и в комплексе) эффективны для уменьшения токсикоза, индуцированного перевивными опухолями и введением цитостатических препаратов;
- антиоксидантные средства могут быть использованы в схемах корригирующей терапии с целью купирования ракового токсикоза и токсических реакций противоопухолевого лечения.

8. Клиническая апробация антиоксидантных средств различных классов показала, что эффективность детоксицирующего действия прямо коррелирует с величиной антиоксидантной активности этих средств и глубиной нарушений в окислительно-антиокислительной системе организма:

- наиболее активный препарат «Лапрот» эффективен в терапии токсических состояний, обусловленных наличием злокачественной опухоли, гнойно-воспалительного процесса, проведением лучевого, химио- и химиолучевого лечения;
- поддерживающая антиоксидантная витаминотерапия эффективна для нормализации гомеостаза больных со злокачественными новообразованиями, но не оказывает достаточного детоксицирующего действия для снижения выраженности токсических реакций химиолучевого лечения;
- применение БАД «Антиоксифит» эффективно для уменьшения ракового токсикоза и восстановления гомеостаза онкологических больных после полихимиотерапии, но недостаточно эффективно для снижения токсических реакций химиолучевого лечения.

9. Иммуномодулирующий препарат «Имунофан» эффективен для нормализации Т-лимфоцитарного звена иммунитета при его супрессии (ЛИП до коррекции имунофаном -  $13,0 \pm 1,3$ , после коррекции -  $17,8 \pm 1,5$  ( $p < 0,05$ ) и для активации компонентов эндогенной антиоксидантной защиты организма онкологических больных (увеличение концентрации ЛФ на  $40 \pm 4\%$ , снижение концентрации МДА на  $14 \pm 6\%$ ).

10. Превентивное применение препарата «Имунофан» способствует уменьшению количества и степени выраженности побочных реакций химио-лучевого лечения: количество случаев с реакциями, обусловившими перерыв в лечении, снижается в 1,5-2 раза, количество случаев с реакциями со стороны слизистых - в 2-3 раза при отсутствии обострения сопутствующих заболеваний (в группе сравнения обострений - 10,8%); применение имунофана по окончании противоопухолевого лечения ускоряет период реабилитации больных в 2 раза.

#### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, И.Д.Коханова, В.Н.Дума, С.К.Александр. Лактоферрин человека: получение высокоочищенных препаратов из молока женщин, некоторые физико-химические свойства и распределение в нормальных и опухолевых тканях. // Вопросы мед. Химии, 1986, №6, с.75-79.
2. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, М.Д.Коростелева. К методике синтеза аффинных сорбентов. //Лаб. Дело, 1987, №7, с. 536-539.
3. В.И.Борисов, А.С.Мамонтов, Р.И.Якубовская, М.М.Уткин, Е.Р.Немцова. Превентивная гемосорбция при раке пищевода. // Советская медицина, 1988, № 10, С. 34-37.
4. Н.И.Казачкина, И.Д.Коханова, Е.Р.Немцова, С.Г.Егорова, Г.И.Авдеев, Р.И.Якубовская. Иммуногистохимическое выявление лактоферрина женского молока в тканях взрослого человека и плода. // Архив анат., гистол. и эмбриол., 1988, №5, с. 19-23.
5. Е.Р.Немцова, М.М.Уткин, Р.И.Якубовская. Иммунохимическое сравнение лактоферрина женского молока и нейтрофилов. // Вопросы мед.химии, 1988, №3 с.127-130.
6. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова. Метод иммуногистохимического выявления лактоферрина в нейтрофилах человека. // Гематол и трансфузиол., 1988, №5, с.56-58.
7. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, М.М.Уткин, Н.И.Казачкина, Г.И.Авдеев. К вопросу о молекулярных механизмах действия гемосорбции. // Вопросы мед.химии, 1990, №4, с.11-15.
8. Н.И.Казачкина, Е.Р.Немцова, Р.И.Якубовская, Т.А.Кармакова Л.М. Иванова, А.В.Соколов. Изучение фармакокинетики лактоферрина женского молока у интактных мышей и животных-опухоленосителей. // Вопросы мед. Химии, 1991, №3, с.35-37.
9. Л.М.Иванова, Е.Р.Немцова, Р.И.Якубовская. Изучение влияния гемосорбентов на структуру полиморфноядерных лейкоцитов человека. // Анестез. реаниматол., 1992, №3, с.55-58.
10. Е.Р.Немцова, Л.М.Иванова, Р.И.Якубовская. Иммуноферментный метод определения лактоферрина человека и его использование для диагностики гнойно-септических состояний. // Вопр. мед.химии, 1995, №3, с.58-61.
11. Р.И. Якубовская, Е.Р. Немцова, В.В. Сургай, Т.В.Сергеева, А.В.Бойко, Л.В.Демидова, Т.А.Телеус. Коррекция гомеостаза у онкологических больных препаратом лапрот. // Российский онкологический журнал.- 1996.-N 2.- С.10-13.
12. Р.И.Якубовская., В.В.Соколов, Е.Р.Немцова, В.К.Оганезов, И.Я.Щербицкая, Е.В.Филоненко, Е.И.Аристархова. Влияние фотодинамической терапии на состояние иммунной системы и антиоксидантного статуса у онкологических больных. // Российский онкологический журнал, 1997, N2, С. 27-32.
13. Н.В. Эделева., Н.А. Осипова, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева. Новые возможности профилактики и коррекции послеоперационных гнойно-септических осложнений и полиорганной недостаточности в онкохирургии. // Анестезиология и реаниматология, 1997, N3, С.36-41.
14. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, И.Я.Щербицкая, К.Л.Андреева, Л.В.Демидова, Т.А.Телеус, А.К.Смирнов, А.В.Бойко, В.В.Лебедев, Т.В.Сергеева, О.Г.Степанов. Применение отечественного препарата Имунофан для коррекции гомеостаза у больных с местнораспространенным опухолевым процессом. //Российский онкологический журнал, 1998, N6.-С36-42.

15. А.В.Бойко, Л.В.Демидова, Телеус Т.А., Дунаева Е.А., Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева. Использование радиомодификации для расширения показаний к радикальному лучевому лечению больных с местно распространенными формами рака шейки матки. // Казанский медицинский журнал, 2000, T.LXXXI, N 4, С.287-290.
16. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, О.А.Безбородова. Эффективность клинического применения БАД «Антиоксифит»- БАД антиоксидантного действия. // Medicina altera, 2001, с.8-10
17. Н.В.Эделева, Т.В.Сергеева, Е.Р.Немцова, И.Я.Щербицкая, Р.И.Якубовская, Н.А.Осипова. Антиоксиданты церулоплазмин и лактоферрин в профилактике и лечении послеоперационных осложнений у онкологических больных. // Анестезиология и реаниматология, 2001, N 5, С. 61-64.
18. Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, Р.И.Якубовская. Антиоксиданты - место и роль в онкологии. // В кн. Проблемы патогенеза и терапии иммунных расстройств. Ред. В.В.Лебедев, М: 2002, с. 60-79.
19. Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, К.Л.Андреева, О.А.Безбородова, Т.А.Кармакова, Н.Н.Волченко, Э.А.Кабанова, Н.И.Ларионова, М.Я.Шашкина, Р.И.Якубовская. Профилактика злокачественных новообразований в эксперименте при помощи средств природного происхождения. // Российский онкологический журнал, 2002, №3, с. 30-34.
20. Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, О.А.Безбородова Р.И.Якубовская. Антиоксиданты- место и роль в онкологии. // Российский онкологический журнал, 2003, №5, с. 48-53
21. Д.А. Остапченко, С.М.Радаев, Л.В.Герасимов, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, А.В.Власенко. Влияние перфторана на состояние оксидантно-антиоксидантной системы у больных с тяжелой травмой и кровопотерей. // Анестезиол. Реаниматол, 2003, №3, с.13-15.
22. О.А.Безбородова, Е.Р.Немцова, Р.И.Якубовская, К.Л.Плигина, Т.В.Сергеева, В.И.Чиссов, Э.А.Кабанова, Н.М.Плотникова. Изучение новой БАД «Антиоксифит» растительного происхождения в эксперименте.// Российский онкологический журнал.- 2004.-№2.-39-45.
23. Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева., О.А. Безбородова, Р.И.Якубовская, Н.В.Богданова, Л.В.Демидова, Т.А.Телеус, А.В.Бойко. Апробация и оценка эффективности применения БАД «Антиоксифит». // Российский онкологический журнал.- 2004.-№ 3.-С.40-45.
24. Ю.С.Донскова, Н.А.Осипова, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, Н.В.Эделева. Состояние антиоксидантной и иммунной систем у онкологических больных на этапах хирургического лечения с интраоперационной радиотерапией (ИОРТ). // Анестезиология и реаниматология, 2004, №3, С.24-26.
25. Е.Р.Немцова, М.М.Уткин, А.А.Звягин, И.А.Коряков, Ю.Б.Золотавкина, Т.Н.Андреева, И.А.Батыров, Р.И.Якубовская, В.И.Чиссов. Антиоксиданты в интенсивной терапии - теория и практика. // Российский медицинский журнал, 2006, N 4, С. 18-22.
26. Ю.С.Донскова, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, Н.В.Эделева, Н.А.Осипова. Состояние окислительно-антиокислительного баланса и иммунного статуса онкологических больных на этапах комбинированного лечения. // Анестезиол. реаниматол, 2005, №5, С. 17-22.
27. Е.Р.Немцова, Н.В.Эделева, Н.А.Осипова, Р.И.Якубовская, А.В.Бойко, Л.В.Демидова, В.И.Чиссов. «Лапрот» - новый препарат детоксифирующего, противовоспалительного и иммуномодулирующего действия. // Рос. Онколог. Журнал.-2006, № 4, С. 29-33.
28. Н.В.Эделева, Е.Р.Немцова, Н.А.Осипова, Р.И.Якубовская, Л.И.Иванова, В.И.Чиссов. Роль антиоксиданта Церулоплазмينا в комплексной интенсивной терапии тяжелых постгеморрагических осложнений в онкохирургии. // Анестезиол. реаниматол., 2005, №5, С. 44-49.
29. Н.В. Эделева., Е.Р.Немцова, Р.И.Якубовская, Н.А.Осипова. Препараты Церулоплазмин и Лапрот в комплексе лечения тяжелых послеоперационных гнойно-септических осложнений в онкохирургии. // Российский онкологический журнал, 2005, № 6.- С. 25-28.
30. Н.В. Эделева, Е.Р.Немцова, Л.М. Иванова, Осипова Н.А. Клинические примеры результатов использования церулоплазмينا в составе интенсивной терапии критических состояний Анестезиология и реаниматология, 2005, № 5, С. 49-51.

31. Е.Р.Немцова, О.А.Безбородова, Ю.Б.Золотавкина, Р.И.Якубовская, А.В.Чайка, С.К.Джубалиева, Л.В.Демидова, Н.В.Эделева, О.И.Трушина, В.Д.Мокина, В.И.Чиссов. Состояние антиоксидантной и иммунной систем организма с токсикозом, индуцированным злокачественным процессом и противоопухолевым лечением. // Российский онкологический журнал, 2006, № 5, С. 27-33.
32. В.И.Чиссов, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Н.И.Казачкина, А.С.Мамонтов, В.И.Борисов, М.М.Уткин. Гемосорбция как метод модификации лечения злокачественных новообразований. // В сб.: Модификация лекарственной терапии опухолей, М, ВОИЦ АМН СССР, 1991, С.28-40.
33. В.И.Чиссов, В.И.Борисов, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Н.И.Казачкина. Поиск новых модификаторов лекарственной терапии злокачественных новообразований. // В кн. «Советская онкология», 1991, С.15-30.
34. Н.И.Казачкина, Е.Р.Немцова, Р.И.Якубовская, Л.М.Иванова, В.И.Борисов. Влияние лактоферрина на токсический эффект цисплатина. // В сб. Химиотерапия в лечении онкологических больных, М, 1993, 79-91.
35. Р.И.Якубовская, В.И.Чиссов, В.И.Борисов, Н.А.Осипова, А.С.Мамонтов, А.Х.Трахтенберг, А.В.Бойко, Е.С.Степанова, Е.Р.Немцова. Изучение препарата «Лапрот» по I фазе. // В сб. «Химиотерапия в лечении онкологических больных», М., 1993, с.70-79.
36. Н.В.Эделева, Н.А.Осипова, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, Р.И.Якубовская, М.С.Ветшева, В.А.Береснев, И.Я.Щербицкая. // Антиоксиданты в корригирующей терапии послеоперационных осложнений у онкологических больных. "Биоантиоксидант", Материалы Международного симпозиума в рамках международной выставки "Медицина и охрана здоровья. Медтехника и Аптека", Тюмень, 1997, с.121-124.
37. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, Л.В.Демидова, Т.А.Телеус, А.В.Бойко. Влияние корригирующей терапии на переносимость химиолучевого лечения у больных раком шейки матки. // "Биоантиоксидант", Материалы Международного симпозиума в рамках международной выставки "Медицина и охрана здоровья. Медтехника и Аптека", Тюмень, 1997, с.129-131.
38. В.В.Лебедев, Е.Р.Немцова. Современные аспекты создания и применения синтетических регуляторных пептидов широкого спектра действия в патогенетической терапии инфекционных и неинфекционных болезней. // В кн. Успехи клинической иммунологии и аллергологии. Ред. А.В.Караулов, М., 2001, Т.2, с. 265-275.
39. Фармакопейная Статья Предприятия на препарат «Лапрот», Москва, 2002, регистрационный № 42-0618-6810-05.
40. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Н.И.Казачкина, В.И.Борисов, В.И.Чиссов. Способ получения лактоферрина. // Патент РФ №1709606 (1993).
41. В.И.Чиссов, Р.И.Якубовская, Т.Г.Данилова, Е.Р.Немцова, А.В.Данилов, А.Х.Лайпанов, Р.Я.Лайпанова. Средство для лечения ревматоидных артритов. // Патент РФ №2088238, 1997.
42. В.И.Чиссов, В.И.Борисов, Р.И.Якубовская, А.В.Бойко, Л.В.Демидова, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, Т.А.Телеус. Препарат для лечения местных осложнений консервативного противоопухолевого лечения в орофарингеальной зоне и способ лечения осложнений консервативного противоопухолевого лечения в орофарингеальной зоне. // Патент РФ №2099065.
43. Г.Н.Ворожцов, Е.Ю.Винокурова, Н.И.Казачкина, Ю.М.Лужков, Т.Н.Петрова, Г.А.Толстикова, В.И.Чиссов, Э.Э.Шульц, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова. Средство для лечения онкологических заболеваний в виде водных экстрактов растительного сырья и способ его получения. // Патент РФ N2118536.
44. Г.Н.Ворожцов, Е.Ю.Винокурова, Н.И.Казачкина, Ю.М.Лужков, Т.Н.Петрова, Г.А.Толстикова, В.И.Чиссов, Э.Э.Шульц, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова. Средство для лечения онкологических заболеваний в виде водных экстрактов растительного сырья и способ его получения. // РСТ:W098/24458 от 11.06.98г.(зарубежный патент).
45. Г.Н.Ворожцов, Е.Ю.Винокурова, О.А.Гаврилюк, Н.И.Казачкина, Ю.М.Лужков, Г.А.Толстикова, В.И.Чиссов, Э.Э.Шульц, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова. Средство для лечения

- онкологических заболеваний в виде водных экстрактов растительного сырья и способ его получения. // Патент РФ № 2118166.
46. Г.Н.Ворожцов, Е.Ю.Винокурова, О.А.Гаврилюк, Н.И.Казачкина, Ю.М.Лужков, Г.А.Толстикова, В.И.Чиссов, Э.Э.Шульц, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова. Средство для лечения онкологических заболеваний в виде водных экстрактов растительного сырья и способ его получения. // РСТ:W098/24459 от 11.06.98 (зарубежный патент)
47. В.И.Чиссов, Г.Н.Ворожцов, Р.И.Якубовская, В.В.Соколов, Е.А.Лукиянец, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, Е.В.Филоненко, И.И.Ткач. Способ нормализации иммунного статуса организма, преимущественно онкологических больных. // Патент РФ № 2160587.
48. В.И.Чиссов, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, А.В.Бойко, Т.В.Сергеева, Н.А.Осипова. Антибактериальный, антиоксидантный, иммуномодулирующий и антиканцерогенный препарат и способ его применения. // Патент РФ №2165769.
49. Г.Н.Ворожцов, Э.А.Кабанова, Ю.М.Лужков, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, В.И.Чиссов, Р.И.Якубовская. Средство для профилактики заболеваний онкологического и неонкологического профиля и для коррекции нарушений гомеостаза. // Патент РФ №2208446.
50. В.И.Чиссов, Н.А.Осипова, Р.И.Якубовская, Н.В.Эделева, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева. Способ лечения послеоперационных осложнений. // Патент РФ №2199337.
51. В.И.Борисов, А.С.Мамонтов, Р.И.Якубовская, М.М.Уткин, Е.Р.Немцова, Н.И.Казачкина, А.А.Трофимова Модифицирующее действие превентивной гемосорбции. Материалы Республиканской конференции "Комплексная терапия злокачественных опухолей с применением модифицирующих методов лечения", Днепропетровск, 1988, с.52.
52. В.И.Борисов, М.М.Уткин, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Н.И.Казачкина, А.С.Мамонтов. Защита онкологического больного от цитостатической агрессии при помощи гемосорбции. Материалы Всесоюзного симпозиума "Методы интенсивной терапии в лечении онкологических больных, Калинин, 1989.
53. А.Н.Шипулин, А.Н.Дюгеев, Е.Р.Немцова, Р.И.Якубовская. Новые аспекты проблемы гнойно-септических осложнений у родильниц. Материалы съезда акушеров-гинекологов Грузии, Тбилиси, 1990, с. 134.
54. А.Н.Дюгеев, А.Н. Шипулин, Якубовская Р.И., Е.Р.Немцова. Особенности секреции лактоферрина при различных формах гнойно-септических осложнений у родильниц. Материалы съезда акушеров-гинекологов Грузии, Тбилиси, 1990, с.135.
55. Е.Р.Немцова, Н.И.Казачкина, Т.А.Кармакова, Р.И.Якубовская. Диагностикумы для выявления лактоферрина в тканях и биологических жидкостях. Материалы 2-ой Всесоюзной конференции «Современные направления создания медицинских диагностикумов, М, 1990, с. 115.
56. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Н.И.Казачкина, Н.А.Осипова. Роль внутриклеточных компонентов нейтрофилов в реализации клинического эффекта гемосорбции. Сб. научных трудов 2-ого Всесоюзного конгресса по болезням органов дыхания, Челябинск, 1991, с.61-64.
57. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, В.В.Сургай, В.К.Оганезов, И.Я.Щербицкая, В.В.Соколов. Показатели естественной резистентности у больных, леченных фотодинамической терапией. Материалы Международной конференции «Успехи лазерной медицины», Санкт-Петербург, 1993,43.
58. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, В.В.Соколов, В.К.Оганезов, Е.В.Филоненко, Е.И.Аристархова. Изучение антиоксидантного и иммунного статусов у онкологических больных при фотодинамической терапии. Материалы симпозиума по лазерной медицине, Киев, 1995, с. 56.
59. В.И.Чиссов, В.И.Борисов, Р.И.Якубовская, А.В.Бойко, Е.Р.Немцова, В.К.Оганезов, Т.В.Сергеева, Л.В.Демидова, Т.А.Телеус, А.К.Смирнов. Изучение антиоксидантного и иммунного статусов у онкологических больных при фотодинамической терапии. Материалы II национального конгресса «Человек и лекарство», М., 1995, с.258.
60. В.И.Чиссов, Р.И.Якубовская, В.В.Соколов, Е.Р.Немцова, В.К.Оганезов, И.Я.Щербицкая, Т.А.Кармакова, Е.В.Филоненко, Е.И.Аристархова. Иммунологический и антиоксидантный ответ на фотодинамическую терапию с применением препаратов Фотогем и Фотосенс у

онкологических больных. Материалы IV Всероссийского съезда онкологов «Проблемы современной онкологии», Ростов-на-Дону, 1995, Т.2, с.536-538.

61. В.В.Соколов, В.И.Чиссов, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова. Многокурсовая фотодинамическая терапия (ФДТ) злокачественных опухолей: воздействие на первичную опухоль и гомеостаз организма онкологического больного. I съезд онкологов стран СНГ, Москва, 1996, С.568.

62. Н.В.Эделева, Н.А. Осипова, Р.И. Якубовская. Коррекция нарушений клеточного метаболизма как один из основных компонентов послеоперационной интенсивной терапии онкологических больных. Материалы 5-ого Всероссийского Съезда анестезиологов и реаниматологов, Москва, 1996, С. 33.

63. R.I.Yakubovskaya, E.R.Nemtsova, Sergeeva T.V., L.V.Demidova, T.A.Teleus, A.V.Boyko. Usage of immunomodulating and antioxidative drugs in chemoradiotherapy of neoplasms. 7th international Congress on anti-cancer treatment. Paris, 1997, p.212.

64. L.V. Demidova, A.V. Boyko, V.I. Borisov, R.I.Yakubovskaya, T.A.Teleus, E.R.Nemtsova, T.V.Sergeeva. Chemoradiotherapy of locally advanced cervical cancer with preventive immune and antioxidative correction of homeostasis. 10th International Congress on Oncogynecology. Portugal, 1997, p. 124.

65. R.I.Yakubovskaya, E.R.Nemtsova, V.K.Oganezov, I.Ya.Scherbitskaya, A.V.Boyko, L.V. Demidova, T.A.Teleus, Sergeeva T.V. Immunochemoradiotherapy of locally advanced cancer. 8th International Congress on Anti-Cancer Treatment, Paris, 1998, N PP24.

66. E. Nemtsova, T.Sergeeva, L.Ivanova, L. Demidova, T.Teleus, A.Boyko, R. Yakubovskaya, L.V.Demidova, T.A.Teleus, A.V.Boyko. Human Milk Lactoferrin Preparations as Protective Agents for Chemo- and Chemoradiation Therapy of Patients with Malignant Neoplasms. 10th NCI-EORTC symposium on new drugs in cancer therapy, Amsterdam.- 1998, p.57.

67. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, О.А.Безбородова, Е.И.Ерастова, Т.А.Сокольская, В.И.Чиссов, Г.Н.Ворожцов, Ю.М.Лужков. Антиоксифит - новая БАД общеукрепляющего и детоксицирующего действия. Человек и лекарство (материалы V Российского национального конгресса), 1998, с. 424.

68. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, И.Я.Щербицкая, К.Л.Андреева, Л.В.Демидова, Т.А.Телеус, А.К.Смирнов, А.В.Бойко, В.В.Лебедев, О.Г.Степанов. Применение отечественного препарата имунофан для коррекции гомеостаза у больных с местнораспространенным опухолевым процессом. International Journal on Immunorehabilitation, 1999, N 14, pp.7, 103.

69. Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, К.Л.Андреева. Антиоксидантные и иммуномодулирующие препараты в терапии больных с распространенными злокачественными новообразованиями. Материалы симпозиума "Онкология на рубеже XXI века. Возможности и перспективы", 1999, с.263.

70. В.И.Чиссов, Р.И.Якубовская, В.И.Борисов, М.М.Уткин, Е.Р.Немцова. Превентивная гемосорбция как модификатор химиотерапии злокачественных новообразований. Материалы Всероссийской конференции "Сорбционные, электрохимические и гравитационные методы в современной медицине", Москва, 1999.

71. Е.Р.немцова, Т.В.Сергеева, К.Л.Андреева, О.А.Безбородова, Р.И.Якубовская. Первичная профилактика злокачественных новообразований в эксперименте при помощи средств природного происхождения. V Всероссийский съезд онкологов, 2000, Казань, Материалы, Т. 1, с.194-196.

72. Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева. К.Л.Андреева, И.Я.Щербицкая, Р.И.Якубовская, А.В.Бойко, Л.В.Демидова, Т.А.Телеус, Е.А.Дунаева, Н.А.Осипова, Н.В.Эделева. Антиоксидантные и иммуномодулирующие препараты в терапии больных с распространенными злокачественными опухолями. V Всероссийский съезд онкологов, 2000. Казань, Материалы, Т. 1, с.244-246.

73. Э.А.Кабанова, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, К.Л.Андреева, О.А.Безбородова, Р.И.Якубовская, Л.В.Демидова, Н.Ю.Лащ, Е.И.Ерастова. "Антиоксифит" - новая биологически активная добавка к пище антиоксидантного, детоксицирующего и антиканцерогенного действия. ГУ Международный симпозиум "Биологически активные добавки к пище: XXI век".- 2000.-С.170-171.

74. Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, О.А.Безбородова, К.Л.Андреева, Р.И.Якубовская. Средства природного происхождения в первичной профилактике злокачественных новообразований. Материалы II съезда онкологов стран СНГ, Украина, Киев, 2000.- №75.

75. Н.В.Эделева, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева. Новые возможности профилактики и лечения послеоперационных осложнений и полиорганной недостаточности в онкохирургии. В сб. научных трудов VIII Всероссийского съезда анестезиологов и реаниматологов, Омск, 2002, с. 179.

76. G.N. Vorozhtsov, O.A.Bezborodova, E.R.Nemtsova, R.I.Yakubovskaya, N.V.Bogdanova, N.Yu.Lasch, V.I. Chissov. Antioxifit - russian antioxidative, detoxifying and anticarcinogenic food supplement. In: "Reactive oxygen and nitrogen species. Antioxidants and human health", Smolensk, Russia, 2003, p 187-188.

77. E.R.Nemtsova, O.A.Bezborodova, R.I.Yakubovskaya, A.V.Boyko, N.A.Osipova, V.I. Chissov. Usage of russian antioxidative agents of various classes in clinical oncology (experience of Hertsen Moscow Oncologic Institute). In: "Reactive oxygen and nitrogen species. Antioxidants and human health", Smolensk, Russia, 2003, p 98-99.

78. Е.Р.Немцова, О.А.Безбородова, Р.И.Якубовская, Т.В.Сергеева, Н.Ю. Лащ, Л.В.Соколова, Н.В.Богданова, И.В. Дрошнева. Эффективность применения БАД «Антиоксифит» в качестве общеукрепляющего и детоксицирующего средства у больных онкологического и неонкологического профиля. «Медико-фармацевтический форум», М., 2003, с.51-52.

79. Р.И.Якубовская., А.В.Бойко, Л.В.Демидова, Е.Р.Немцова, Т.А.Телеус, А.К.Смирнов, Н.В.Богданова, М.В.Черникова, В.В.Лебедев. Иммунокорректирующая терапия в схемах лечения больных онкологического профиля. Онкология (Киев), 2003, Т.5, №2, с. 172.

80. Н.В.Эделева, Т.В.Сергеева, Е.Р.Немцова, Н.А.Осипова. Роль активной антиоксидантной терапии (Церулоплазмин, Лапрот) в лечении эндотоксемии //Мат. Международной научной конференции «Критические технологии в реаниматологии», Москва, 2003, с. 78.

81. Н.В.Эделева, Е.Р.Немцова, Н.А. Осипова. Окислительный стресс и его коррекция в комплексе противоопухолевой терапии у больных с распространенным онкологическим процессом.// Мат. Международного симпозиума «Паллиативная помощь и реабилитация в здравоохранении», Анталья, 2005, с. 57.

82. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, О.А.Безбородова, К.Л.Плигина, Т.В.Сергеева., Н.А.Осипова, Н.В.Эделева, А.В.Бойко, Л.В.Демидова., В.И.Чиссов. Доклинические и клинические испытания препарата «Лапрот». IV Всероссийский онкологический конгресс, Ростов-на-Дону, 2005, Т.2, С. 179-180.

83. В.В.Соколов, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, В.К.Оганезов, И.Я.Щербицкая, Т.В.Сергеева, Е.В.Филоненко. Особенности состояния системы естественной резистентности у онкологических больных при фотодинамической терапии. Пособие для врачей. Москва, 1996г.

84.А.В.Бойко, Р.И.Якубовская, Л.В.Демидова, Е.Р.Немцова, Т.А.Телеус, А.К.Смирнов, Т.В.Сергеева. Применение имунофана в качестве протектора и детоксицирующего агента при лучевом и химиолучевом лечении. Пособие для врачей, Москва, 1998г.

85. Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Т.В.Сергеева, А.В.Бойко, Л.В.Демидова, Т.А.Телеус, А.К.Смирнов, В.В.Соколов, Э.А.Кабанова, В.В.Лебедев, О.Г.Степанов. Антиоксидантная и иммунотерапия больных со злокачественными новообразованиями. Пособие для врачей, Москва, 2001 г.

вб.Н.В.Эделева, Р.И.Якубовская, Н.А.Осипова, Т.В.Сергеева, И.Я.Щербицкая. Коррекция клеточного метаболизма у онкологических больных в послеоперационном периоде препаратами антиоксидантного действия. Пособие для врачей. Москва, 2003г.

87.Н.А.Осипова, И.В.Решетов, М.С.Ветшева, П.М.Ермолаев, Т.П.Хованская, Н.В.Эделева, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, К.Ю.Андрианова, Л.М.Иванова. Анестезиологическое пособие и интенсивная терапия при операциях с микрохирургической аутопластикой в онкологии. Медицинская технология, Москва, 2005г.