

М. А. Мунько

Фармакологічна модуляція первинного пухлинного росту та метастатичної прогресії карциноми легень Льюїс антикоагулянтами прямої дії на фоні застосування цисплатину

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України»,
м. Київ

Ключові слова: антикоагулянти, пухлинний ріст, тромбоцити, гіперкоагуляція, метастази, карцинома легень Льюїс, цисплатин

Фармакологічна модуляція росту пухлини передбачає вплив на різні клітинні та молекулярні шляхи з метою гальмування розвитку пухлини або підвищення ефективності протиракової терапії. Цього можна досягти шляхом впливу на специфічні молекули, що беруть участь у зростанні пухлинних клітин, ангіогенезі або змінюють мікрооточення пухлини, а також шляхом модуляції імунної відповіді на пухлину [1–3].

Антикоагулянти за онкологічних захворювань застосовуються для профілактики та лікування тромбозів, які часто виникають як ускладнення пухлинного процесу чи протипухлинної терапії. Вони не є прямим протипухлинним засобом, але їхнє використання може покращити якість життя пацієнтів і знизити ризики серйозних ускладнень [4].

Результати сучасних наукових досліджень, присвячених саме протипухлинній та антиметастатичній активності антикоагулянтів прямої дії, наведено в роботах [5, 6]. Пошук і розробка нових схем лікування злоякісних новоутворень з препаратами супроводу розширює можливість протипухлинної терапії.

У цьому дослідженні порівнювали вплив антикоагулянтів прямої дії – сулодексиду й еноксапарину за сумісного застосування з цисплатином на метастатичну активність карциноми легень Льюїс (LL).

Сулодексид є гепариноїдом, який має антитромботичні, ангіопротекторні та фібринолітичні властивості. Еноксапарин є низькомолекулярним гепарином, який чинить пряму антикоагулянтну й антитромботичну дію, інгібує фактори згортання крові Ха (тромбокіназу), фактор Іа (тромбін).

У багатьох схемах лікування онкологічних захворювань використовують платиновмісний препарат – цисплатин, який призначається при поширених або метастатичних злоякісних пухлинах.

Мета дослідження – вивчити вплив антикоагулянтів прямої дії сулодексиду й еноксапарину в поєднанні з цисплатином на утворення метастазів у легенях мишей самців лінії C₅₇BL/6 на тлі моделі спонтанно метастазуючої карциноми LL; оцінити їхній вплив на тромбоцитарну ланку гемостазу, коагуляційну активність цільної крові та взаємозв'язок із прогресуванням метастатичного росту.

Матеріали та методи. Перед початком дослідження Комітет з біоетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» узгодив протокол

дослідження, а також процедури, що пов'язані з утриманням тварин та їхнім використанням в експерименті. Усі маніпуляції з тваринами проводились відповідно до Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [7] та Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [8].

У дослідах було використано модель пухлинного росту – карциному LL. Штам клітин карциноми LL отримано з Клітинного банку ліній людини і тварин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України.

Карциному LL перещеплювали в концентрації $3 \cdot 10^5$ клітин у 0,3 мл фізіологічного розчину внутрішньом'язово в праву гомілку мишей лінії C₅₇BL/6 [9]. Підрахунок пухлинних клітин проводили в камері MMC-SR [10].

В експериментах *in vivo* було використано 63 самця мишей лінії C₅₇BL/6 масою тіла 20–22 г (розплідник «Далі 2001», м. Київ). Мишей утримували в стандартних умовах віварію за температури 22–24 °C та відносної вологості повітря 30–70 %, за звичайного світлового режиму (12 год світла і 12 год темряви). Тваринам згодовувався *ad libitum* стандартний раціон для лабораторних тварин, вода з міського водогону (після оберненого осмосу та стерилізації УФ-випромінюванням) подавалась *ad libitum*. Мишей розміщували за дослідними групами у клітках із полікарбонату розмірами (410 × 250 × 180) мм із кришками з гальванізованої сталі. Клітки були забезпечені пластиковими поїлками. Підстилкою слугувала тирса з вільхи чорної (*Alnus glutinosa*), попередньо піддана автоклавуванню.

Для досягнення мети дослідження мишей лінії C₅₇BL/6 було розподілено

на 5 груп. Перша група (n = 7) – контроль (без пухлини), друга група (n = 14) – з перещепленою карциномою LL, третя група (n = 14) отримувала цисплатин одноразово в дозі 6 мг/кг, внутрішньоочеревинно на 4 день після перещеплення клітин карциноми LL, четверта група (n = 14) та п'ята група (n = 14) дослідних мишей отримували цисплатин як зазначено вище. Водночас тваринам четвертої групи вводили сулодексид на 5 день після перещеплення клітин карциноми LL у дозі 2,0 мг/кг внутрішньом'язово протягом 20 днів. Тваринам п'ятої групи застосовували еноксапарин у дозі 10,0 мг/кг підшкірно. Дослідні тварини другої, третьої, четвертої та п'ятої груп ще розподілялись на дві підгрупи (n = 7) по терміну виведення з експерименту (28 день дослідження та моніторинг тривалості життя).

Для введення тваринам застосовували сулодексид (Вессел Две Ф, Альфасігма С.п.А, Італія), еноксапарин (Еноксапарин-Фармекс, ТОВ «Фармекс Груп», Україна) та цисплатин (Accord Healthcare Limited, Велика Британія).

Параметрами ефекту був відсоток гальмування росту первинної пухлини, утворення метастазів у легенях і відсоток збільшення середньої тривалості життя дослідних тварин [11]. Об'єм пухлини визначали за формулою об'єму еліпсоїда. Для характеристики метастатичної активності карциноми LL проводили оцінку наявності метастазів у легенях експериментальних тварин на 28 день після перещеплення пухлинних клітин. Підрахунок кількості метастазів у легенях здійснювали візуально та за допомогою бінокулярного стереоскопічного мікроскопа МБС-10.

До початку перещеплювання клітин карциноми LL у всіх експериментальних мишей було зроблено аналіз

на час зсідання крові за Моравіцем [12]. Цей метод дає змогу оцінити коагуляційну активність цільної крові за швидкістю утворення в ній згустку, тобто, відображає швидкість процесу переходу фібриногену в фібрин. Скорочення часу зсідання крові зустрічається тільки за підвищеного тромбоутворення та його визначення дозволяє прослідкувати процес у динаміці на тлі росту та метастазування пухлини. Тому процедуру проводили на 14 та 28 день дослідження, що дало змогу порівняти й оцінити вплив досліджуваних схем на коагуляційну активність крові дослідних мишей у динаміці.

Відібрані групи дослідних тварин були піддані евтаназії на 28 день дослідження. Безпосередньо перед евтаназією всіх мишей було зважено та зроблено аналіз на скорочення часу зсідання крові, також визначено параметри первинної пухлини. Потім під легким ефірним наркозом були відібрані зразки крові з орбітального венозного синусу тварин [13] для гематологічного дослідження та здійснено евтаназію шляхом цервікальної дислокації, вилучено легені для підрахунку метастазів.

Кров для гематологічних досліджень збирали в пробірки об'ємом 0,2 мл із K_3 -ЕДТА («ВОЛЕС», Україна) й аналізували на автоматичному гематологічному аналізаторі Mythic 22 (Orphee SA, Швейцарія).

Нормальність розподілу отриманих даних перевіряли за тестом Шапіро-Уїлка. Отримані дані представляли як середнє значення $\pm$ похибка середнього ($M \pm m$) для нормально розподілених змінних або медіана та 25 і 75 квантилі [Me (25 %; 75 %)] для змінних з ненормальним розподілом. Статистичний аналіз результатів експерименту проводили з використанням однофакторного дисперсійного

аналізу (ANOVA) для нормально розподілених змінних і за критерієм Краскела-Уолліса для змінних з ненормальним розподілом. Для статистичної обробки даних використовували сайт Statistic Kingdom [14]. Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною в разі $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. За результатами попередніх досліджень застосування сулодексиду й еноксапарину як монотерапії дозволило визначити їхній вплив на метастатичну активність карциноми LL. Сулодексид у дозі 2,0 мг/кг гальмував утворення метастазів у легенях мишей на 63,79 % [15], еноксапарин у дозі 10 мг/кг – на 60,88 % [16].

При застосуванні сулодексиду на фоні цисплатину на 28 день експерименту відсоток гальмування утворення метастазів у легенях становив 97,42 %, середня тривалість життя збільшувалась на 32,94 %, відсоток гальмування за об'ємом первинної пухлини становив 41,01 %. У разі застосування еноксапарину в поєднанні з цисплатином кількість метастазів у легенях зменшувалась на 84,16 %, а середня тривалість життя дослідних мишей збільшувалась на 30,19 %, гальмування первинної пухлини за об'ємом становило 36,12 %. Застосування сулодексиду й еноксапарину на фоні цисплатину суттєво не вплинуло на зростання первинної пухлини, середню тривалість життя та не мали достовірних відмінностей порівняно з групою тварин, яким одноразово вводили цисплатин у дозі 6 мг/кг: 35,02 %, 27,83 % відповідно. Що стосується утворення метастазів у легенях, то цисплатин за умов одноразового введення призводив до 36,83 % гальмування (табл. 1).

Отже, за результатами дослідження застосування сулодексиду в дозі 2,0 мг/кг як препарату супроводу на фоні одноразового уведення цисплатину в дозі 6,0 мг/кг було визначено його високий антиметастатичний ефект. Еноксапарин у дозі 10 мг/кг за цих умов експерименту мав певну антиметастатичну дію.

Відповідно до отриманих даних на тлі пухлинної прогресії виникало порушення коагуляційної активності крові. Час зсідання крові дослідних тварин із перещепленою карциномою

LL на 14 день дослідження складав $(3,41 \pm 0,30)$ хв проти $(5,79 \pm 0,38)$ хв у інтактному контролі, на 28 день досліджу – $(0,81 \pm 0,25)$ хв проти $(5,96 \pm 0,47)$ хв у інтактному контролі, що свідчить про гіперкоагуляцію.

За монотерапії цисплатином у дозі 6 мг/кг на 14 день дослідження показник становив $(4,60 \pm 0,37)$ хв, а на 28 день – $(3,94 \pm 0,22)$ хв. При застосуванні сулодексиду й еноксапарину в поєднанні з цисплатином цей показник на 14 день дослідження становив $(6,56 \pm 0,29)$ хв і $(6,31 \pm 0,58)$ хв,

Таблиця 1

Показники пухлинного росту та метастазування карциноми легень Льюїса, перещепленої мишам – самцям лінії C₅₇Bl/6 за впливу сулодексиду й еноксапарину на фоні застосування цисплатину ($M \pm m$ або $[Me (25 \% ; 75 \%)]$, $n \leq 14$)

Група Показник	Карцинома легень Льюїса	Карцинома легень Льюїса + цисплатин	Карцинома легень Льюїса + цисплатин + сулодексид	Карцинома легень Льюїса + цисплатин + еноксапарин
Кількість метастазів	6 (5; 6)	4 (3; 4)	$0,14 \pm 0,38^*, **$	$0,0 (0,0; 2,0)^*, **$
Гальмування за кількістю метастазів, %	–	36,83	97,42	84,16
Об'єм первинної пухлини, мм ³	$6,34 \pm 1,58$	$4,12 \pm 0,45^*$	$3,74 \pm 0,45^*$	$4,05 \pm 0,57^*$
Гальмування за об'ємом первинної пухлини, %	–	35,02	41,01	36,12
Середня тривалість життя, дні	$36,43 \pm 2,07$	$46,57 \pm 1,90^*$	$48,43 \pm 1,72^*$	$47,43 \pm 1,99^*$
Збільшення середньої тривалості життя, %	–	27,83	32,94	30,19

Примітка. $*p \leq 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин з перевитою карциномою LL; $**p \leq 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин з перевитою карциномою LL за умов уведення цисплатину.

на 28 день експерименту – 8,20 (8,1; 8,4) хв, (8,96 ± 0,73) хв відповідно.

Аналіз отриманих даних демонструє, що терапія сулодексидом та еноксапарином у поєднанні з цисплатином суттєво збільшує час зсідання крові в дослідних тварин порівняно з тваринами з карциномою LL та тваринами, які отримували одноразово тільки цисплатин; показник не мав достовірних відмінностей від аналогічних у тварин контрольної групи.

Розуміння стану тромбоцитарного гемостазу, функції тромбоцитів у регуляції прогресування новоутво-

рення може визначити потенційні стратегії подальшого лікування [17].

У попередніх дослідженнях було встановлено, що на тлі метастатичної прогресії карциноми LL відбувається порушення тромбоцитарного гемостазу [17]. Аналіз тромбоцитарної ланки гемограми показав зниження кількості тромбоцитів у крові мишей з карциномою LL на 55–57 %, що вказує на тромбоцитопенію (табл. 2, 3).

При застосуванні сулодексиду на фоні цисплатину на 28 день дослідження такі показники, як кількість тромбоцитів – (925,50 ± 232,17) 10³/мкл,

Таблиця 2

Показники гемограми мишей-самців C₅₇BL/6 з перещепленою карциномою легень Льюїса та за умов застосування сулодексиду на фоні цисплатину на 28 день дослідження (M ± m або [Me (25 %; 75 %)], n = 7)

Показник, одиниця вимі- рювання	Дослідна група			
	контроль	карцинома легень Льюїса	карцинома легень Льюїса + цисплатин	карцинома легень Льюїса + цисплатин + сулодексид
Тромбоцити, 10 ³ /мкл	802,75 ± 116,48	364,17 ± 36,39*	606,50 ± 33,58*, **	925,50 ± 232,17**, @
Середній об'єм тромбоцита, фл	6,61 ± 0,34	7,30 ± 0,18	7,1 (7; 7,1)	6,45 ± 0,12
Тромбокрит, %	0,5 (0,46; 0,57)	0,26 ± 0,02*	0,43 ± 0,02	0,59 ± 0,14**
Відносна ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом, %	35,29 ± 8,21	41,08 ± 0,14	37,65 ± 1,06	32,60 ± 5,86
Коефіцієнт великих тромбоцитів, %	6,75 (5,85; 8,65)	12,33 ± 1,30	10,58 ± 0,54	5,20 ± 0,77**, @

Примітка. *p ≤ 0,05 порівняно з контрольною групою тварин без пухлини; **p ≤ 0,05 порівняно з контрольною групою тварин із перевитою карциномою LL; @p ≤ 0,05 порівняно з групою тварин із карциномою LL за умов ведення цисплатину.

Таблиця 3

Показники гемограми мишей-самців C57BL/6 з перещепленою карциномою LL та за умов застосування еноксапарину на фоні цисплатину на 28 день дослідження ($M \pm m$ або $[Me (25 \% ; 75 \%)]$, $n = 7$)

Показник, одиниця вимі- рювання	Дослідна група			
	контроль	карцинома легень Льюїса	карцинома легень Льюїса + цисплатин	карцинома легень Льюїса + цисплатин + еноксапарин
Тромбоцити, $10^3/\text{мкл}$	$859,43 \pm 140,30$	$367,71 \pm 20,09^*$	$606,50 \pm 33,58^*, **$	$652,0 \pm 126,37^*, **$
Середній об'єм тромбоцита, фл	$6,90 \pm 0,86$	$6,73 \pm 0,08$	7,1 (7; 7,1)	7,5 (6,4; 8,9)
Тромбоцит, %	$0,60 \pm 0,14$	$0,25 \pm 0,01^*$	$0,43 \pm 0,02$	$0,49 \pm 0,04^{**}$
Відносна ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом, %	$25,81 \pm 3,47$	$36,56 \pm 0,96^*$	$37,65 \pm 1,06$	$36,03 \pm 7,37^*$
Коефіцієнт великих тромбоцитів, %	9,3 (5,9; 10,8)	$7,34 \pm 0,79$	$10,58 \pm 0,54$	13,55 (4,8; 24,7)

Примітка. $*p \leq 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин без пухлини; $**p \leq 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин з первитою карциномою LL.

середній об'єм тромбоцита – $(6,45 \pm 0,12)$ фл, тромбоцит – $(0,59 \pm 0,14) \%$, відносна ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом – $(32,60 \pm 5,86) \%$, коефіцієнт великих тромбоцитів – $(5,20 \pm 0,77) \%$ не були статистично значущими порівняно з зазначеними показниками крові контрольних тварин без пухлини: $(802,75 \pm 116,48) 10^3/\text{мкл}$; $(6,61 \pm 0,34)$ фл; $0,5 (0,46; 0,57) \%$; $(35,29 \pm 8,21 \%)$; $6,75 (5,85; 8,65) \%$ відповідно (табл. 2).

Монотерапія цисплатином у дозі 6 мг/кг супроводжується достовірним підвищенням кількості тромбоцитів

у крові дослідних мишей у 1,7 разу. Терапія еноксапарином у дозі 10 мг/кг у поєднанні з цисплатином не викликала достовірних відмінностей кількості тромбоцитів і тромбоцитарних індексів порівняно з зазначеними показниками дослідних мишей, яким одноразово вводили цисплатин (табл. 3).

Отже, порівняльний аналіз отриманих даних виявив значне зниження метастатичної активності карциноми LL за умов застосування антикоагулянту прямої дії сулодексида на фоні введення цисплатину. Результа-

ти досліджень можуть стати основою розробки нових схем лікування онкологічних хворих зі злоякісними новоутвореннями, яким притаманний гематогенний шлях метастазування та спрямованість на тромбоцитарні мішені.

Висновки

1. Таким чином, порівняльний аналіз отриманих результатів виявив значне зниження метастатичної активності карциноми LL при застосуванні сулодексиду в дозі 2 мг/кг на фоні цисплатину в дозі 6 мг/кг – 97,42 % гальмування утворення метастазів у легенях. Еноксапарин у дозі 10 мг/кг мав певну антиметастатичну дію – 84,16 % гальмування.
2. Дослідження тромбоцитарної ланки гемостазу, коагуляційної активності крові дослідних тварин показали, що на тлі метастазуючого пухлинного росту карциноми LL розвивається гіперкоагуляція та тромбоцитопенія. Монотерапія цисплатином супроводжувалась збільшенням часу

зсідання крові в 4,9 разу та підвищенням кількості тромбоцитів у крові дослідних мишей у 1,7 разу. Водночас терапія сулодексидом 2 мг/кг та еноксапарином у дозі 10 мг/кг у поєднанні з цисплатином супроводжувалась достовірним збільшенням часу зсідання крові на 28 день досліду в 10,12 та 11,10 разу відповідно порівняно з карциномою LL. Показник кількості тромбоцитів у крові дослідних тварин при застосуванні сулодексиду в поєднанні з цисплатином був на рівні контрольної групи. Терапія еноксапарином у поєднанні з цисплатином не призводила до достовірних відмінностей із зазначеним показником у дослідних мишей, які отримували одноразово сам лише цисплатин.

3. Результати досліджень можуть стати основою розробки нових схем лікування онкологічних хворих зі злоякісними новоутвореннями, яким притаманний гематогенний шлях метастазування та спрямування на тромбоцитарні мішені.

1. Research trends in pharmacological modulation of tumor-associated macrophages. N. Wang, S. Wang, X. Wang et al. *Clinical and Translational Medicine*. 2021. V. 11, No. 1. P. 1–41. <https://doi.org/10.1002/ctm2.288>.
2. Pharmacological modulation of mutant TP53 with oncotargets against esophageal cancer and therapy resistance. P. I. Lin, Y. C. Lee, I. H. Chen et al. *Biomedicines*. 2025. V. 13, No. 2. P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13020450>.
3. Pharmacological modulation of peptide growth factor receptor expression on tumor cells as a basis for cancer therapy. P. Tagliaferri, M. Caraglia, R. Muraro et al. *Anticancer Drugs*. 1994. V. 5, No. 4. P. 379–393. <https://doi.org/10.1097/00001813-199408000-00001>.
4. Севідов В. В., Касевич Н. М. Онкологія: підручник; за ред. проф. В. П. Баштана. 3-є вид. виправл. Київ : ВСВ «Медицина», 2015. 232 с.
5. Hejna M., Raderer M., Zielinski C. C. Inhibition of metastases by anticoagulants. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1999. V. 91, No. 1. P. 22–36. <https://doi.org/10.1093/jnci/91.1.22>.
6. Пуськов О. М., Мунько М. А., Карацуба Т. А. Вплив антикоагулянтів прямої дії на процеси метастазування. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024. Т. 18, № 1. С. 43–52.
7. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України від 06.11.2023 № 3447-IV. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text> (дата звернення: 10.07.2024).
8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg, 1986. P. 53.

9. Suppression of proliferation, tumorigenicity and metastasis of lung cancer cells after their transduction by interferon-beta gene in baculovirus vector. A. A. Lykhova, Y. I. Kudryavets, L. I. Strokovska et al. *Cytokine*. 2015. V. 71, No. 2. P. 318–326. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.10.029>.
10. Пат. 149330 UA, МПК G09B23/28, C12N5/00, C12N15/00. Спосіб перевивки експериментальних пухлин (саркома 45 (S-45) та карциносаркома Уокера W256). Серединська Н. М. [UA], Шарикіна Н. І. [UA], Хавич О. О. [UA], Карацуба Т. А. [UA], Бухтіарова Т. А. [UA], Марченко О. М. [UA]. № u202100710; заявл. 17.02.2021; опубл. 10.11.2021. Бюл. № 46.
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. Київ : ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
12. Modern methods for measuring parameters of blood coagulation. I. A. Bazaev, A. V. Przhiyalgovskaya, P. A. Rudenko et al. *Biomed. Eng.* 2015. V. 49, No. 3. P. 136–141.
13. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними: монографія. Ю. М. Кожем'якін та ін. Київ : Інтерсервіс, 2017. 182 с.
14. Statistic Kingdom. URL: <https://www.statskingdom.com/> (дата звернення: 20.04.2025).
15. Мунько М. А., Карацуба Т. А. Метастатична активність карциноми легень Льюїса за впливу антикоагулянтів прямої дії на тромбоцитарний гемостаз і коагуляційну активність крові. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024. Т. 18, № 3. С. 175–184.
16. Мунько М. А. Вплив антикоагулянту прямої дії енокапарину на метастатичну активність карциноми легень Льюїса. *Вісник проблем біології та медицини*. 2024. Вип. 1, № 172. С. 194–203.
17. Мунько М. А., Карацуба Т. А. Особливості змін гематологічних показників крові мишей C₅₇BL/6 на тлі первинного пухлинного росту та метастатичної прогресії карциноми легень Льюїса. *Вісник проблем біології та медицини*. 2025. Вип. 1, № 176. С. 116–127.

М. А. Мунько

Фармакологічна модуляція первинного пухлинного росту та метастатичної прогресії карциноми легень Льюїса антикоагулянтами прямої дії на фоні застосування цисплатину

Фармакологічна модуляція росту пухлини передбачає вплив на різні клітинні та молекулярні шляхи з метою гальмування розвитку пухлини або підвищення ефективності протипухлинної терапії. Цього можна досягти шляхом впливу на специфічні молекули, що беруть участь у зростанні пухлинних клітин, ангіогенезі або змінюють мікрооточення пухлини, а також шляхом модуляції імунної відповіді на пухлину.

Антикоагулянти за онкологічних захворювань застосовуються для профілактики та лікування тромбозів, які часто виникають як ускладнення пухлинного процесу чи протипухлинної терапії. Вони не є безпосередньо протипухлинними засобами, але їхнє використання як препаратів супроводу може розширити можливість протипухлинної терапії.

Мета дослідження – вивчити вплив антикоагулянтів прямої дії сулодексиду й енокапарину в поєднанні з цисплатином на утворення метастазів у легенях мишей самців лінії C₅₇BL/6 на тлі моделі спонтанно метастазуючої карциноми легень Льюїса; оцінити їхній вплив на тромбоцитарну ланку гемостазу, коагуляційну активність цільної крові та взаємозв'язок з прогресуванням метастатичного росту.

До початку перевивки клітин карциноми LL у всіх експериментальних мишей було зроблено аналіз на час зсідання крові за Моравіцем. Процедура проводили на 14 та 28 день дослідження. На 28 день дослідження в дослідних тварин визначали параметри первинної пухлини, потім знеживлювали, визначали гематологічні параметри, вилучали легені для підрахунку метастазів.

За результатами попередніх досліджень застосування сулодексиду й енокапарину як монотерапії дозволило визначити їхній вплив на метастатичну активність карциноми LL. Було виявлено значне зниження метастатичної активності карциноми легень Льюїса при застосуванні сулодексиду в дозі 2 мг/кг на фоні цисплатину в дозі 6 мг/кг.

Відповідно до отриманих нами даних на тлі пухлинної прогресії виникало порушення коагуляційної активності крові. Сумісне застосування сулодексиду та цисплатину значно збільшувало кількість тромбоцитів і час зсідання крові.

Таким чином, порівняльний аналіз отриманих даних виявив значне зниження метастатичної активності карциноми легень Льюїса за умов застосування антикоагулянту прямої дії сулодексиду на фоні введення цисплатину. Результати досліджень можуть стати основою розробки нових схем лікування онкологічних хворих зі злоякісними новоутвореннями, яким притаманний гематогенний шлях метастазування та спрямування на тромбоцитарні мішені.

Ключові слова: антикоагулянти, пухлинний ріст, тромбоцити, гіперкоагуляція, метастази, карцинома легень Льюїса, цисплатин

M. A. Munko

Pharmacological modulation of primary tumor growth and metastatic progression of Lewis lung carcinoma by direct-acting anticoagulants under cisplatin use

Pharmacological modulation of tumor growth involves influencing various cellular and molecular pathways to inhibit tumor development or enhance the efficacy of anticancer therapy. This can be achieved by targeting specific molecules involved in tumor cell growth, angiogenesis, or altering the tumor microenvironment and modulating the immune response to the tumor.

Anticoagulants in the context of cancer are used to prevent and treat thrombosis, which often occurs as a complication of the tumor process or anticancer therapy. These drugs are not directly antitumor agents, but their use as accompanying drugs may expand the possibilities of antitumor therapy.

The aim of the study was to research the effect of direct-acting anticoagulants sulodexide and enoxaparin, in combination with the antitumor agent cisplatin, on the formation of metastases in the lungs of male C₅₇BL/6 mice under a model of spontaneously metastatic Lewis lung carcinoma (LL) tumor growth; as well as to evaluate its effect on the platelet component of hemostasis, the coagulation activity of whole blood, and relationship with metastasis progression.

Before the inoculation of LL carcinoma cells, all experimental mice underwent blood clotting time analysis using the Morawitz method. The procedure was performed on days 14 and 28 of the study. On day 28 of the study, the parameters of the primary tumor were assessed in the experimental animals. The animals were then euthanized, hematological parameters were measured, and the lungs were harvested for metastasis count. According to the results of previous studies, the use of sulodexide and enoxaparin as monotherapy allowed us to determine their effect on the metastatic activity of LL carcinoma. We observed significant reduction in the metastatic activity of Lewis lung carcinoma when sulodexide was administered at a dose of 2 mg/kg in combination with cisplatin at a dose of 6 mg/kg.

According to data obtained, tumor progression was accompanied by disturbances in blood coagulation activity. The combined use of sulodexide and cisplatin significantly increased platelet count and blood clotting time.

Thus, a comparative analysis of these data revealed a significant reduction in the metastatic activity of Lewis lung carcinoma under the administration of the direct-acting anticoagulant sulodexide in combination with cisplatin. These findings may serve as a basis for the development of new therapeutic strategies for cancer patients with malignancies characterized by hematogenous metastasis and targeted at platelet-related mechanisms.

Key words: anticoagulants, platelets, tumor growth, hypercoagulation, Lewis lung carcinoma, metastases, cisplatin

Надійшла: 15 травня 2025 р.

Прийнята до друку: 16 липня 2025 р.

Контактна особа: Мунько М. А., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 94 65.

З. С. Суворова

Визначення ефективності ліпосомальних форм кверцетину в LPS-моделі гострого респіраторного дистрес-синдрому

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України»,
м. Київ

Ключові слова: гострий респіраторний дистрес-синдром, миші, виживаність, кверцетин, ліпосоми

Гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) є одним із найтяжчих ускладнень у клінічній практиці, що виникає як результат неконтрольованої запальної відповіді організму на інфекційні або неінфекційні ураження легенів. Він може розвиватися з летальністю понад 45 % унаслідок бактеріальних і вірусних пневмоній, сепсису, травми, панкреатиту, масивної аспірації, а також за тяжкого перебігу інфекції SARS-CoV-2 (COVID-19) [1, 2].

Патолофізіологічно ГРДС характеризується цитокінетичним штормом – надмірною продукцією прозапальних цитокінів, залученням великої кількості нейтрофілів, формуванням мікротромбів, інтерстиціальним та альвеолярним набряком і пошкодженням альвеолярного епітелію. Дифузне альвеолярне ушкодження є типовим морфологічним маркером цієї патології. Терапія ГРДС потребує пошуку засобів, які здатні не лише пригнічувати надмірну запальну відповідь, а й стабілізувати функціональний стан легеневої тканини.

Кверцетин – біофлавоноїд із відомими протизапальними, антиоксидантними та мембраностабілізуючими властивостями, що встановлені в експериментальних дослідженнях [6, 7], проте

вкрай низька біодоступність унеможливає його раціональне фармакотерапевтичне застосування. Суттєве покращання біодоступності та таргетності дії кверцетину з перспективою клінічної трансляції досягається внаслідок створення систем його транспорту, зокрема відомих ліпосомальних систем [8, 9]. Для ліпосомальних форм кверцетину в експерименті встановлено системну протизапальну дію [10]. Відома ліпосомальна композиція кверцетину з цинком [11], есенціальним біометалом, що бере участь у регуляції імунної відповіді та стабілізації клітинних мембран, а також має противірусну та антиоксидантну активність [12, 13].

У цьому дослідженні вперше представлено оцінку ефективності ліпосомальної форми кверцетину та ліпосомальної композиції кверцетину з цинком у моделі ГРДС, індукованого ліпополісахаридом (LPS), що імітує системну запальну реакцію, яка притаманна септичному стану [11].

Мета дослідження – оцінити терапевтичний потенціал ліпосомальної форми кверцетину та його ліпосомальної композиції з цинком при LPS ГРДС (так званий «фатальний» ГРДС) у тварин за аналізом виживаності, клінічної картини та морфологічного стану легеневої тканини лабораторних тварин.

Матеріали та методи. Дослідження на тваринах проведено відповідно до загально прийнятих норм біоетики, протокол дослідження затверджено

комісією ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» [14, 15]. Експерименти виконано на білих нелінійних мишах (середня маса – 25 г), які надані розплідником експериментальнобіологічної клініки ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Тварин утримували в стандартних умовах віварію (температура – 22–24 °С, вологість – 30–70 %) з вільним доступом до корму та води.

У дослідженні використано сертифіковані ліпосомальні системи кверцетину (препарат Ліпофлакон (серія 11301321, АТ «Фармстандарт-Біолік», Україна) і його композиції з цинком [11]. Препарати у формі ліофілізованого порошку для ін'єкцій зберігали за температури від –20 °С до –10 °С. Для приготування тест-зразка ліпосомального кверцетину до флакону Ліпофлакону вносили 20 мл розчину 0,9 % натрію хлориду та перемішували до утворення стійкої емульсії. Тест-зразок вводили внутрішньовенно в дозі 0,075 мг/мишу (за вмістом кверцетину). Робочі розчини ліпосомальної композиції кверцетину з цинком готували за аналогічною схемою, у тест-зразку введені дози становили 0,075 мг/мишу (за вмістом кверцетину) та 0,016 мг/мишу (за вмістом цинку). Усі зразки для введення готували безпосередньо перед використанням.

Внутрішньовенне введення тест-зразків здійснювали в хвостову вену одноразово за 30 хв до моделювання запалення, подальші ін'єкції – з інтервалом 24 год протягом 6 діб поспіль.

Модель LPS ГРДС в мишей відтворювали шляхом внутрішньотрахеального введення суміші ліпополісахариду з *Escherichia coli* (150 мкг/мишу), мурамідпептиду (50 мкг/мишу) та повного ад'юванту Фрейнда (10 мкл/мишу), що імітує тяжку запальну відповідь у легеневій тканині [16–18]. Маніпуляції про-

водили під загальним наркозом (1 % розчин пропофолу, доза – 0,1 мл/мишу, внутрішньовенно) згідно з адаптованими протоколами експериментальної анестезії для дрібних лабораторних тварин [19].

Тварин було рандомізовано на чотири групи (по 7 мишей): 1) інтактна група – контрольні тварини, 2) тварини з індукованою LPS-моделлю без лікування, 3) тварини з LPS-моделлю, які отримували ліпосомальну форму кверцетину (Ліпофлакон) шляхом внутрішньовенного введення, 4) тварини з LPS-моделлю, яким вводили ліпосомальну композицію кверцетину з цинком шляхом внутрішньовенного введення.

Вживаність тварин контролювали протягом 6 діб після відтворення LPS-індукованої моделі ГРДС. Двічі на добу здійснювали клінічне спостереження, фіксуючи поведінкові реакції (рухову активність, координацію, положення тіла й хвоста), неврологічні ознаки (судоми, м'язовий тонус), чутливість до тактильних, світлових і звукових подразників, стан волоссяного покриву та шкіри, а також дихальну активність (частоту та глибину дихання) [20, 21]. Огляд тварин проводили на відкритій площині, дотримуючись методичних рекомендацій щодо гуманного утримання й маніпуляцій з лабораторними гризунами [22].

Для морфологічного аналізу через 24 год після останнього введення препаратів тварин евтаназували під легким ефірним наркозом після нічного голодування. Забрані зразки легеневої тканини фіксували в 10 % нейтральному формаліні, дегідратували в серії спиртів зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки. Серійні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином й аналізували за допомогою світлової мікроскопії з фотофіксацією [23].

Отримані кількісні результати подано у вигляді середнього значення $\pm$ середня похибка середнього ($M \pm m$). Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням t-критерію Стюдента, різницю між середніми значеннями вважали статистично значущою при $p < 0,05$ [24].

Результати та їх обговорення. Динаміку виживаності експериментальних тварин відстежено протягом 6 діб після індукції ГРДС. У групі тварин з індукованою LPS-моделлю (патологія) відзначалася висока летальність: уже в 1 добу гинуло до 29 % мишей, а до 6 дня загальна смертність сягала 71 % (табл. 1).

Уведення досліджуваних препаратів суттєво покращувало виживаність тварин (табл. 1). Зокрема, застосування ліпосомальної форми кверцетину (Ліпофлавон) забезпечувало збереження життя 86 % тварин у 1 добу, починаючи з 2 до 5 доби виживання тварин становило 71 %, а на завершення 6 дня – 57,1 %. Більш

виразна динаміка позитивного впливу спостерігалась при використанні композиції кверцетину з цинком: 86 % виживаність впродовж 3 діб спостереження, 71 % – з 4 по 5 добу, а до 6 дня – 57,1 % життєздатних тварин.

Клінічна картина в тварин із відтвореною LPS-моделлю фатального ГРДС характеризувалася вираженими патологічними змінами, а саме: гіподинамією, загальмованістю, птозом, дихальною недостатністю, судомами, втратою координації рухів і зниженою відповіддю на зовнішні подразники. Встановлювали також суттєве зменшення споживання їжі та води, втрату маси тіла, що свідчило про тяжкий перебіг патологічного процесу (табл. 2).

Застосування Ліпофлакону та композиції кверцетину з цинком сприяло поліпшенню загального стану тварин. У тварин, що вижили, спостерігали відновлення рухової активності, м'язового тону та респіраторної функції, зникнення судомних реакцій

Таблиця 1

Динаміка виживаності мишей у LPS-моделі гострого респіраторного дистрес-синдрому за внутрішньовенного введення ліпосомальних форм кверцетину (n = 7)

Група тварин	Кількість тварин (виживших/вихідних) на день спостереження						Виживаність тварин на 6 добу, %
	1 доба	2 доба	3 доба	4 доба	5 доба	6 доба	
Інтактні	7/7	7/7	7/7	7/7	7/7	7/7	100
Патологія (LPS)	5/7	3/7	3/7	2/7	2/7	2/7	28,6
Патологія (LPS): Ліпофлавон	6/7	5/7	5/7	5/7	5/7	4/7	57,1
Патологія (LPS): Композиція кверцетину з цинком	6/7	6/7	6/7	5/7	5/7	4/7	57,1

Динаміка маси тіла мишей з LPS-моделлю гострого респіраторного дистрес-синдрому за внутрішньовенного введення ліпосомальних форм кверцетину ($M \pm m, n = 7$)

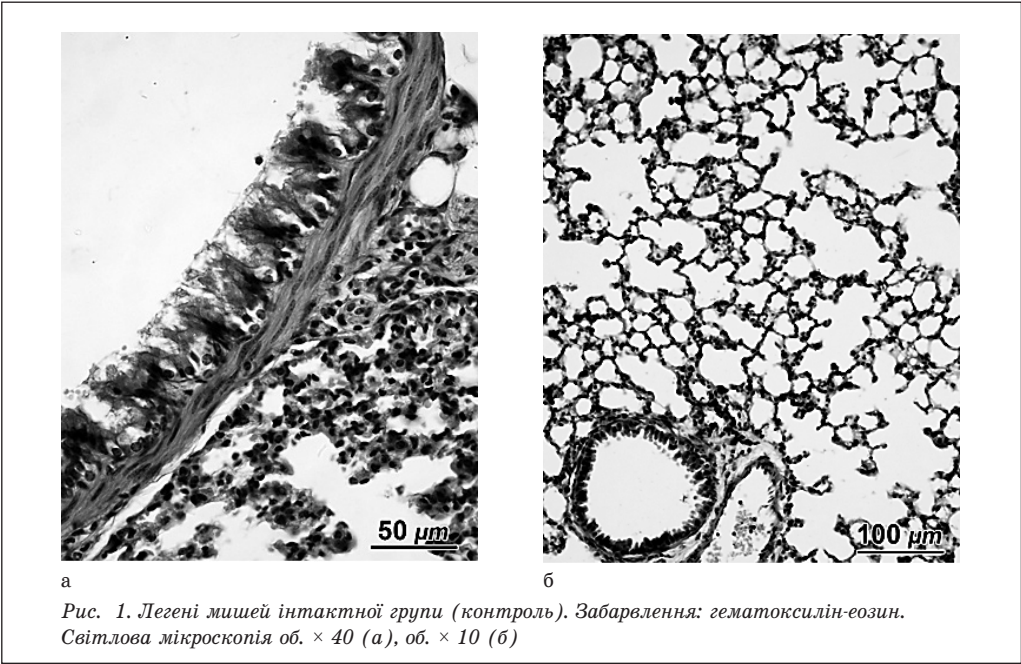
Група тварин	Маса тіла на день спостереження, г		
	вихідне значення	3 доба	6 доба
Інтактні	22,3 ± 2,1	24,0 ± 2,2	24,9 ± 1,6
Патологія (LPS)	20,6 ± 1,7	18,4 ± 2,4	17,8 ± 2,3
Патологія (LPS): Ліпофлавон	19,7 ± 1,1	18,8 ± 1,2	19,0 ± 1,8
Патологія (LPS): Ліпофлавон + Цинк	21,5 ± 1,3	20,3 ± 1,0	21,0 ± 2,0

і покращання зовнішнього вигляду. Показники маси тіла демонстрували позитивну тенденцію. Найкращу динаміку одужання спостерігали в групі тварин, що отримували терапію Ліпофлавоном із цинком.

Для оцінки структурних змін тканин, обумовлених LPS-моделлю ГРДС, проведено гістологічне дослідження

легенів і серця мишей.

Легенева тканина інтактних тварин мала типову будову без ознак ушкодження. Поздовжні складки слизової оболонки бронха великого калібру вистелені багаторядним війчастим циліндричним епітелієм (рис. 1, а), та типова картина паренхіми легень і вени без патологічних змін (рис. 1, б).



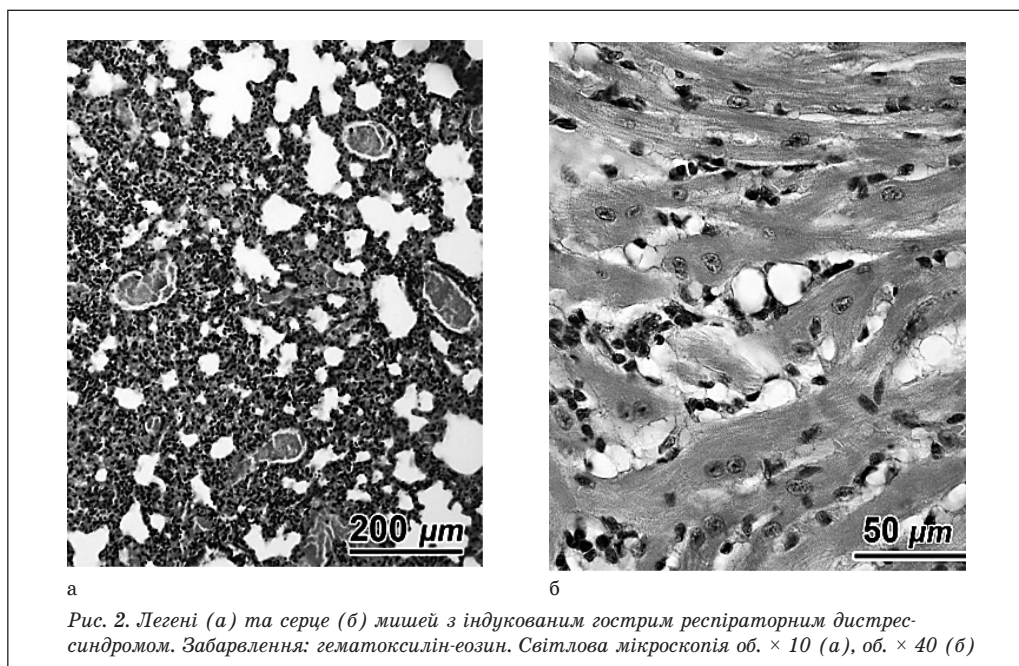
У тварин групи патологія (LPS), що вижили до 6 доби, виявлені глибокі ушкодження структури органів дихання внаслідок «фатальної» LPS моделі ГРДС, зокрема виражена судинна реакція з розвитком інтерстиціальної геморагічної пневмонії на тлі значного венозного повнокров'я легенів і вентиляційно-перфузійних порушень, а також пошкодження судинної стінки (рис. 2, а). У міокарді – помірна інфільтрація периваскулярної сполучної тканини лімфоцитами та макрофагоцитами, також спостерігаються ознаки дистрофії кардіоміоцитів (рис. 2, б). Такі гістологічні особливості міокарда відповідають запальним змінам, що мають системний характер.

Після курсу лікування Ліпофлавоном морфологічна картина була значно кращою. У легенях спостерігається осередкова лімфоцитарна інфільтрація по периферії бронхів і помірно заповнених кров'ю судин, яка супроводжується вакуолізацією цитоплазми в альвеолах макрофагоцитів (рис. 3, а), зберігаються дистрофічні зміни кардіоміоцитів

лівого шлуночка серця (рис. 3, б).

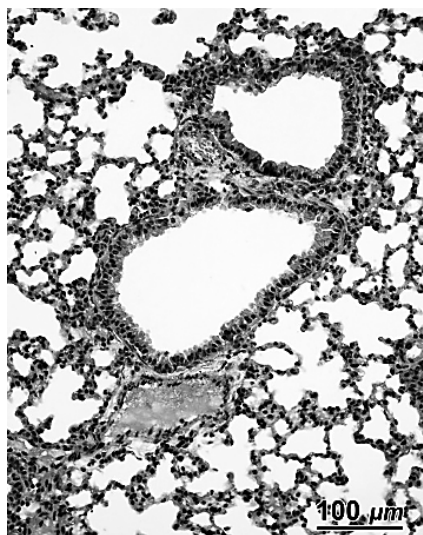
У групі, якій проводили терапію ліпосомальною композицією кверцетину з цинком, позитивна морфологічна динаміка була більш вираженою: помірний набряк та інфільтрація міжальвеолярних перегородок лімфоцитами й макрофагами; спостерігалось зменшення ознак запального процесу в інтерстиції та паренхімі легень, без формування абсцесів або ознак абсцедуючої пневмонії (рис. 4, а). Введення композиції сприяло збереженню структурної цілісності термінальних бронхіол та альвеол респіраторного відділу, запобігаючи розвитку вентиляційно-перфузійної дисфункції – одного з ключових патогенетичних механізмів формування ГРДС.

Гістологічне дослідження міокарда тварин, що вижили на 6 добу, також підтвердило захисну дію композиції: виявлено лише помірне повнокров'я та слабо виражену клітинну інфільтрацію периваскулярної сполучної тканини макрофагоцитами без суттєвих дистрофічних змін у кардіоміоцитах (рис. 4, б).

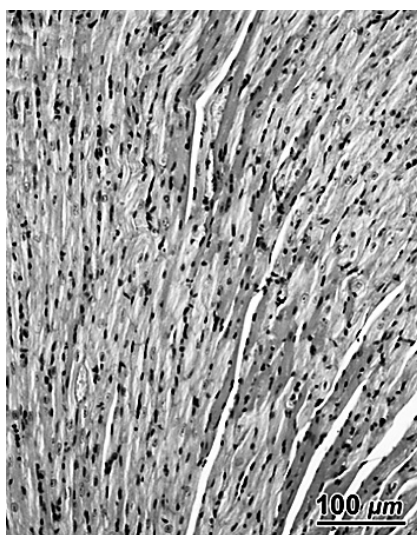


Таким чином, при застосуванні ліпосомальних форм кверцетину морфологічні ознаки ураження органів були мінімальними, що свідчить про ефективність цього підходу в запобіганні

структурним ушкодженням, які є типовими для фатального перебігу ГРДС. Отримані результати узгоджуються з даними щодо підвищення виживаності та поліпшення загального стану тварин.

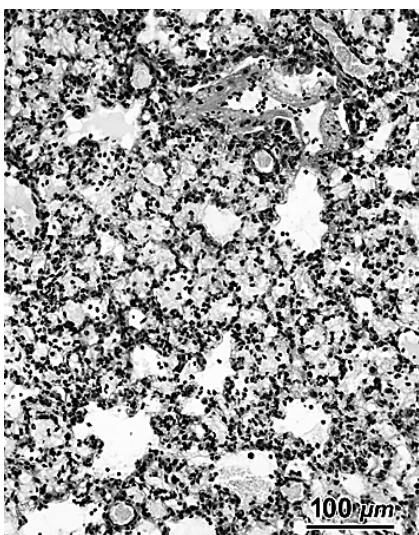


а

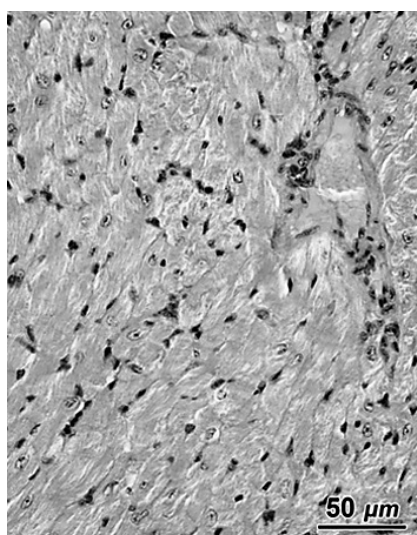


б

Рис. 3. Легені (а) та серце (б) мишей після моделювання гострого респіраторного дистрес-синдрому та лікування Ліпофлавоном. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Світлова мікроскопія об. $\times 10$



а



б

Рис. 4. Легені (а) та серце (б) мишей після моделювання гострого респіраторного дистрес-синдрому та лікування ліпосомальною композицією кверцетину з цинком. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Світлова мікроскопія об. $\times 10$ (а), об. $\times 40$ (б)

Висновки

1. У моделі «фатального» ГРДС, індукованого комбінацією LPS/MDP/ад'юванту Фрейнда, зареєстровано високу летальність мишей (до 71 %), виражене порушення клінічного стану та деструктивно-запальні морфологічні зміни в легенях і серці.
2. Внутрішньовенне введення ліпосомальних форм кверцетину сприяло достовірному покращанню виживаності, відновленню клінічного стану тварин і зниженню ступеня морфологічного ураження органів. Встановлено позитивний ефект на динаміку виживаності тварин, запальні та дистрофічні зміни в легеневій тканині, збереження гістологічної будови міокарда та зменшення проявів легеневої гіпертензії.
3. Отримані результати свідчать про перспективність застосування ліпосомальних композицій кверцетину як засобу терапії ГРДС, зокрема в контексті інтенсивної терапії запальних уражень легенів.

1. Thompson B. T., Chambers R. C., Liu K. D. Acute respiratory distress syndrome. *New Engl. J. Med.* 2017. V. 377 (6). P. 562–572. <https://doi.org/10.1056/NEJMrat1608077>.
2. COVID-19–associated acute respiratory distress syndrome: is a different approach to management warranted? E. Fan, J. R. Beitler, L. Brochard et al. *Lancet Respir. Med.* 2020. V. 8 (8). P. 816–821. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30304-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30304-0).
3. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries. G. Bellani, J. G. Laffey, T. Pham et al. *JAMA.* 2016. V. 315 (8). P. 788–800. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0291>.
4. Butt Y., Kurdowska A., Allen T. C. Acute lung injury: a clinical and molecular review. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2016. V. 140 (4). P. 345–350. <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0511-RA>.
5. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. C. Wu, X. Chen, Y. Cai et al. *JAMA Intern. Med.* 2020. V. 180 (7). P. 934–943. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>.
6. Boots A. W., Haenen G. R., Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur. J. Pharmacol.* 2008. V. 585 (2–3). P. 325–337. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.03.008>.
7. Quercetin, inflammation and immunity. Y. Li, J. Yao, C. Han et al. *Nutrients.* 2016. V. 8 (3). P. 167. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>.
8. Спосіб отримання ліпосомального засобу, що містить кверцетин. Патент України № 76393. Стефанов О. В., Григор'єва Г. С., Соловійов А. І., Пасечнікова Н. В., Хромов А. С., Коначович Н. Ф., Краснополський Ю. М. Заявл. 27.04.2006. Вид. 17.07.2006. Бюл. № 7. 10 с.
9. Спосіб отримання фармакологічно активного ліпосомального засобу, що містить кверцетин. Патент України № 111762. Григор'єва Г. С., Краснополський Ю. М., Коначович Н. Ф., Пасечнікова Н. В. Заявл. 12.01.2016. Вид. 18.06.2016. Бюл. № 11.
10. Суворова З. С. Протизапальна активність ліпосомальної форми кверцетину. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2024. Т. 18, № 3. С. 185–190. <https://doi.org/10.33250/18.03.185>.
11. A pharmacologically active liposomal composition for treating an acute respiratory distress syndrome. G. Grygirieva, N. Konakhovich, Y. Krasnopolski et al. Patent Application US App. № 18/399141. Publ. 25.06.2024. URL: <https://patents.google.com/patent/US12168018B1>.
12. The role of zinc in antiviral immunity. S. A. Read, S. Obeid, C. Ahlenstiel, G. Ahlenstiel. *Adv. Nutr.* 2019. V. 10 (4). P. 696–710. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz013>.
13. Wessels I., Rolles B., Rink L. The potential impact of zinc supplementation on COVID-19 pathogenesis. *Front. Immunol.* 2020. V. 11. P. 1712. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01712>.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 1986. ETS No. 123. <https://rm.coe.int/168007a67b>.
15. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Відомості Верховної Ради України (ВВР). 2006. № 27. Ст. 230. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>.
16. Matute-Bello G., W. Frevert C., Martin T. R. Animal models of acute lung injury. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2008. V. 295 (3). P. L379–L399. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00010.2008>.
17. Buras J. A., Holzmann B., Sitkovsky M. Animal models of sepsis: setting the stage. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2005. V. 4 (10). P. 854–865. <https://doi.org/10.1038/nrd1854>.
18. Yan J., Li S., Li S. The role of the LPS/TLR4 signaling pathway in acute lung injury induced by lipopolysaccharide. *Inflamm. Res.* 2014. V. 63 (10). P. 895–905. <https://doi.org/10.1007/s00011-014-0750-2>.

-
19. Flecknell P. Laboratory animal anaesthesia. 4th ed. London : Academic Press, 2015. 350 p.
 20. Jirkof K. Evaluation of clinical and behavioral signs in laboratory animals. *Lab. Anim.* 2017. V. 46 (4). P. 161–167. <https://doi.org/10.1038/labanim.1217>.
 21. Flecknell N. A. Assessment of pain, distress and suffering in experimental animals. *Lab. Anim.* 2009. V. 43 (Suppl 1). P. S27–S31. <https://doi.org/10.1258/la.2008.007048>.
 22. Hawkins P., Prescott L. Laboratory animal welfare. Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare. Wiley-Blackwell, 2010. P. 101–112.
 23. Theory and practice of histological techniques. J. D. Bancroft, M. Gamble (Eds.). 7th ed. Churchill Livingstone, 2008. 744 p.
 24. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистика в науке и бизнесе. Киев : Морион, 2002. 640 с.

Автор висловлює щирю подяку науковим керівникам доктору біологічних наук О. Є. Ядловському та доктору хімічних наук Г. С. Григор'євій за їхній професійний досвід і підтримку, які стали важливим внеском у проведення дослідження, доктору медичних наук С. П. Луговському та кандидату медичних наук В. Н. Непомнящему за цінну консультаційну допомогу при аналізі морфологічних показників.

З. С. Суворова

Визначення ефективності ліпосомальних форм кверцетину в LPS-моделі гострого респіраторного дистрес-синдрому

Гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) є тяжким і часто летальним ускладненням, що виникає при критичних станах різного генезу – зокрема при бактеріальних і вірусних інфекціях (включаючи COVID-19), сепсисі, тяжких травмах та аспірації. Патогенез ГРДС супроводжується дифузним альвеолярним ураженням, надмірною продукцією прозапальних цитокінів, ендотеліальною дисфункцією, мікротромбозом і порушенням альвеолярно-капілярного бар'єра, що призводить до небезпечної дихальної недостатності. Попри інтенсивну терапію, досі актуальним залишається пошук ефективних фармакологічних засобів із протизапальною й органопротекторною дією. Кверцетин, природний флавоноід з доведеними антиоксидантними, протизапальними та ендотеліопротекторними властивостями, розглядається як перспективний кандидат. Його ліпосомальна форма підвищує біодоступність і сприяє цільовому транспортуванню. Поеднання кверцетину з цинком (II), мікроелементом із відомими імунomodуючими й противірусними властивостями, потенційно підсилює терапевтичну ефективність.

Мета дослідження – оцінити терапевтичний потенціал ліпосомальної форми кверцетину та його ліпосомальної композиції з цинком при LPS ГРДС (так званий «фатальний» ГРДС) тварин за аналізом виживаності, клінічної картини та морфологічного стану легеневої тканини лабораторних тварин.

Для моделювання ГРДС у мишей застосовано LPS-модель з додаванням мураміддипептиду й ад'юванту Фрейнда. Досліджено клінічний стан, показники виживаності, проведено морфологічне дослідження легень і міокарда. Тест-зразки вводили внутрішньовенно. Статистичну обробку кількісних результатів здійснювали за t-критерієм Стьюдента.

У моделі «фатального» ГРДС, який спричинений поєднанням введенням LPS, MDP та ад'юванту Фрейнда, зареєстровано високу летальність (до 71 %), суттєве порушення загального клінічного стану та деструктивно-запальні морфологічні зміни в легенях і серці.

Внутрішньовенне введення ліпосомальних форм кверцетину зумовлювало достовірне підвищення рівня виживаності, сприяло відновленню клінічного стану тварин та зменшенню ступеня морфологічних уражень органів. Виявлено позитивний вплив на динаміку виживання, зменшення запальних і дистрофічних змін у легеневій тканині, збереження гістологічної будови міокарда та зменшення проявів легеневої гіпертензії.

Отримані результати свідчать про перспективність застосування ліпосомальних композицій кверцетину як засобу терапії ГРДС, зокрема в контексті інтенсивної терапії запальних уражень легень.

Ключові слова: гострий респіраторний дистрес-синдром, миші, виживаність, COVID-19, кверцетин, ліпосоми

Z. S. Suvorova

Evaluation of the efficacy of liposomal forms of quercetin in LPS-induced model of acute respiratory distress syndrome

Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is a severe and often fatal complication of various critical conditions, including bacterial and viral infections (such as COVID-19), sepsis, trauma, and aspiration. It is characterized by diffuse alveolar damage, cytokine overproduction, endothelial dysfunction, microthrombosis, and alveolar-capillary barrier disruption, leading to life-threatening respiratory failure. Despite intensive care and supportive therapy, there is a persistent need for effective pharmacological agents that can reduce inflammation and protect lung tissues. Quercetin, a plant-derived flavonoid with proven

antioxidant, anti-inflammatory, and endothelial-protective properties, is considered a promising candidate. Its liposomal form enhances bioavailability and targeted delivery. The combination of quercetin with zinc(II), a trace element with immunomodulatory and antiviral activity, may further potentiate its therapeutic effects.

The aim of the study is to evaluate the therapeutic potential of the liposomal form of quercetin and its liposomal composition with zinc in an LPS-induced model of acute respiratory distress syndrome (so-called "fatal" ARDS) in animals by analyzing survival, clinical presentation, and morphological condition of lung tissue in laboratory animals.

An LPS-based ARDS model in mice was used, supplemented with muramyl dipeptide and Freund's adjuvant. Survival, clinical condition, and histopathological changes in the lungs and myocardium were evaluated. Test samples were administered intravenously. Statistical analysis of the quantitative results was performed using Student's t-test.

In the model of "fatal" acute respiratory distress syndrome (ARDS) induced by the combined administration of LPS, MDP, and Freund's adjuvant, a high mortality rate (up to 71%) was recorded, along with a marked deterioration in overall clinical condition and pronounced destructive-inflammatory morphological changes in the lungs and heart.

Intravenous administration of liposomal forms of quercetin led to a statistically significant increase in survival rates, improvement in the animals' clinical condition, and a reduction in the severity of organ morphological damage. A positive effect was observed on survival dynamics, attenuation of inflammatory and dystrophic changes in lung tissue, preservation of myocardial histological architecture, and reduction of pulmonary hypertension manifestations.

The results obtained indicate the therapeutic potential of liposomal quercetin formulations as a treatment option for ARDS, particularly in the context of intensive care of inflammatory lung injury.

Key words: acute respiratory distress syndrome, quercetin, mice, survival, COVID-19, liposomes

Надійшла: 03 червня 2025 р.

Прийнята до друку: 16 липня 2025 р.

Контактна особа: Суворова Зінаїда Сергіївна, молодший науковий співробітник, відділ медичної хімії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03157. Тел.: +38 0 44 456 98 65. Електронна пошта: suvorovazina@gmail.com