

Для цитирования: Коршунов Д.А., Климов И.А., Кондакова И.В. Использование комбинированного подхода – ограничения питательных веществ и химиотерапии – при карциноме легких Льюис. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17 (1): 38–44. – DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-1-38-44.

For citation: Korshunov D.A., Klimov I.A., Kondakova I.V. The use of nutrient restriction in combination with chemotherapy in Lewis' lung carcinoma. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17 (1): 38–44. – DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-1-38-44.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПОДХОДА – ОГРАНИЧЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ И ХИМИОТЕРАПИИ – ПРИ КАРЦИНОМЕ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС

Д.А. Коршунов, И.А. Климов, И.В. Кондакова

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия  
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: ieved@ya.ru

### Аннотация

**Цель исследования** – изучить влияние периодического ограничения питательных веществ в комбинации с химиотерапией метотрексатом на развитие карциномы легких Льюиса у мышей. **Материал и методы.** Эксперимент выполнен на мышах линии C57BL/6j. Взрослым мышам инокулировали в мышцу бедра живые клетки LLC. Полное голодание проходило в две стадии: два раза (по двое суток) с перерывом в сутки. В лечении использовали метотрексат (МТХ) по схеме ограничения питательных веществ в самостоятельной форме и на фоне ограничения питательных веществ. Препарат вводили животным внутривенно в максимально переносимой дозе. Эффективность лечения оценивали по торможению роста опухоли (ТРО), уровню торможения метастазов в легких (ТМ) и кинетическому индексу роста опухоли (ИР). **Результаты.** В группе с ограничением питательных веществ конечное ТРО достигало 34 %, леченных МТХ – 27 %, при комбинации – 46 %. Индекс ТМ в группе животных, леченных МТХ, достигал 90 %, а на фоне ограничения питательных веществ – 70 %. В группе животных, подвергшихся ограничению питательных веществ, ТМ не отличался от значения в контрольной группе. Кинетический индекс ИР составил 0,7 для групп с ограничением питательных веществ и при комплексном лечении, при монотерапии МТХ составлял 0,81. Общетоксическое действие МТХ на организм сказалось на снижении массы тела – на 27 %. При ограничении питательных веществ и на его фоне с применением МТХ масса тела снижалась на 13 % и 17 % соответственно. **Заключение.** Метотрексат сдерживал рост опухолевых клеток, однако терапевтический эффект нивелировался токсическим действием препарата на организм животных. Длительное ограничение питательных веществ тормозило рост первичной опухоли, при возврате на нормальное питание рост опухоли быстро возобновлялся. Применение химиопрепарата на фоне ограничения питательных веществ увеличивало его противоопухолевое действие на первичный очаг, снижало токсические проявления, но уменьшало его антиметастатическую активность на 20 %.

**Ключевые слова:** ограничение питательных веществ, химиотерапия, метотрексат, дифференциальное напряжение.

Химиотерапия является одним из основных способов лечения широкого диапазона злокачественных новообразований [1]. Ее стратегия в основном ориентирована на поражение генетического аппарата злокачественных клеток [2]. Изначально считалось, что химиопрепараты обладают избирательностью в отношении опухолевых клеток, однако нормально делящиеся клетки ткани также подвергаются серьезным повреждениям. Побочные эффекты химиопрепаратов множественны и включают в себя миелосупрессию, усталость, рвоту, диарею, нефро-, кардио- и гепатотоксичность, в некоторых случаях даже бесплодие и смерть [1].

Для снижения побочных эффектов были созданы химиопротекторы: амифостин (снижает гематотоксичность ДНК-связывающих препаратов), глутатион (антиоксидант), месна (антидот препаратов алкилирующего типа действия) и дексразоксан (кардиопротектор). Исследования этих химиопротекторов показали, что они обеспечивали защиту от препаратов для определенных тканей, но без увеличения безрецидивной или общей выживаемости, отчасти потому, что они также обеспечивали защиту раковым клеткам или обладают отсроченной токсичностью [3].

Ряд исследований показал, что длительное сокращение потребления калорий без истощения

уменьшает процент выхода спонтанных опухолей и задерживает у грызунов прогрессирование в различных опухолях [4–7]. При низкокалорийной длительной диете у приматов наблюдалось снижение заболеваемости и смертности от рака [8]. Исследования при низкокалорийной длительной диете у людей показали снижение метаболических и гормональных факторов, связанных с риском для формирования онкозаболеваний [9–12]. Однако клиническое применение длительных лечебных диет имеет ряд сложностей. В частности, они вызывают неприемлемую потерю веса у онкологических больных [13]. В экспериментах на мышах было показано, что краткосрочное ограничение питательных веществ (ОПВ) столь же эффективно, как низкокалорийная длительная диета, так как оно замедляет рост опухоли без потери массы тела [14–16]. Еще более важно, что чувствительность к химиотерапии при краткосрочном ОПВ отличается у нормальных соматических и раковых клеток. У нормальных клеток недостаток питательных веществ выключает пути, способствующие росту, и перераспределяет энергию на репаративные процессы, которые, в свою очередь, повышают устойчивость к химиотерапии [17, 18]. В противоположность этому опухолевые клетки не способны активировать эту защитную реакцию из-за неконтролируемой активации путей роста под влиянием онкогенных мутаций. В результате того, что опухолевым клеткам требуется активное поступление питательных веществ для обеспечения повышенного метаболизма, короткие периоды ОПВ повышают их чувствительность к химиотерапии [14–16]. Описанное явление различного ответа нормальных и опухолевых клеток при ОПВ называется дифференциальным напряжением [14, 15, 19, 20].

Хорошо известна связь между ожирением и заболеваемостью раком. Существует несколько объяснений этого явления, среди которых фигурирует стимуляция опухолевого роста за счет гормонов жировой ткани, избыточной доступности питательных веществ, в частности глюкозы, необходимой для анаэробного гликолиза в опухолевых клетках [21, 22]. Следовательно, ОПВ может являться дополнительным фактором для повышения эффективности как химиотерапии, так и переносимости цитостатиков.

**Целью исследования** являлось изучение влияния длительного ограничения питательных веществ, состоящего из двух краткосрочных стадий, на развитие карциномы легких Льюиса и эффективность химиотерапии метотрексатом.

#### Материал и методы

Эксперимент выполнен на мышах линии C57BL/6j (самцы) массой 25–30 г, полученных из питомника НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга. Животные на-

ходились в виварии временного содержания Томского НИИ онкологии при температуре 20–21°C и влажности воздуха 55–60 %, при световом режиме «день:ночь» – 1:1, на стандартном рационе питания и свободном доступе к воде. Исследования проводили с соблюдением правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 51000.3 96 и ГОСТ Р 51000.4 96), международных рекомендаций «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Strasburg, 1986 г.).

Для перевивки эпидермоидной карциномы Льюис (LLC) всем животным одновременно инокулировали в мышцу бедра по 1,5 млн опухолевых клеток LLC в 0,2 мл 0,9 % NaCl. Использовали четвертый пассаж после разморозки с метастазированием в легкие в 100 % случаев. Объем бедра определяли с 3-х суток штангенциркулем Horse power (Тайвань) по методу Шрека [22].

Полное ОПВ проводили в модифицированном режиме 2–1–2: два раза (по двое сут) с перерывом в 1 сут, в течение которых животных получали полноценное сбалансированное питание. Во время ОПВ животные имели свободный доступ к воде. Также на 3 и 4-е сут мыши получали по 1 г обезжиренного творога для уменьшения деградации пищеварительного тракта. В лечении использовали метотрексат (МТХ, Эбеве Фарма, Австрия) по схеме ОПВ в самостоятельной форме и на фоне ОПВ. Препарат вводили внутривентриально в максимально переносимой дозе 1,5 мг/кг в сут. Лечение животных начинали с 6-х сут от момента инокуляции опухолевых клеток. Контрольные животные получали физиологический раствор в таком же объеме. Животных выводили из опыта на 21-е сут эксперимента при токсической дозе золетила (VIRBAC, Франция).

Торможение роста опухоли (ТРО) вычисляли по формулам:

$$\text{ТРО}_V = \frac{S_k - S_{оп}}{S_k} \times 100 \%, \quad \text{ТРО}_M = \frac{N_k - N_{оп}}{N_k} \times 100 \%,$$

где  $S_k$  – средний объем опухоли в контрольной группе;  $S_{оп}$  – средний объем опухоли в опытной группе;  $N_k$  – средняя масса опухоли в контрольной группе;  $N_{оп}$  – средняя масса опухоли в опытной группе [24].

Уровень торможения метастазов (ТМ) в легких рассчитывали по формуле

$$\text{ТМ} = \frac{M_k - M_{оп}}{M_k} \times 100 \%,$$

где  $M_k$  – средняя масса метастазов в легких контрольной группы;  $M_{оп}$  – средняя масса метастазов в легких опытной группы [24].

Кинетический индекс роста опухоли (ИР) оценивали по формуле

$$ИР = Sэ/Sк,$$

где Sэ – площадь под кинетической кривой роста опухоли в подопытной, а Sk – в контрольной группе [25].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для оценки значимости различий между независимыми выборками при распределении, отличном от нормального, применяли критерий Манна – Уитни. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования была проведена оценка влияния ОПВ и МТХ на общее состояние животных и их массу тела (рис. 1). Модификация схемы ОПВ в два этапа была введена для возможности проведения курсовой химиотерапии на фоне эффектов ОПВ, так как курсовое введение препарата позволяет пролонгировать терапевтическое окно и уменьшает разовую дозу высокотоксического препарата. Диапазон 2–1–2 был обусловлен тем, что для линии мышей, использованной в эксперименте, оптимальным вариантом оказались 2 сут полного ОПВ. При 3-суточном ОПВ выживаемость падала до 50 %, после 4-х сут погибали все животные. При этом такой вариант попеременного ОПВ с потреблением пищи является нормой в естественных условиях обитания животных. Очевидно, что в контрольной группе после ОПВ масса тела восстанавливалась практически полностью в течение суток, а мыши, получавшие МТХ в периоды ОПВ, начинали восстанавливать свою массу только на 4-е сут после последнего введения. Такой замедленный и продолжительный эффект связан с особенностями механизма действия химиопрепарата. Предварительный анализ действия МТХ показал, что токсические проявления (ухудшение общего

состояния и снижение массы тела) начинались через 3 сут с момента введения препарата, а восстановление до нормального состояния занимало 7 сут. Не совсем ясен механизм такого замедленного действия, так как препарат практически полностью выводится из организма в неизменном виде с мочой в течение суток, и лишь незначительное количество полиглутаминированных производных удерживается в тканях длительное время [26, 27]. Возможно, этот эффект связан с поражением регенерирующих клеток ЖКТ. Из литературы известно, что период жизни энтероцитов составляет 72 ч [28]. Так как МТХ действует на активно делящиеся клетки, то в результате отмирания устаревшего пула клеток и снижения притока нового пула в кишечнике нарушаются механизмы пристеночного пищеварения.

На момент выведения животных из эксперимента (21-е сут) масса опухоли в нелеченной группе животных (контроль) достигла 8 г, что соответствовало 30 % массы тела животного. Необходимо отметить, что масса опухоли превышала суммарную массу печени, сердца, почек и селезенки в 3,2 раза. На момент терапии (7–12-е сут) в легких мышей обнаруживались мелкозернистые метастазы в пределах 20 образований. На 21-е сут количество метастазов в легких животных контрольной группы уже колебалось в диапазоне 60–80, их общая масса достигала 145 мг, при средней массе интактного легкого 155 мг.

Пролонгированное действие МТХ обеспечивало эффективное торможение роста первичной опухоли и особенно процесса метастазирования (табл. 1). Торможение роста метастазов в легких было зафиксировано только в группах, пролеченных МТХ, индекс ТМ у животных, леченных только МТХ, достигал 90 %, а на фоне ОПВ он снижался до 70 %.

Ограничение питательных веществ обеспечивало эффективное ТРО (в виде стабилизации),

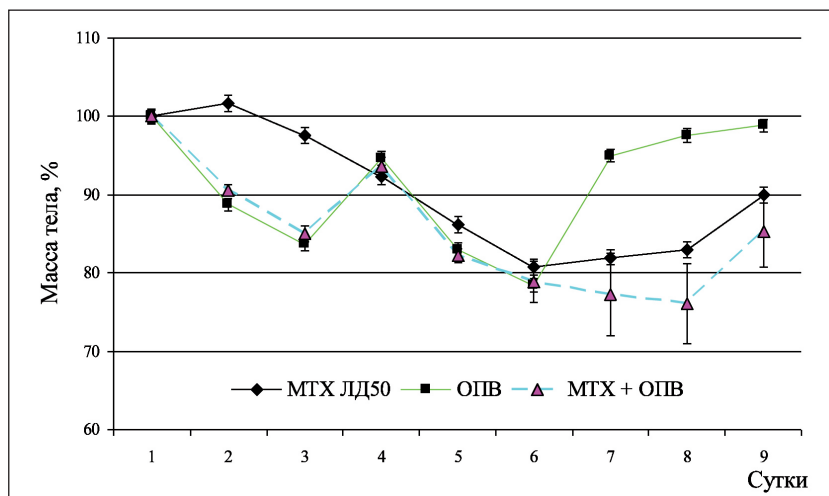


Рис. 1. Изменение массы тела мышей на фоне ограничения питательных веществ и под влиянием МТХ относительно изначальной массы тела

Таблица 1

**Влияние вида лечения на торможение роста и метастазирования первичной опухоли (относительные показатели по сравнению с контрольной группой)**

Метод лечения	ТРО <sub>V</sub> , %	ТРО <sub>M</sub> , %	ТМ, %	ИР
ОПВ (n=6)	34 ± 5,1 <sup>1,3</sup>	26 ± 2,8 <sup>1,3</sup>	-6 ± 1,1 <sup>3</sup>	0,72 <sup>1,3</sup>
Метотрексат (n=6)	27 ± 4,1 <sup>1,2</sup>	36 ± 3,7 <sup>1,2</sup>	89 ± 9,8 <sup>1,2</sup>	0,81 <sup>1,2</sup>
Метотрексат + ОПВ (n=6)	46 ± 5,1 <sup>1,2,3</sup>	38 ± 4,5 <sup>1,2</sup>	67 ± 8,7 <sup>1,2,3</sup>	0,70 <sup>1,3</sup>

Примечание: <sup>1</sup> – различия статистически значимы по сравнению с показателями контрольной группы (p<0,05), <sup>2</sup> – различия статистически значимы по сравнению с показателями группы ОПВ (p<0,05), <sup>3</sup> – различия статистически значимы по сравнению с показателями группы животных, получавших метотрексат (p<0,05).

но прогрессирование опухолевого роста быстро восстанавливалось после окончания периода ОПВ. Индекс ТМ в этой группе не отличался от контрольной группы, ТРО<sub>M</sub> на конец эксперимента снижался до 26 %, когда ТРО<sub>V</sub> через сутки после лечения был 36 %.

Торможение опухолевого процесса и метастазирования при лечении МТХ определялось комплексным воздействием. Влияние цитостатика на рост опухоли было обусловлено, на наш взгляд, не столько терапевтическим эффектом препарата, сколько его общетоксическим действием на организм. Состояние животных, пролеченных МТХ, на момент выведения из эксперимента, было критическим, кахексия достигала предельного значения, равного 27 % (рис. 2). Известно, что после снижения массы тела на 30 % животное погибает в течение суток. Наименьшую кахексию имели животные в группах с ОПВ (рис. 2). В этих группах также отмечалось значительно лучшее общее состояние животных по сравнению с контрольной группой и состоянием мышей, пролеченных МТХ. В интактных группах с ОПВ и без ОПВ наблюдался прирост массы тела на 8 и 22 % соответственно (рис. 2).

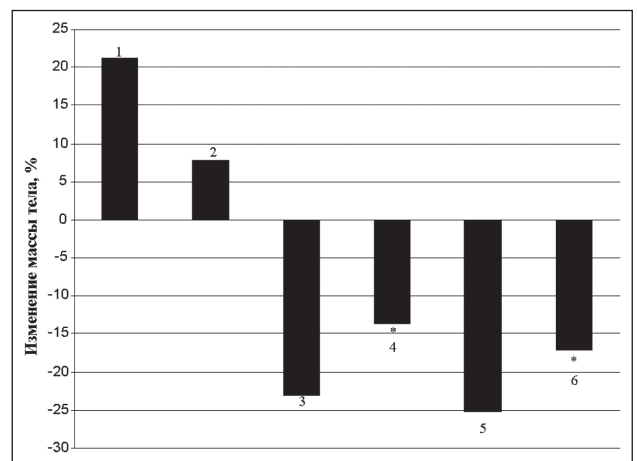


Рис. 2. Изменение массы тела мышей с учетом массы опухоли к 21-м сут. Примечание: 1 – норма, 2 – ОПВ, 3 – контроль, 4 – лечение ОПВ, 5 – лечение МТХ, 6 – комплексное лечение МТХ с ОПВ. \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,01)

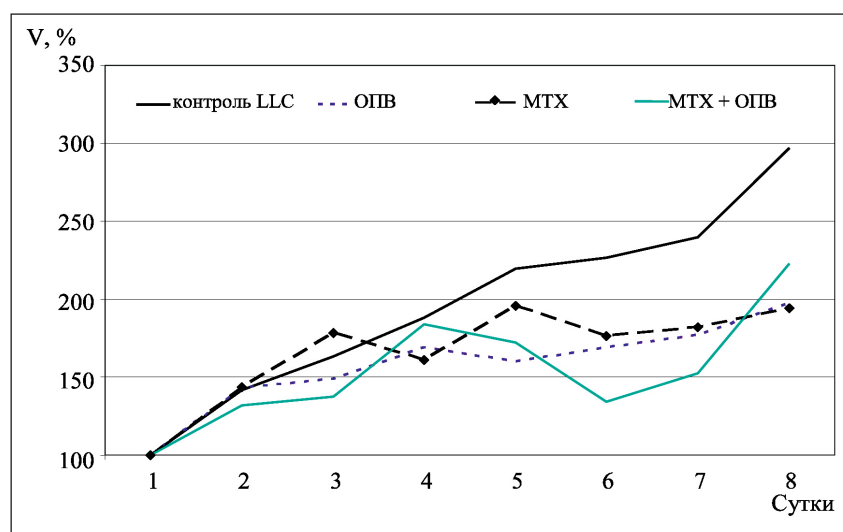


Рис. 3. Изменение объема опухоли в бедре животного. На 1, 2, и 4, 5-е сут животные ограничивались в поступлении питательных веществ. С 6-х сут животных переводили на обычное питание

Индекс ИР, отражающий выраженность противоопухолевого действия препарата, не отличался в группах животных с ОПВ и с МТХ на фоне ОПВ (табл. 1). Характер графика роста опухоли в этих группах все же имел отличия (рис. 3). В группе с ОПВ наблюдалась «стабилизация» роста первичной опухоли и графическая кривая была представлена в виде «плато». При совместном применении ОПВ и МТХ график носил волнообразный характер, а наибольший пик «регрессии» отмечался во второй стадии ОПВ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chabner B.A., Roberts Jr.T.G. Timeline: chemotherapy and the war on cancer. *Nat Rev Cancer*. 2005 Jan; 5 (1): 65–72. doi:10.1038/nrc1529.
2. Гервас П.А., Литвяков Н.В., Попова Н.О., Добродеев А.Ю., Тарасова А.С., Юмов Е.Л., Иванова Ф.Г., Черемисина О.В., Афанасьев С.Г., Гольдберг В.Е., Чердынцева Н.В. Проблемы и перспективы совершенствования молекулярно-генетической диагностики для назначения таргетных препаратов в онкологии. *Сибирский онкологический журнал*. 2014; 2: 46–55.
3. Links M., Lewis C. Chemoprotectants: a review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs*. 1999 Mar; 57 (3): 293–308.
4. De Lorenzo M.S., Baljinnyam E., Vatter D.E., Abarzua P., Vatter S.F., Rabson A.B. Caloric restriction reduces growth of mammary tumors and metastases. *Carcinogenesis*. 2011 Sep; 32 (9): 1381–7. doi: 10.1093/carcin/bgr107.
5. Mulrooney T.J., Marsh J., Urits I., Seyfried T.N., Mukherjee P. Influence of caloric restriction on constitutive expression of NF-kappaB in an experimental mouse astrocytoma. *PLoS One*. 2011 Mar 30; 6(3): e18085. doi: 10.1371/journal.pone.0018085.
6. Sheldon W.G., Bucci T.J., Hart R.W., Turturro A. Age-related neoplasia in a lifetime study of ad libitum-fed and food-restricted B6C3F1 mice. *Toxicol Pathol*. 1995 Jul-Aug; 23 (4): 458–76. doi: 10.1177/019262339502300403.
7. Weindruch R., Walford R.L. Dietary restriction in mice beginning at 1 year of age: effect on life-span and spontaneous cancer incidence. *Science*. 1982 Mar 12; 215 (4538): 1415–8.
8. Colman R.J., Anderson R.M., Johnson S.C., Kastman E.K., Kosmatka K.J., Beasley T.M., Allison D.B., Cruzen C., Simmons H.A., Kemnitz J.W., Weindruch R. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 2009 Jul 10; 325 (5937): 201–204. doi: 10.1126/science.1173635.
9. Fontana L., Weiss E.P., Villareal D.T., Klein S., Holloszy J.O. Long-term effects of calorie or protein restriction on serum IGF-1 and IGFBP-3 concentration in humans. *Aging Cell*. 2008 Oct; 7(5): 681–7.
10. Renehan A.G., Zwahlen M., Minder C., O'Dwyer S.T., Shalet S.M., Egger M. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *Lancet*. 2004 Apr 24; 363 (9418): 1346–53. doi:10.1016/S0140-6736(04)16044-3.
11. Walford R.L., Mock D., Verdery R., MacCallum T. Calorie restriction in biosphere 2: alterations in physiologic, hematologic, hormonal, and biochemical parameters in humans restricted for a 2-year period. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002 Jun; 57 (6): B211–24. doi: 10.1093/gerona/57.6.B211.
12. Сеничкин В.В., Копейна Г.С., Замараев А.В., Лаврик И.Н., Животовский Б.Д. Ограничение питательных веществ как подход к комбинированной терапии опухолей. *Молекулярная медицина*. 2016; 50 (3): 416–434.
13. Doyle C., Kushi L.H., Byers T., Courneya K.S., Demark-Wahnefried W., Grant B., McTiernan A., Rock C.L., Thompson C., Gansler T., Andrews K.S.; 2006 Nutrition, Physical Activity and Cancer Survivorship Advisory Committee; *American Cancer Society*. Nutrition and physical activity during and after cancer treatment: an American Cancer Society guide for informed choices. *CA Cancer J Clin*. 2006 Nov-Dec; 56 (6): 323–53.

Заключение

Агрессивный рост карциномы легких Льюиса эффективно сдерживался МТХ, однако терапевтический эффект нивелировался токсическим действием препарата. Применение цитостатика на фоне ОПВ увеличивало противоопухолевое действие на первичную опухоль, приводило к снижению токсических явлений, но снижало антиметастатический эффект. Возможно, что использование различных типов ОПВ может являться перспективным методом улучшения качества химиотерапии злокачественных опухолей.

14. Lee C., Raffaghello L., Brandhorst S., Safdie F.M., Bianchi G., Martin-Montalvo A., Pistoia V., Wei M., Hwang S., Merlino A., Emionite L., de Cabo R., Longo V.D. Fasting cycles retard growth of tumors and sensitize a range of cancer cell types to chemotherapy. *Sci Transl Med*. 2012 Mar 7; 4 (124): 124ra27. doi: 10.1126/scitranslmed.3003293.
15. Raffaghello L., Lee C., Safdie F.M., Wei M., Madia F., Bianchi G., Longo V.D. Starvation-dependent differential stress resistance protects normal but not cancer cells against high-dose chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008 Jun 17; 105 (24): 8215–20. doi: 10.1073/pnas.0708100105.
16. Safdie F., Brandhorst S., Wei M., Wang W., Lee C., Hwang S., Conti P.S., Chen T.C., Longo V.D. Fasting enhances the response of glioma to chemo- and radiotherapy. *PLoS One*. 2012; 7 (9): e44603. doi: 10.1371/journal.pone.0044603.
17. Bishop N.A., Guarente L. Genetic links between diet and lifespan: shared mechanisms from yeast to humans. *Nat Rev Genet*. 2007 Nov; 8 (11): 835–44. doi:10.1038/nrg2188.
18. Fontana L., Partridge L., Longo V.D. Extending healthy life span—from yeast to humans. *Science*. 2010 Apr 16; 328 (5976): 321–6. doi: 10.1126/science.1172539.
19. Laviano A., Rossi F.F. Toxicity in chemotherapy – when less is more. *N Engl J Med* 2012; 366: 2319–2320. doi: 10.1056/NEJMcibr1202395.
20. Longo V.D., Mattson M.P. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab*. 2014 Feb 4; 19 (2): 181–92. doi: 10.1016/j.cmet.2013.12.008.
21. Кориунов Д.А., Кориунова З.В., Кондакова И.В. Ингибиторы углеводного обмена в терапии злокачественных новообразований. *Молекулярная медицина*. 2016; 14 (1): 3–7.
22. Кориунов Д.А., Петрова З.В., Кондакова И.В. Противоопухолевые мишени в гликолитическом метаболизме злокачественных новообразований. *Вестн. РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2014; 25 (3–4): 35–42.
23. Эмануэль Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М.: Наука. 1977. 416.
24. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К., Андропова Н.В., Гарин А.М. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М., 2012. 640–654.
25. Струков А.Н., Иванова М.А., Никитин А.К., Сорокин Г.М., Коньков С.А. Индекс роста опухоли как интегральный критерий эффективности противоопухолевой терапии в эксперименте. *Вопросы онкологии*. 2001; 47 (5): 616–618.
26. Ganti V., Walker E.A., Nagar S. Pharmacokinetic application of a bio-analytical LC-MS method developed for 5-fluorouracil and methotrexate in mouse plasma, brain and urine. *Biomed Chromatogr*. 2013 Aug; 27 (8): 994–1002. doi: 10.1002/bmc.2893.
27. Lobo E.D., Balthasar J.P. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of methotrexate-induced toxicity in mice. *J Pharm Sci*. 2003 Aug; 92 (8): 1654–64. doi:10.1002/jps.10431.
28. Potten C.S. Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1998 Jun 29; 353 (1370): 821–30. doi: 10.1098/rstb.1998.0246.

Поступила 31.05.17  
Принята в печать 26.12.17

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Коршунов Дмитрий Афанасьевич**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: ieved@ya.ru. SPIN-код: 9832-5229.

**Климов Игорь Александрович**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7865-1722

**Кондакова Ирина Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9338-4149.

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## THE USE OF NUTRIENT RESTRICTION IN COMBINATION WITH CHEMOTHERAPY IN LEWIS' LUNG CARCINOMA

D.A. Korshunov, I.A. Klimov, I.V. Kondakova

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia  
5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: ieved@ya.ru

### Abstract

**The aim of the study** was to evaluate the effect of nutrient restriction in combination with chemotherapy with methotrexate on the development of Lewis lung carcinoma (LLC) in mice. **Material and methods.** LLC cells were inoculated into the thigh of adult C57BL/6j mice. Mice fasted twice, for 2 days each, with a day interval. Methotrexate (MTX) was used alone and in combination with nutrient restriction. The drug was administered intraperitoneally at the maximally tolerated dose. Treatment efficacy was evaluated by the tumor growth inhibition (TGI), the level of inhibition of lung metastases (IM) and the kinetic tumor growth index (GI). **Results.** TGI was 34 %, 27 % and 46 % in mice with nutrient restriction alone, MTX alone and with combination of nutrient restriction and MTX, respectively. IM index was 90% and 70% in mice treated with MTX alone and in combination with nutrient restriction, respectively. There was no difference in IM index between mice subjected to restricted feeding and mice in the control group. GI was 0.7 in mice with nutrient restriction and combination of nutrient restriction and MTX. GI was 0.81 in mice treated with MTX monotherapy. The toxic effect of MTX was manifested by weight loss in mice. Weight loss by 13% and 17% was observed in mice subjected to nutrient restriction alone and in combination with MTX, respectively. **Conclusion.** MTX inhibited cancer cell growth, however, the therapeutic effect of MTX was leveled by toxic effect on mice. Prolonged caloric restriction inhibited primary tumor growth. However, after returning to a normal diet, tumor growth resumed quickly. The use of MTX in combination with caloric restriction increased its anti-tumor effect on the primary tumor, decreased its toxic effect, but reduced its anti-metastatic activity by 20 %.

**Key words:** nutrient restriction, chemotherapy, methotrexate, differential stress.

### REFERENCES

1. Chabner B.A., Roberts Jr.T.G. Timeline: chemotherapy and the war on cancer. *Nat Rev Cancer*. 2005 Jan; 5 (1): 65–72. doi:10.1038/nrc1529.
2. Gervas P.A., Litviakov N.V., Popova N.O., Dobrodeev A.Yu., Tarasova A.S., Yumov E.L., Ivanova F.G., Cheremisina O.V., Afanasyev S.G., Goldberg V.E., Cherdintseva N.V. Problem and perspective to improve molecular testing to choose appropriate target therapy. *Siberian Journal of Oncology*. 2014; 2: 46–55. [in Russian]
3. Links M., Lewis C. Chemoprotectants: a review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs*. 1999 Mar; 57 (3): 293–308.
4. De Lorenzo M.S., Baljinyam E., Vatner D.E., Abarzua P., Vatner S.F., Rabson A.B. Caloric restriction reduces growth of mammary tumors and metastases. *Carcinogenesis*. 2011 Sep; 32 (9): 1381–7. doi: 10.1093/carcin/bgr107.
5. Mulrooney T.J., Marsh J., Urits I., Seyfried T.N., Mukherjee P. Influence of caloric restriction on constitutive expression of NF-kappaB in an experimental mouse astrocytoma. *PLoS One*. 2011 Mar 30; 6(3): e18085. doi: 10.1371/journal.pone.0018085.
6. Sheldon W.G., Bucci T.J., Hart R.W., Turturro A. Age-related neoplasia in a lifetime study of ad libitum-fed and food-restricted B6C3F1 mice. *Toxicol Pathol*. 1995 Jul-Aug; 23 (4): 458–76. doi: 10.1177/019262339502300403.
7. Weindruch R., Walford R.L. Dietary restriction in mice beginning at 1 year of age: effect on life-span and spontaneous cancer incidence. *Science*. 1982 Mar 12; 215 (4538): 1415–8.
8. Colman R.J., Anderson R.M., Johnson S.C., Kastman E.K., Kosmatka K.J., Beasley T.M., Allison D.B., Cruzen C., Simmons H.A., Kemnitz J.W., Weindruch R. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 2009 Jul 10; 325 (5937): 201–204. doi: 10.1126/science.1173635.
9. Fontana L., Weiss E.P., Villareal D.T., Klein S., Holloszy J.O. Long-term effects of calorie or protein restriction on serum IGF-1 and IGFBP-3 concentration in humans. *Aging Cell*. 2008 Oct; 7(5): 681–7.
10. Renehan A.G., Zwahlen M., Minder C., O'Dwyer S.T., Shalet S.M., Egger M. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *Lancet*. 2004 Apr 24; 363 (9418): 1346–53. doi:10.1016/S0140-6736(04)16044-3.

11. Walford R.L., Mock D., Verdery R., MacCallum T. Calorie restriction in biosphere 2: alterations in physiologic, hematologic, hormonal, and biochemical parameters in humans restricted for a 2-year period. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002 Jun; 57 (6): B211–24. doi: 10.1093/gerona/57.6.B211.
12. Senichkin V.V., Kopeina G.S., Zamaraev A.V., Lavrik I.N., Zhivotovskij B.D. Restriction of nutrients as an approach to combined therapy of tumors. *Mol Medicine*. 2016; 50 (3): 416–434. [in Russian]
13. Doyle C., Kushi L.H., Byers T., Courneya K.S., Demark-Wahnefried W., Grant B., McTiernan A., Rock C.L., Thompson C., Gansler T., Andrews K.S.; 2006 Nutrition, Physical Activity and Cancer Survivorship Advisory Committee; American Cancer Society. Nutrition and physical activity during and after cancer treatment: an American Cancer Society guide for informed choices. *CA Cancer J Clin*. 2006 Nov–Dec; 56 (6): 323–53.
14. Lee C., Raffaghello L., Brandhorst S., Safdie F.M., Bianchi G., Martin-Montalvo A., Pistoia V., Wei M., Hwang S., Merlino A., Emionite L., de Cabo R., Longo V.D. Fasting cycles retard growth of tumors and sensitize a range of cancer cell types to chemotherapy. *Sci Transl Med*. 2012 Mar 7; 4 (124): 124ra27. doi: 10.1126/scitranslmed.3003293.
15. Raffaghello L., Lee C., Safdie F.M., Wei M., Madia F., Bianchi G., Longo V.D. Starvation-dependent differential stress resistance protects normal but not cancer cells against high-dose chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008 Jun 17; 105 (24): 8215–20. doi: 10.1073/pnas.0708100105.
16. Safdie F., Brandhorst S., Wei M., Wang W., Lee C., Hwang S., Conti P.S., Chen T.C., Longo V.D. Fasting enhances the response of glioma to chemo- and radiotherapy. *PLoS One*. 2012; 7 (9): e44603. doi: 10.1371/journal.pone.0044603.
17. Bishop N.A., Guarente L. Genetic links between diet and lifespan: shared mechanisms from yeast to humans. *Nat Rev Genet*. 2007 Nov; 8 (11): 835–44. doi:10.1038/nrg2188.
18. Fontana L., Partridge L., Longo V.D. Extending healthy life span—from yeast to humans. *Science*. 2010 Apr 16; 328 (5976): 321–6. doi: 10.1126/science.1172539.
19. Laviano A., Rossi F.F. Toxicity in chemotherapy – when less is more. *N Engl J Med* 2012; 366: 2319–2320. doi: 10.1056/NEJMcibr1202395.
20. Longo V.D., Mattson M.P. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab*. 2014 Feb 4; 19 (2): 181–92. doi: 10.1016/j.cmet.2013.12.008.
21. Korshunov D.A., Korshunova Z.V., Kondakova I.V. Inhibitors of carbohydrate metabolism in the therapy of malignant neoplasms. *Mol Medicine*. 2016; 14 (1): 3–7. [in Russian]
22. Korshunov D.A., Petrova Z.V., Kondakova I.V. Antitumor targets in glycolytic metabolism of malignant neoplasms. *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*. 2014; 25 (3–4): 35–42. [in Russian]
23. Emanuel' N.M. Kinetics of experimental tumor processes. Moscow, 1977. 416. [in Russian]
24. Treshchalina E.M., Zhukova O.S., Gerasimova G.K., Andronova N.V., Garin A.M. Methodical instructions for the study of the antitumor activity of pharmacological substances. A guide to preclinical drug research. Part one. Moscow, 2012. 640–654. [in Russian]
25. Strukov A.N., Ivanova M.A., Nikitin A.K., Sorokin G.M., Kon'kov S.A. Tumor growth index as an integral criterion of the effectiveness of antitumor therapy in the experiment. *Problems of Oncology*. 2001; 47 (5): 616–618. [in Russian]
26. Ganti V., Walker E.A., Nagar S. Pharmacokinetic application of a bio-analytical LC-MS method developed for 5-fluorouracil and methotrexate in mouse plasma, brain and urine. *Biomed Chromatogr*. 2013 Aug; 27 (8): 994–1002. doi: 10.1002/bmc.2893.
27. Lobo E.D., Balthasar J.P. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of methotrexate-induced toxicity in mice. *J Pharm Sci*. 2003 Aug; 92 (8): 1654–64. doi:10.1002/jps.10431.
28. Potten C.S. Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1998 Jun 29; 353 (1370): 821–30. doi: 10.1098/rstb.1998.0246.

Received 31.05.17  
Accepted 26.12.17

#### ABOUT THE AUTHORS

**Dmitriy A. Korshunov**, PhD, Researcher, Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: ieved@ya.ru. SPIN-code: 9832-5229.

**Igor A. Klimov**, PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). SPIN-code: 7865-1722.

**Irina V. Kondakova**, MD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 9338-4149.

**Authors declare lack of the possible conflicts of interests**