


Дослідження мієлопротекторної активності препаратів гранулоцитарного колонієстимулятивного фактора та ентеросорбції в щурів із перещепленою карциномою Герена

О. О. Шевчук^{*1,B-E} , І. М. Тодор^{2,B,C}, Н. К. Родіонова^{3,B,C}, К. А. Посохова^{1,A,E,F} ,
В. Г. Ніколаєв^{2,A,C,E,F}

¹Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, ²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені П. Є. Кавецького НАН України, м. Київ, ³Інститут ядерних досліджень НАН України, м. Київ

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Ключові слова:
мелфалан,
гранулоцитарний
колоніє-
стимулятивний
фактор,
ентеросорбція,
щери, карцинома
Герена.

Запорізький
медичний журнал.
2020. Т. 22, № 1(118).
С. 112–121

DOI:
10.14739/2310-1210.
2020.1.194645

*E-mail:
shevchukoo@
tdmu.edu.ua

Мета роботи – вивчення впливу комбінації препаратів гранулоцитарного колонієстимулятивного фактора (Г-КСФ) (офіційного лікарського засобу філгратиму та препарату-розробки р-ГКСФ) та ентеросорбції на стан кісткового мозку при введенні мелфалану в щурів із перещепленою карциномою Герена.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на щурах із перещепленою карциномою Герена. На 10 добу після перещеплення клітин пухлини одноразово внутрішньовенно вводили мелфалан у дозі 5,5 мг/кг. Для корекції використовували препарати Г-КСФ і гранульований вуглецевий ентеросорбент С2 (насипна вага 0,18 г/см³, розмір гранул 0,15–0,25 мм, площа пор за BET 2162 м²/г). Тварин виводили з експерименту через 17 діб після перещеплення карциноми та досліджували показники периферичної крові та мієлограми.

Результати. Встановили, що внутрішньовенне одноразове введення алкілювального цитостатика спричинило глибокі деструктивні зміни (гіпоплазія, аплазія) в кістковому мозку досліджуваних тварин і суттєве зниження кількості лейкоцитів (на 95,7 %) та гранулоцитів (на 73,9 %) у периферичній крові. Застосування як монокорекції офіційного препарату Г-КСФ філгратиму та гранульованого вуглецевого ентеросорбента С2 з питомою вагою 0,18 г/см³ дещо покращувало досліджувані показники (рівень лейкоцитів зростав у 2,3 та 1,5 раза відповідно), однак спостерігали тільки тенденцію до збільшення кількості гранулоцитів у периферичній крові. У кістковому мозку зростала клітинність і з'являлися диференціальні клітини. Максимально ефективним для корекції цього стану було застосування комбінації названих препаратів порівняно з їхнім моностосуванням.

У групах тварин, які отримували комбінацію ентеросорбента С2 та препаратів гранулоцитарного колонієстимулятивного фактора (L-PAM + філгратим + С2 та L-PAM + р-ГКСФ + С2), спостерігали майже нормалізацію кількості гранулоцитів – зростання у 3,5 та 3,0 раза відповідно. Таку саму позитивну тенденцію зафіксували під час дослідження препаратів кісткового мозку.

Висновки. Результати вказують на перспективність дальшого вивчення та впровадження у клінічну практику комбінації гемостимулятивних цитокінів та ентеральної сорбційної терапії.

Key words:
melphalan,
granulocyte colony
stimulating factor,
entersorption, rats,
Guerin carcinoma.

Zaporozhye
medical journal
2020; 22 (1), 112–121

Myeloprotective activity of granulocyte-colony stimulating factor drugs and entersorption in rats grafted with Guerin carcinoma

O. O. Shevchuk, I. M. Todor, N. K. Rodionova, K. A. Posokhova, V. H. Nikolaev

The aim of this work is the study of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) (official drug filgrastim and analogue, synthesized by IEPOR, r-GCSF) and entersorption impact on the bone marrow of Guerin carcinoma-grafted rats with melphalan administration.

Materials and methods. The study was performed in rats grafted with Guerin carcinoma. On the 10th day after Guerin carcinoma cells implantation, melphalan was injected at a dose of 5.5 mg/kg. Drugs of G-CSF and granular carbon oral adsorbent C2 (bulk density of 0.18 g/cm³, granules 0.15–0.25 mm in diameter, total specific surface by BET of 2162 m²/g) were used for correction. Rats were sacrificed on the 17th day after Guerin carcinoma grafting, the indices of peripheral blood and myelograms were examined.

Results. It was found that single injection of alkylating cytostatic agent caused a profound destruction (hypoplasia and aplasia) of bone marrow in rats as well as a drop in leukocytes (by 95.7 %) and granulocytes (by 73.9 %) in peripheral blood. Official drug of G-CSF – filgrastim and entersorbent C2 with bulk density of 0.18 g/cm³, used alone for the pathological condition correction, slightly improved indices (leukocyte count increased by 2.3 and 1.5 times, respectively), but there was only a tendency to improve the granulocyte count. Bone-marrow cellularity increased and there were some differentiating cells. The use of these drugs in combination was the most efficient compared to their separate administration.

The granulocyte count in peripheral blood was almost normalized in the groups of rats received the combination of C2 entersorbent with G-CSF (L-PAM + filgrastim + C2) and (L-PAM + r-GCSF + C2) as it was 3.5 and 3.0 times increased, respectively. The same tendency was observed in the bone marrow.

Conclusions. The results obtained indicate benefits from further study and implementation into clinics the combination of hemostimulating cytokines and entersorption.

Исследование миелопротекторной активности препаратов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и энтеросорбции у крыс с перевивной карциномой Герена

О. О. Шевчук, И. М. Тодор, Н. К. Родионова, Е. А. Посохова, В. Г. Николаев

Цель работы – изучение влияния препаратов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) (официального лекарственного средства филграстима и препарата-разработки р-ГКСФ) и энтеросорбции на костный мозг при введении мелфалана у крыс с перевивной карциномой Герена.

Материалы и методы. Исследования проводили на крысах с перевивной карциномой Герена. На 10 сутки после введения суспензии клеток опухоли однократно внутривенно вводили мелфалан в дозе 5,5 мг/кг. Для коррекции использовали препараты Г-КСФ и гранулированный углеродный энтеросорбент С2 (удельный вес 0,18 г/см³, размер гранул 0,15–0,25 мм, площадь пор по ВЕТ 2162 м²/г). Животных выводили из эксперимента на 17 сутки после прививки карциномы, исследовали показатели периферической крови и миелограммы.

Результаты. Установлено, что внутривенное однократное введение алкилирующего цитостатика вызывало глубокие деструктивные изменения (гипоплазия, аплазия) костного мозга у исследуемых животных, а также резкое снижение уровня лейкоцитов (на 95,7 %) и гранулоцитов (на 73,9 %) периферической крови. Использование в качестве монокоррекции официального препарата гранулоцитарного колониестимулирующего фактора филграстима и гранулированного углеродного энтеросорбента С2 с удельным весом 0,18 г/см³ несколько улучшало показатели (уровень лейкоцитов повышался в 2,3 и 1,5 раза соответственно), однако отмечена только тенденция к повышению количества гранулоцитов. Увеличивалась клеточность костного мозга и появлялись дифференцирующие клетки. Максимально эффективным для коррекции этого состояния было использование комбинации указанных препаратов по сравнению с их моноприменением. В группах животных, которые получали комбинацию энтеросорбента и препаратов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (L-PAM + филграстим + С2 и L-PAM + р-КСФ + С2), отмечена почти нормализация уровня гранулоцитов – повышение в 3,5 и 3,0 раза соответственно. Такая же тенденция установлена при изучении препаратов костного мозга.

Выводы. Полученные результаты указывают на перспективность дальнейшего изучения и имплементации в клиническую практику комбинации гемостимулирующих цитокинов и энтеральной сорбционной терапии.

Ключевые слова: мелфалан, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, энтеросорбция, крысы, карцинома Герена.

Запорожский медицинский журнал. 2020. Т. 22, № 1(118). С. 112–121

Зменшення проявів побічної дії протипухлинних лікарських засобів – надзвичайно актуальна проблема медицини. За даними ВООЗ, рак і злоякісні пухлини нині – одна з найчастіших причин смертей, дані коливаються від 15 до 70 % залежно від організації та рівня охорони здоров'я країни [1]. Особливо уразливі до пошкоджувальної дії антинеопластичних лікарських засобів клітини та тканини з високим темпом проліферації: кістковий мозок, лімфоїдні органи, епітелій шлунково-кишкового тракту, волоссяні фолікули, репродуктивні органи [2–5].

Пригнічення проліферативної активності кісткового мозку та його наслідки (розвиток анемії, тромбоцитопенії, лейкопенії) потребують невідкладних заходів, адже це призводить до переривання курсу лікування, зменшення доз препаратів і знижує ефективність терапії [2]. Ще одна причина пригнічення функції кісткового мозку в таких пацієнтів – одночасне застосування радіотерапії, однак, як показують дані великих рандомізованих досліджень, тільки така тактика вірогідно підвищує виживаність хворих, поліпшує результати лікування [6].

Частота виникнення різних видів токсичності під час хіміотерапії не однакова. У 90 % випадків спостерігають розвиток гастроінтестинальної симптоматики (нудота, блювання, розвиток мукозитів і, як наслідок, транслокація в системний кровообіг грамнегативних кишкових бактерій та їхніх ендотоксинів тощо), з такою самою частотою розвивається і гематологічна (85–90 %) токсичність [5–8] у різних проявах, найнебезпечнішими серед них є фебрильна нейтропенія та інфекційні ускладнення. З меншою частотою розвиваються тромбоемболічні ускладнення, синдром лізису пухлин, кардіотоксичність, пульмотоксичність, нефротоксичність, гепатотоксичність, алопеція, негативний вплив на статеву систему, нейротоксичність тощо [2,9,10]. Доведено, що між глибиною та тривалістю гранулоцитопенії та розвитком інфекційних ускладнень, некротичної ентеропатії, септицемії,

а також прогнозом щодо виживаності пацієнтів є прямий зв'язок [11]. Враховуючи це, ефективна профілактика, лікування лейкопенії та її грізного ускладнення нейтропенії, фебрильної нейтропенії – надзвичайно актуальні.

Можливості патогенетичного лікування агресивної мієлодепресії суттєво розширилися з появою гемопоетичних факторів росту з класу цитокинів, що ініціюють проліферацію та диференціювання гемопоетичних клітин-попередниць у кістковому мозку, починаючи від стовбурових і завершуючи специфічними клітинними елементами. Однак вони не мають впливу на інші побічні ефекти хіміотерапії, зокрема синдром вираженої ендогенної інтоксикації, що зумовлений як власне злоякісним процесом, так і лікуванням (поліхіміотерапія, хірургічне втручання, променева терапія), спрямованим на деструкцію вогнищ злоякісного росту [12]. Ентеральна сорбційна терапія (один із методів еферентної терапії, який базується на прийманні спеціально підібраних адсорбентів і спрямований на зв'язування наявних у шлунково-кишковому тракті екзо- й ендогенних токсинів, метаболітів тощо) широко використовується для усунення проявів ендогенної та екзогенної інтоксикації різного походження, зокрема як терапія супроводу під час курсів протипухлинної поліхіміотерапії [13,14]. Тому логічним стало дослідження можливостей поєднання цих двох чинників.

Наші попередні дослідження на здорових тваринах показали високу ефективність застосування препаратів гранулоцитарного колониестимулюючого фактора та гранульованого вуглецевого энтеросорбента С2 щодо зменшення глибини розвитку лейкопенії, показників оксидативного стресу на тлі застосування алкілувального цитостатика мелфалану в дозах 3 мг/кг та 4 мг/кг [15–18]. Однак необхідно дослідити вплив такої комбінації на кістковий мозок і показники периферичної крові за умов розвитку пухлинного процесу.

Мета роботи

Вивчення впливу комбінації препаратів гранулоцитарного колонієстимулювального фактора (Г-КСФ) (офіційного лікарського засобу філгратиму та препарату-розробки р-ГКСФ) та ентеросорбції на стан кісткового мозку при введенні мелфалану в щурів із перещепленою карциномою Герена.

Матеріали і методи дослідження

Для проведення експериментів використали мелфалан (L-PAM, Алкеран, Glaxo SmithKline); вуглецевий гранульований ентеросорбент С2 з насипною вагою 0,18 г/см³, розмір гранул – 0,15–0,25 мм, що розроблений в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України (ІЕПОР НАНУ); офіційний препарат гранулоцитарного колонієстимулювального фактора – філгратим (Neupogen, Hoffmann-La Roche Ltd); вітчизняну розробку ІЕПОР НАНУ – рекомбінантний гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор (р-ГКСФ).

Дослідження здійснили на білих неплісних щурах-самках масою 200 ± 20 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію ІЕПОР із доступом *ad libitum* до питної води. Усім тваринам перещеплювали карциному Герена. Щурів шляхом сліпої вибірки рандомізовано у групи (n = 7); усі щури II–VI груп отримували мелфалан у дозі 5,5 мг/кг:

- I. Пухлинний контроль, тварини з перещепленою карциномою Герена (КГ);
- II. Група тварин, які отримували мелфалан у дозі 5,5 мг/кг (КГ + L-PAM5.5);
- III. Щури, які для корекції отримували філгратим (КГ + L-PAM5.5 + філгратим);
- IV. Щури, які отримували ентеральну сорбційну терапію з гранульованим вуглецевим ентеросорбентом С2 (КГ + L-PAM5.5 + С2);
- V. Тварини цієї групи отримували комбінацію обох препаратів (КГ + L-PAM5.5 + С2 + філгратим);
- VI. Щури, які отримували комбінацію з ентеросорбента та р-ГКСФ (КГ + L-PAM5.5 + С2 + р-ГКСФ).

Усі маніпуляції виконували, дотримуючись принципів

біоетики відповідно до положення Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальними та іншими науковими цілями (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009) та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах.

Піддослідним тваринам підшкірно в ділянці спини перещеплювали карциному Герена по 0,4 мл 23 % суспензії пухлинної тканини. Через 10 діб після перещеплення карциноми Герена тваринам II–VI груп одноразово внутрішньовенно ввели мелфалан (L-PAM) у дозі 5,5 мг/кг. Дозу алкілювального цитостатика обрали на підставі попередньо здійснених досліджень, ґрунтуючись на виживаності тварин, відомостях фахової літератури [19]. Вуглецевий гранульований ентеросорбент С2 (насипна вага 0,18 г/см³, розмір гранул 0,15–0,25 мм, площа пор за BET 2162 м²/г) вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда у вигляді зависі в дистильованій воді 3 дні до введення мелфалану та 7 днів після введення цитостатика 1 раз на добу з розрахунку 5 мл на 1000 г маси щура, що становило 900 мг/кг сухої ваги. Інтактні тварини отримували еквівалентну кількість дистильованої води. Філгратим і р-ГКСФ вводили підшкірно з розрахунку 50 мг/кг, починаючи з наступного дня після введення мелфалану протягом 4 днів один раз на добу.

Через 17 діб після перещеплення пухлини під загальним знечуденням тіопенталом натрію тварин виводили з експерименту. Для досліджень брали зразки крові та кісткового мозку, який отримували зі стегнової кістки дослідних тварин згідно зі стандартними методиками, готували мазки-відбитки. Мієлограми підраховували в мазках, забарвлених за Паппенгеймом, при підрахунку 200 клітин. Оцінюючи клітинний склад кісткового мозку, аналіз даних здійснювали сумарно за пулами кровотворення залежно від рівня диференціювання клітин. Мієлоїдний ристок: незрілі гранулоцитарні клітини – мієлобласти, нейтрофільні та еозинофільні промієлоцити, мієлоцити, метамієлоцити; зрілі гранулоцити – нейтрофіли, еозинофіли та базофіли паличкоядерні, сегментоядерні. Еритроїдний ристок – еритробласти, пронормоцити, нормоцити базофільні, нормоцити поліхроматофільні та оксифільні. Показники крові визначали за допомогою гемоаналізатора «Particle Counter E-210» («Etna Inc», Японія).

Цифровий матеріал опрацювали методом варіаційної статистики, використовуючи непараметричні критерії та однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Для перевірки нормальності вибірок використовували критерій Шапіро–Уїлка. Дані наведені як середні арифметичні величини (M) та похибки середніх арифметичних (m). Зміни вважали вірогідними при p < 0,05. У рисунках рівень значущості вказували тільки для вірогідних результатів. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму StatSoft Statistica 10.

Результати

Результати показали, що одноразове внутрішньовенне введення L-PAM у дозі 5,5 мг/кг маси призводило до вираженого зниження кількості лейкоцитів у периферичній крові (рис. 1). Їхня кількість зменшувалася на 95,7 %, кількість гранулоцитів знижувалася на 73,9 %.

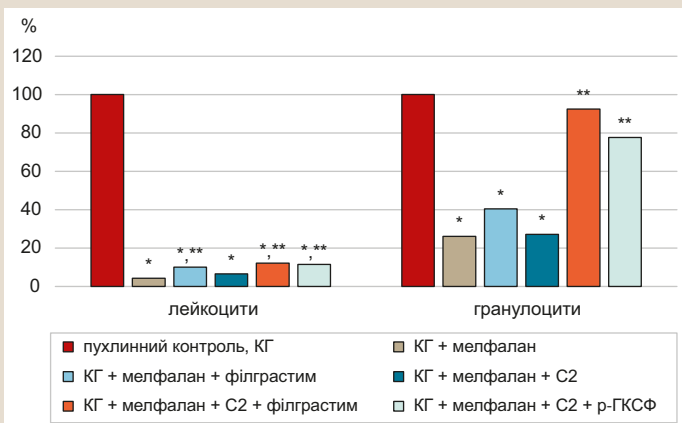


Рис. 1. Динаміка зміни кількості лейкоцитів і гранулоцитів периферичної крові на тлі застосування мелфалану, препаратів Г-КСФ та ентеросорбції.

*: p < 0,05 порівняно з пухлинним контролем (I група); **: p < 0,05 порівняно з КГ + L-PAM5.5 (II група); КГ: карцинома Герена.

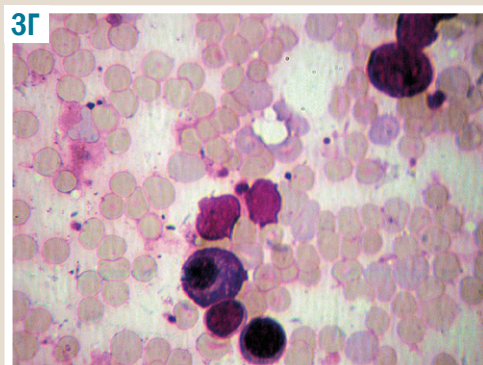
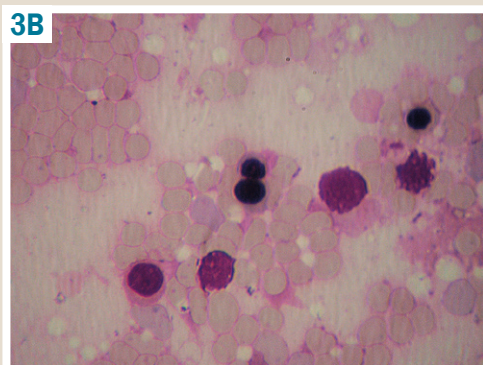
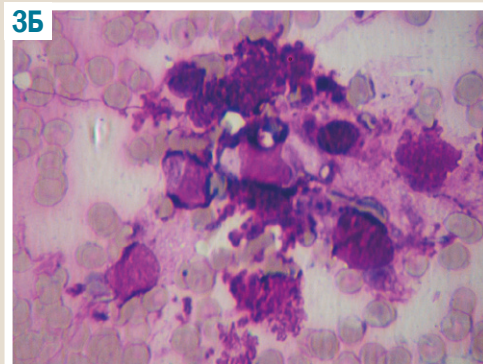
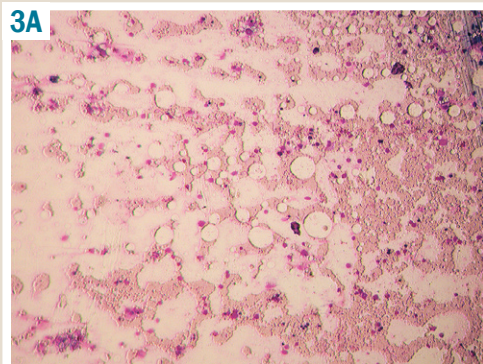
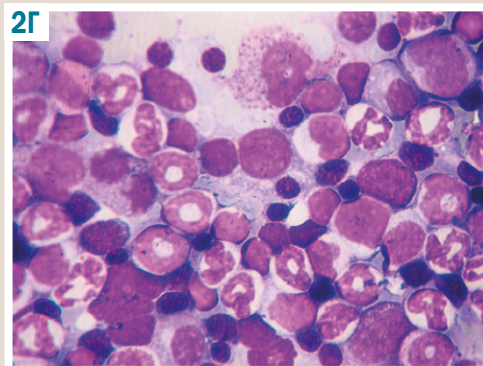
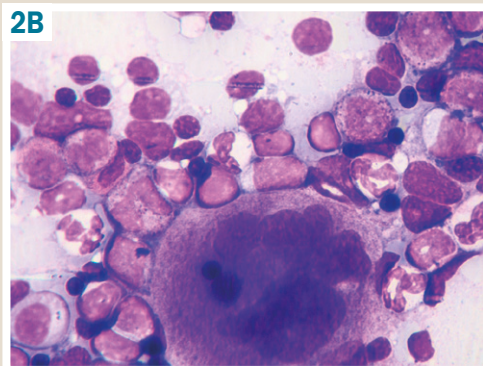
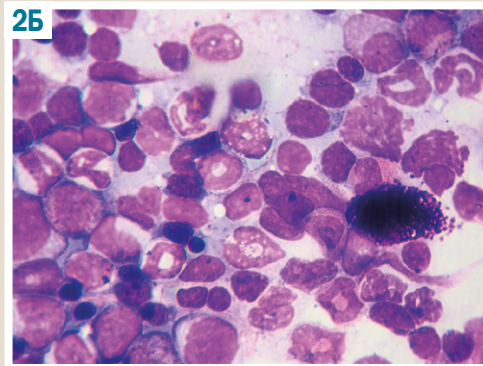
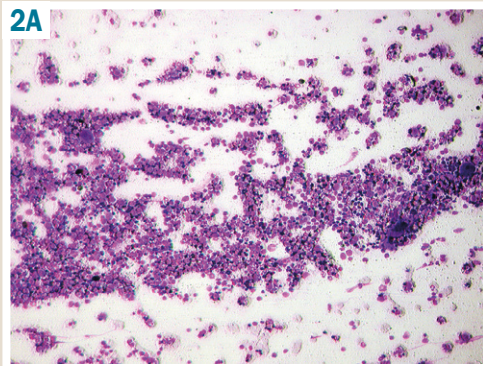


Рис. 2. Зміни в кістковому мозку щурів із карциномою Герена (пухлинний контроль) на 17 добу після перещеплення пухлини (забарвлення за Паппенгеймом, А: $\times 200$, Б-Г: $\times 1000$).

Рис. 3. Гіпоплазія кісткового мозку в щурів із карциномою Герена на тлі застосування мелфалану в дозі 5,5 мг/кг, 17 доба дослідження (забарвлення за Паппенгеймом, А: $\times 200$, Б-Г: $\times 1000$).

Застосування філграстиму сприяло зростанню загальної кількості лейкоцитів у 2,3 раза, а ентеросорбента С2 – у 1,5 раза порівняно з II групою. Застосування препаратів КСФ філграстиму та р-ГКСФ у поєднанні з сорбентом підвищувало кількість лейкоцитів у 2,8 і 2,6 раза відповідно та вірогідно переважало монозастосу-

вання сорбента С2 в 1,7–1,8 раза. Кількість гранулоцитів на тлі застосування алкілувального цитостатика знизилася у 3,8 раза. Монозастосування препаратів, що досліджували, не викликало вірогідних змін цього показника. У групах тварин, які отримували комбінацію ентеросорбента С2 та препаратів гранулоцитарного

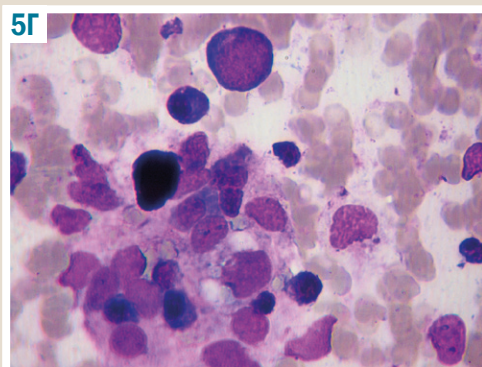
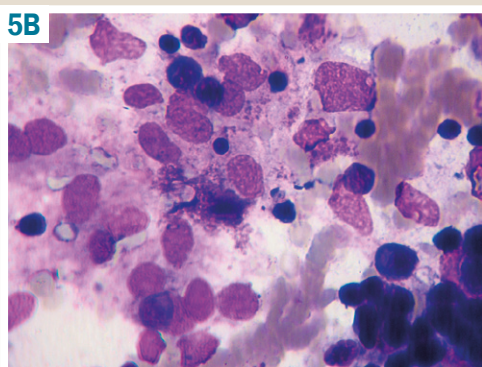
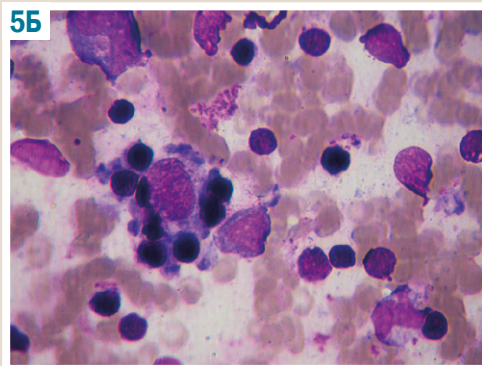
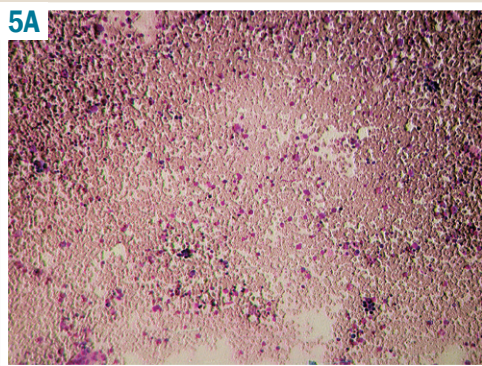
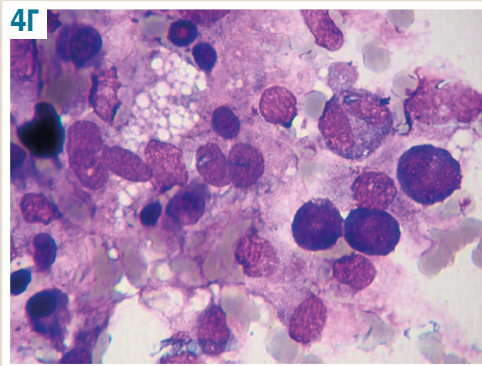
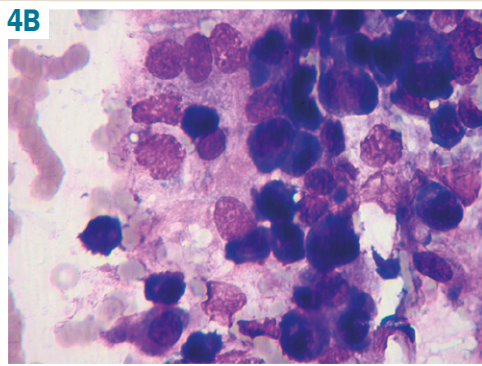
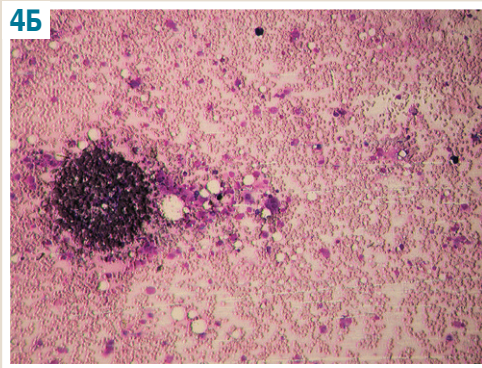
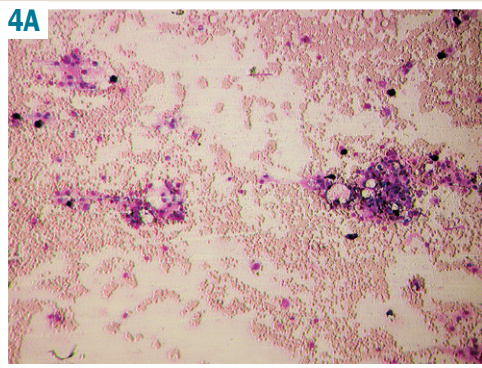


Рис. 4. Острівці кровотворення в кістковому мозку щурів із карциною Герена при корекції цитостатичною мієлосупресією, що викликана введенням мелфалану та корекції філгратимом. 17 доба дослідження (забарвлення за Паппенгеймом, **А, Б:** $\times 200$, **В, Г:** $\times 1000$)

Рис. 5. Регенераторні процеси в кістковому мозку щурів із карциною Герена під час сорбційної терапії мієлосупресії, що зумовлена введенням мелфалану, група L-PAM5.5 + C2 на 17 добу експерименту (забарвлення за Паппенгеймом, **А:** $\times 200$, **Б-Г:** $\times 1000$).

колонієстимулювального фактора (L-PAM+ філгратим+C2), та у групі L-PAM + p-КСФГ + C2 спостерігали майже нормалізацію цього показника – збільшення у 3,5 та 3,0 рази відповідно.

Дослідили також особливості відновлення кровотворення в умовах дії гранулоцитарного колонієстимулю-

вального фактора (препарати філгратим і p-ГКСФ) у поєднанні з сорбційною терапією в щурів із карциною Герена при мієлосупресії, що спричинена протипухлинним препаратом мелфалан. Рисунок поданий у вигляді первинного поля зору зі збільшенням $\times 200$, а потім окремі поля зору того самого препарату зі збільшенням $\times 1000$. На 17

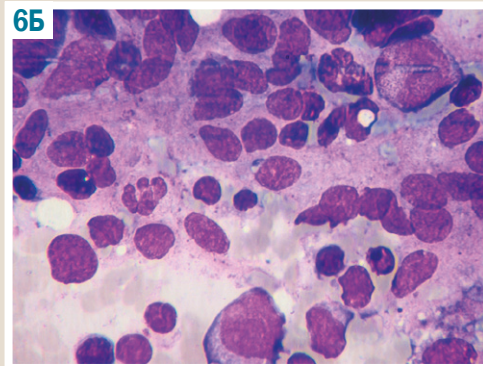
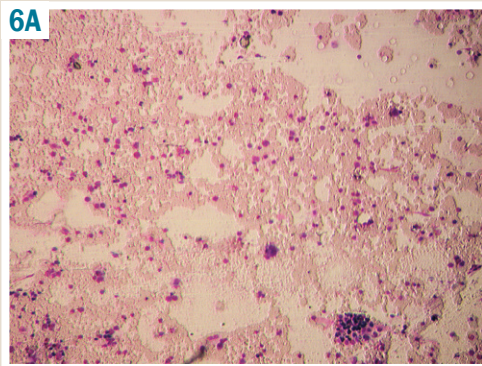


Рис. 6. Регенераторні процеси в кістковому мозку щурів із карциною Герена при поєднанні філграстиму та ентеросорбції для корекції мієлосупресії, що зумовлена введенням мелфалану, 17 доба (забарвлення за Паппенгеймом, **A:** $\times 200$, **Б-Г:** $\times 1000$).

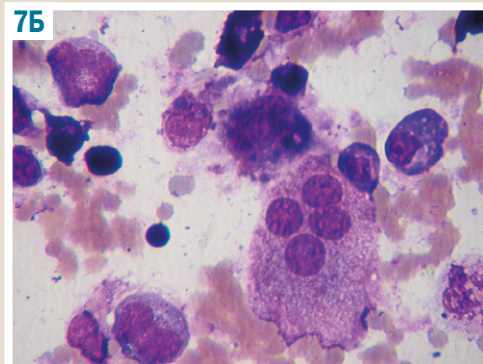
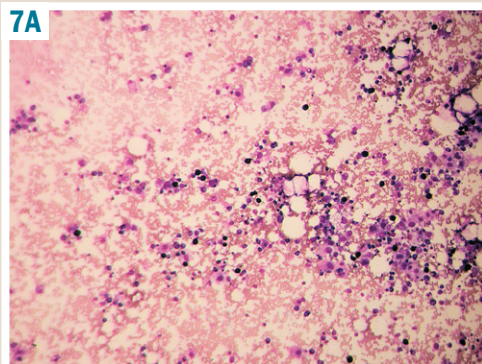
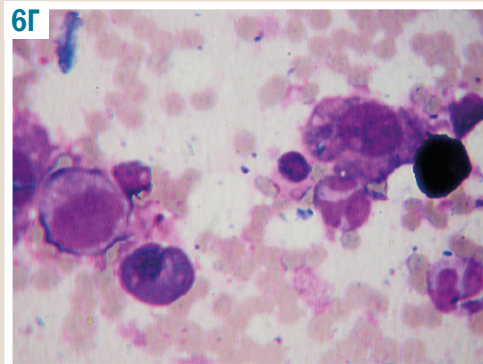
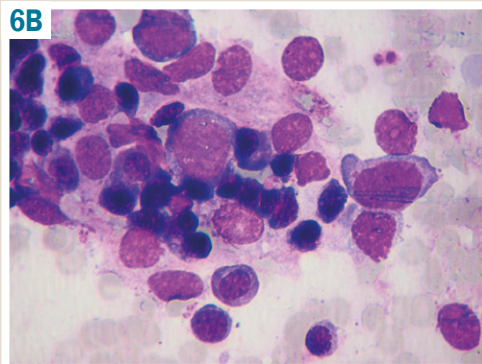
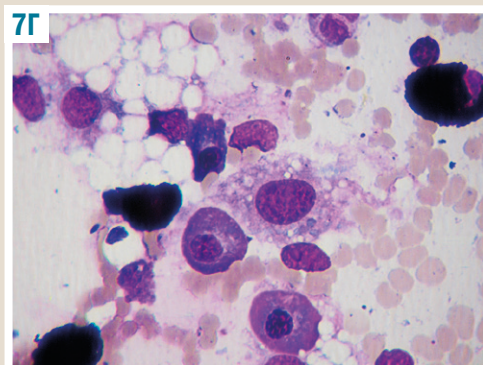
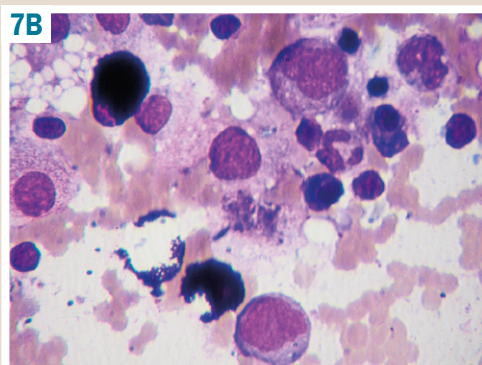


Рис. 7. Регенераторні процеси в кістковому мозку щурів із карциною Герена при поєднанні р-ГКСФ та ентеросорбції при мієлосупресії, що зумовлена введенням мелфалану (17 доба) (забарвлення за Паппенгеймом, **A:** $\times 200$, **Б-Г:** $\times 1000$).



добу після перещеплення пухлини у тварин пухлиноносців (група I) кістковий мозок багатоклітинний преважують клітини гранулоцитарного ряду кровотворення (рис. 2).

На відміну від нормального кровотворення, в кістковому мозку істотно знижена кількість зрілих клітин – паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів, що

зумовлено їхнім прискореним виходом у периферичне кровоносне русло. Більшість клітин – молоді диференціювальні гранулоцити (пром'єлоцити, мієлоцити, метамієлоцити). Кількість клітин еритроїдного ряду знижена. Наявні у великій кількості плазматичні та ретикулярні клітини, мегакаріоцити.

Після введення мелфалану (група II) в кістковому мозку щурів-пухлиноносців виявлені гіпо- (апластичні) зміни, з у край низькою клітинністю та жировими включеннями (рис. 3). У мазках-відбитках кісткового мозку – ділянки зруйнованих клітин. Клітини гранулоцитарного ряду поодинокі з ознаками деструктивних змін: вакуолізація, каріорексис, каріолізис, цитоліз. Траплялись гіпербазофільні мононуклеари, плазматичні клітини, острівці плазматичних і ретикулярних клітин. Клітини еритроїдного ряду теж нечисленні, але без ознак руйнування. Мегакаріоцити у препаратах не виявили. Такі зміни свідчать, що введена доза мелфалану має виражену мієлосупресивну дію.

В умовах застосування офіціального препарату філграстим (рис. 4) у кістковому мозку на тлі гіпоплазії спостерігали появу острівців кровотворення, що містили як молоді гранулоцитарні елементи (мієлобласти, мієлоцити та промієлоцити), так і зрілі гранулоцити (паличко- та сегментоядерні нейтрофіли та еозинфіли). У препаратах було відносно багато лімфоцитів, плазматичних і ретикулярних клітин, збільшувалася кількість базофілів. Крім клітин гранулоцитарного ряду, збільшується кількість клітин еритроїдного ряду.

Під час курсового застосування ентеросорбції з адсорбентом С2 відзначили збільшення загальної кількості клітин (рис. 5). Передусім це стосувалося численних плазматичних, ретикулярних клітин і лімфоцитів. Встановили наявність незначної кількості клітин різного ступеня диференціювання гранулоцитарного ряду, здебільшого – еритроїдних клітин.

Аналізуючи препарати кісткового мозку тварин, яким окрім мелфалану вводили філграстим та ентеросорбент С2, відзначили істотну ефективність цього поєднання порівняно з окремим впливом названих засобів (рис. 6). Кістковий мозок ще залишається гіпопластичним, але загальна кількість мієлокаріоцитів збільшується, частіше трапляються острівці гранулоцитарного й еритроїдного кровотворення. Ці островці збільшені за розміром, гемопоетичні клітини розташовуються на підкладках із ретикулярних і плазматичних клітин, є багато лімфоцитів, часто трапляються базофільні гранулоцити.

Особливістю відновлювальних процесів у кістковому мозку за поєднаної дії р-ГКСФ та ентеросорбції (група VI) була суттєва активація диференціювання клітин гранулоцитарного ряду в бік базофілів, збільшення чисельності лімфоцитів і плазматичних клітин. Кількість клітин нейтрофільного та еритроїдного рядів у кістковому мозку візуально дещо менша порівняно з застосуванням офіціального препарату КСФ (рис. 7).

Обговорення

Обговорюючи проблему захисту здорових тканин під час лікування онкопатології, необхідно зазначити: одним із найбільш небезпечних і тяжких ускладнень протипухлинної поліхіміотерапії є пригнічення кістково-мозкового кровотворення – токсична гіпоплазія. За певними винятками (блеоміцин, проспідин, вінкрістин, L-аспарагіназа) потужна поліхіміотерапія (ад'ювантна чи неoad'ювантна) вже в терапевтичних дозах проявляє виражену гематотоксичність, що змушує відстрочувати або й переривати лікування. Доведено, що лейкопенія,

а саме її тяжкість та частота розвитку на тлі поліхіміотерапії, – важливий прогностичний фактор виживаності пацієнтів [7].

Як показали отримані дані, доза мелфалану 5,5 мг/кг викликала істотне вірогідне зниження кількості лейкоцитів і гранулоцитів у периферичній крові та гіпо- і аплазію кісткового мозку досліджуваних тварин. Ці результати підтверджують попередні дослідження з використанням проточної цитофлуометрії, що показали: цитотоксичність мелфалану дозозалежна [20], а також і той факт, що цей алкілувальний цитостатик сьогодні широко використовують у схемах підготовки пацієнтів до трансплантації кісткового мозку та як частину лікування при поширених формах пухлин із віддаленими метастазами [21].

Золотим стандартом первинної, вторинної або підтримувальної профілактики та терапії нейтропенічних ускладнень у пацієнтів з ятрогенною мієлосупресією є застосування гемопоетичних факторів росту, які ініціюють проліферацію та диференціювання гемопоетичних клітин-попередниць у кістковому мозку, починаючи від стовбурових і завершуючи специфічними клітинними елементами. Це препарати рекомбінантного гранулоцитарного колонієстимулювального фактора – філграстим, ленограстим і пегфілграстим [22,23]. Однак біосиміляри Г-КСФ ефективно усувають прояви тільки гематологічної токсичності, а спектр інших побічних ефектів залишається. Для прикладу, рандомізоване плацебо-контрольоване дослідження на 125 пацієнтах із пухлинами в ділянці шиї та голови, які отримували радіотерапію, показало відсутність вірогідного позитивного ефекту застосування ГМ-КСФ на перебіг мукозитів/стоматитів [24]. Окрім цього, офіціальні препарати доволі дорогі, й виникають дискусії щодо фармакоєкономічної доцільності превентивного лікування нейтропенії [25]. Отже, постає питання про розроблення вітчизняних біосимілярів, які б могли шляхом меншої собівартості дещо знизити вартість лікування.

Здійснене дослідження доводить, що обидва препарати Г-КСФ (і філграстим, і розробка ІЕПОР р-ГКСФ) мають виражений мієлопротекторний ефект на тлі одноразового внутрішньовенного введення алкілувального цитостатика мелфалану, що підтверджує дані і експериментальних, і клінічних досліджень інших авторів. Монозастосування філграстиму поліпшувало ситуацію, однак максимально позитивні зміни досягнуто у групах, які отримували комбінацію препаратів Г-КСФ та ентеросорбції.

Перше дослідження ефективності методів сорбційної терапії (а саме гемокарибоперфузії) для усунення токсичного ефекту на кістковий мозок рентгенівського випромінювання здійснене ще в 1976 р. на собаках, які отримали 5,25 Грей [26]. Щодо ентеросорбції, то перші позитивні результати одержали в кінці 1980-х і на початку 1990-х років у пацієнтів із лімфогранулематозом, які проходили сеанси радіотерапії та отримували волокнисті вуглецеві оральні адсорбенти [27]. Експериментальне дослідження на щурах із перещепленою карциномою Герена, яким на 10 і 13 день після перещеплення пухлини вводили циклофосфамід і синтетичний вуглецевий ентеросорбент СКН (питома вага 0,3–0,4 г/см³), також показало певну мієлопротекторну активність [28].

Однак ми вперше довели ефективність комбінації Г-КСФ та ентеросорбції для мієлопротекції під час застосування цитостатичних лікарських засобів. Відзначимо, що така комбінація не стимулює ріст перещеплених пухлин і не зменшує протипухлинну активність алкілувального цитостатика мелфалану [29].

Отже, препарат рекомбінантного гранулоцитарного колонієстимулювального фактора вітчизняного розроблення за мієлопротекторною активністю не поступається референс-препарату філгратим. Комбінація препаратів Г-КСФ з ентеросорбентом С2 за ефективністю переважає монозастосування на тлі використання мелфалану в щурів із перещепленою карциномою Герена.

Висновки

1. Застосування алкілувального цитостатика мелфалану в дозі 5,5 мг/кг у щурів із перещепленою карциномою Герена спричиняє різке зниження кількості лейкоцитів, гранулоцитів у периферичній крові на 95,7 % та 73,9 % порівняно з групою тварин, які були пухлинним контролем.

2. Вивчаючи мієлограми, в цій дослідній групі спостерігали гіпо- та апластичні зміни з край низькою клітинністю, що свідчить про виражений мієлотоксичний вплив препарату.

3. Застосування як монокорекції офіціального препарату гранулоцитарного колонієстимулювального фактора (Г-КСФ) філгратиму та гранульованого вуглецевого ентеросорбента С2 з питомою вагою 0,18 г/см³ дещо покращувало досліджувані показники (рівень лейкоцитів зростав у 2,3 та 1,5 рази відповідно), однак спостерігали лише тенденцію до збільшення кількості гранулоцитів у периферичній крові. Зростала клітинність кісткового мозку та з'являлися диференціальні клітини.

4. Максимально ефективно застосування комбінації названих препаратів (офіціального препарату Г-КСФ і розробки ІЕПОР) – кількість гранулоцитів зростала та майже нормалізувалася. Кістковий мозок залишався гіпопластичним, але загальна кількість мієлокаріоцитів суттєво збільшувалася, частіше траплялися острівці гранулоцитарного й еритроїдного кровотворення.

5. Отже, застосування комбінації препаратів гранулоцитарного колонієстимулювального фактора та ентеральної сорбційної терапії сприяє регенерації кісткового мозку та, відповідно, покращує показники периферичної крові у тварин із перещепленою карциномою Герена.

Перспективи подальших досліджень. Результати, що отримали, є підґрунтям для наступного дослідження можливостей застосування такої комбінації та її імплементації у клінічну практику.

Фінансування

Робота виконана в рамках НДР «Розробка та оптимізація технології захисту кісткового мозку від цитостатичної мієлодепресії на основі комплексного застосування мас-фракціальних вуглецевих ентеросорбентів і гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора» загальноакадемічного конкурсу науково-технічних проєктів і розпорядження Президії НАН України від 27.02.2013 № 133 (Договір № 2.2.5.380

від 01.03.2013 р.) і НДР «Фармакологічні та фармакогенетичні аспекти протекторного впливу імунобіологічних препаратів, ентеросорбентів, речовин природного та синтетичного походження із різних патологічних станів» (номер держреєстрації 0116U004148, 2016–2018 рр.).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 11.04.2019

Після доопрацювання / Revised: 24.07.2019

Прийнято до друку / Accepted: 01.08.2019

Відомості про авторів:

Шевчук О. О., канд. мед. наук, доцент каф. фармакології з клінічною фармакологією, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. ORCID ID: 0000-0003-2473-6381

Тодор І. М., д-р біол. наук, старший науковий співробітник лабораторії механізмів медикаментозної резистентності, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, м. Київ.

Родіонова Н. К., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділу радіобіології та радіоекології, Інститут ядерних досліджень НАН України, м. Київ.

Посохова К. А., д-р мед. наук, професор каф. фармакології з клінічною фармакологією, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. ORCID ID: 0000-0002-2696-5738

Ніколаєв В. Г., чл.-кор. НАН України, д-р мед. наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, Лауреат Державної премії СРСР, зав. відділу засобів та методів сорбційної терапії, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, м. Київ.

Information about authors:

Shevchuk O. O., MD, PhD, Associate Professor, Pharmacology and Clinical Pharmacology Department, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine. Todor I. M., PhD, DSc, R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of National Academy of Science of Ukraine, Kyiv.

Rodionova N. K., MD, PhD, Institute for Nuclear Research of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.

Posokhova K. A., MD, PhD, DSc, Professor, Pharmacology and Clinical Pharmacology Department, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

Nikolaev V. H., MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding Member of the NAS of Ukraine, Laureate of the State Prize of USSR in Science and Technology, Honored worker of Science and Technology of Ukraine, Head of the Department of Means and Methods of Sorption Therapy, R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of National Academy of Science of Ukraine, Kyiv.

Сведения об авторах:

Шевчук О. О., канд. мед. наук, доцент каф. фармакології з клінічної фармакологією, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МЗ України.

Тодор І. М., д-р біол. наук, старший науковий співробітник лабораторії механізмів медикаментозної резистентності, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, г. Київ.

Родіонова Н. К., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділу радіобіології і радіоекології, Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ.

Посохова К. А., д-р мед. наук, професор каф. фармакології з клінічної фармакологією, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МЗ України.

Николаев В. Г., чл.-кор. НАН Украины, д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки и техники Украины, Лауреат Государственной премии СССР, зав. отделом средств и методов сорбционной терапии, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии имени П. Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев.

Список літератури

- [1] Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray et al. *Cancer Journal for Clinicians*. 2018. Vol. 68. Issue 6. P. 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] Dose delays, dose reductions, and relative dose intensity in patients with cancer who received adjuvant or neoadjuvant chemotherapy in community oncology practices / N. Denduluri et al. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2015. Vol. 13. Issue 11. P. 1383–1393. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2015.0166>
- [3] Preventing chemotherapy-induced myelosuppression by repurposing the FLT3 inhibitor quizartinib / S. J. Taylor et al. *Science Translational Medicine*. 2017. Vol. 9. Issue 402. P. eaam8060. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aam8060>
- [4] Tao J. J., Visvanathan K., Wolff A. C. Long term side effects of adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer. *The Breast*. 2015. Vol. 24. Suppl. 2. P. S149–S153. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2015.07.035>
- [5] Oral Mucositis Induced By Anticancer Therapies / S. Al-Ansari et al. *Current Oral Health Reports*. 2015. Vol. 2. Issue 4. P. 202–211. <https://doi.org/10.1007/s40496-015-0069-4>
- [6] Lyman G. H., Abella E., Pettengell, R. Risk factors for febrile neutropenia among patients with cancer receiving chemotherapy: A systematic review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2014. Vol. 90. Issue 3. P. 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.12.006>
- [7] Liu W., Zhang C. C., Li K. Prognostic value of chemotherapy-induced leukopenia in small-cell lung cancer. *Cancer Biology & Medicine*. 2013. Vol. 10. Issue 2. P. 92–98. <https://doi.org/10.7497/j.issn.2095-3941.2013.02.005>
- [8] Parkhill A. L. Oral Mucositis and Stomatitis Associated with Conventional and Targeted Anticancer Therapy. *Journal of Pharmacovigilance*. 2013. Vol. 1. Issue 4. P. 1000112. <https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000112>
- [9] Diamond O. M., Turgeman O., Blumenfeld Z. Minimizing the doxorubicin-Induced gonadotoxicity by sphingosine-1-phosphate analogue FTY720. *American Journal of Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology*. 2015. Vol. 2. Issue 1. P. 24–33. URL : <https://pdfs.semanticscholar.org/2c33/96b0a4f1d26c5952f8e602a654fbb2f7d55.pdf>
- [10] Cardio-oncology: a new and developing sector of research and therapy in the field of cardiology / P. M. Kostakou et al. *Heart Failure Reviews*. 2018. Vol. 24. P. 91–100. <https://doi.org/10.1007/s10741-018-9731-y>
- [11] Leucopenia and treatment efficacy in advanced nasopharyngeal carcinoma / Z. Su et al. *BMC Cancer*. 2015. Vol. 15. P. 429. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1442-3>
- [12] Nikolaev, V. G. Sorption Therapy with the Use of Activated Carbons: Effects on Regeneration of Organs and Tissues. *Hemoperfusion, Plasmapheresis and Other Clinical Uses of General, Biospecific, Immuno and Leucocyte Adsorbents* / T. M. S. Chang, Y. Endo, V. G. Nikolaev, T. Tani, Y. Yu, & W.-H. Zheng (Eds.). World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. 2017. P. 221–243. https://doi.org/10.1142/9789814749084_0007
- [13] Клініко-патогенетичне обґрунтування ентеросорбційної терапії інфекційних хвороб / М. А. Андрейчин, В. Г. Николаев, Я. І. Йосик, О. Ю. Бідованець. *Ліки України*. 2011. № 5. С. 46–50.
- [14] Григ Н. І. Обґрунтування застосування еферентної терапії у терапевтичній стоматології. *Новини стоматології*. 2015. № 4. С. 6167.
- [15] The influence of enterosorption on some haematological and biochemical indices of the normal rats after single injection of melphalan / O. O. Shevchuk et al. *Experimental Oncology*. 2014. Vol. 36. Issue 2. P. 94–100.
- [16] Prevention of myelosuppression by combined treatment with enterosorbent and granulocyte colony-stimulating factor / O. O. Shevchuk et al. *Experimental Oncology*. Vol. 37. Issue 2. P. 135–138.
- [17] Шевчук О. О. Вплив вуглецевого ентеросорбенту і гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора на проксидантно-антиоксидантний гомеостаз на тлі застосування мелфалану. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2015. № 45. С. 97–102.
- [18] Дослідження мієлопротекторної активності двох препаратів гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора на моделі цитостатичної мієлосупресії (огляд літератури і результати власних досліджень) / О. О. Шевчук та ін. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 1. С. 16–20. <https://doi.org/10.11603/2415-8798.2017.1.7564>
- [19] Increasing the effective concentration of melphalan in experimental rat liver tumours: comparison of isolated liver perfusion and hepatic artery infusion / A. Marinelli et al. *British Journal of Cancer*. Vol. 64. P. 1069–1075. <https://doi.org/10.1038/bjc.1991.466>
- [20] Melphalan-induced cytotoxicity in the bone marrow of rats by flow cytometry measurements / B. I. Gerashchenko et al. *International Journal of Medicine and Medical Research*. Vol. 4. Issue 2. P. 72–78. <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2018.2.9836>
- [21] Choosing a Reduced-Intensity Conditioning Regimen for Allogeneic Stem Cell Transplantation, Fludarabine/Busulfan versus Fludarabine Melphalan: A Systematic Review and Meta-Analysis / T. Jain et al. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2019. Vol. 25. Issue 4. P. 728–733. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.11.016>
- [22] 2010 update of EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphoproliferative disorders and solid tumours / M. S. Aapro et al. *European Journal of Cancer*. 2011. Vol. 47. Issue 1. P. 8–32. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.10.013>
- [23] Advantages with prophylactic PEG-rhG-CSF versus rhG-CSF in breast cancer patients receiving multiple cycles of myelosuppressive chemotherapy: an open-label, randomized, multicenter phase III study / J. Xie et al. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2018. Vol. 168. Issue 2. P. 389–399. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4609-6>
- [24] The impact of concurrent granulocyte–macrophage colony-stimulating factor on quality of life in head and neck cancer patients: results of the randomized, placebo-controlled Radiation Therapy Oncology Group 9901 trial / K. E. Hoffman et al. *Quality of Life Research*. 2014. Vol. 23. Issue 6. P. 1841–1858. <https://doi.org/10.1007/s1136-014-0628-5>
- [25] Barnes G., Pathak A., Schwartzberg L. Pharmacoeconomics of Granulocyte Colony-Stimulating Factor: A Critical Review. *Advances in Therapy*. Vol. 31. Issue 7. P. 683–695. <https://doi.org/10.1007/s12325-014-0133-9>
- [26] Shevchuk O. O., Snezhkova E. A., Bilous A. G., Sarnatskaya V. V., Badakhivska K. I., Sakhno L. A., Chekhun V. F., Nikolaev V. G. Sorption Detoxification as an Addition to Conventional Therapy of Acute Radiation Sickness and Iatrogenic Leukopenia. *Cells of the Immune System* / ed. O. Fuchs. IntechOpen. 2019. P. 120. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85690>
- [27] Enterosorption in Oncotherapy / G. V. Muravskaya et al. *Biomaterials, Artificial Cells and Immobilization Biotechnology*. 1991. Vol. 19. Issue 1. P. 167–174. <https://doi.org/10.3109/10731199109117823>
- [28] Бонацька Л. В., Плотников В. М., Николаев В. Г. Снижение гематоксичности противоопухолевых препаратов при энтеросорбции. *Экспериментальная онкология*. 1989. Т. 23. № 11. С. 71–73.
- [29] Efficacy of granulocyte colony-stimulating factor and enterosorption in melphalan-induced bone marrow suppression in guerin carcinoma grafted rats / O. O. Shevchuk et al. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2019. Vol. 5. Issue 1. P. 66–74. <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2019.1.10307>

References

- [1] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] Denduluri, N., Patt, D. A., Wang, Y., Bhor, M., Li, X., Favret, A. M., Morrow, P. K., Barron, R. L., Asmar, L., Saravanan, S., Li, Y., Garcia, J., & Lyman, G. H. (2015). Dose Delays, Dose Reductions, and Relative Dose Intensity in Patients With Cancer Who Received Adjuvant or Neoadjuvant Chemotherapy in Community Oncology Practices. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 13(11), 1383–1393. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2015.0166>
- [3] Taylor, S. J., Duyvestyn, J. M., Dagher, S. A., Dishington, E. J., Rinaldi, C. A., Dovey, O. M., Vassiliou, G. S., Grove, C. S., & Langdon, W. Y. (2017). Preventing chemotherapy-induced myelosuppression by repurposing the FLT3 inhibitor quizartinib. *Science Translational Medicine*, 9(402), Article eaam8060. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aam8060>
- [4] Tao, J. J., Visvanathan, K., & Wolff, A. C. (2015). Long term side effects of adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer. *The Breast*, 24(Suppl. 2), S149–S153. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2015.07.035>
- [5] Al-Ansari, S., Zechar, J. A. E. M., Barasch, A., de Lange, J., Rozema, F. R., & Raber-Durlacher, J. E. (2015). Oral Mucositis Induced By Anticancer Therapies. *Current Oral Health Reports*, 2(4), 202–211. <https://doi.org/10.1007/s40496-015-0069-4>
- [6] Lyman, G. H., Abella, E., & Pettengell, R. (2014). Risk factors for febrile neutropenia among patients with cancer receiving chemotherapy: A systematic review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 90(3), 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.12.006>

- [7] Liu, W., Zhang, C. C., & Li, K. (2013). Prognostic value of chemotherapy-induced leukopenia in small-cell lung cancer. *Cancer Biology & Medicine*, 10(2), 9298. <https://doi.org/10.7497/j.issn.2095-3941.2013.02.005>
- [8] Parkhill, A. L. (2013). Oral Mucositis and Stomatitis Associated with Conventional and Targeted Anticancer Therapy. *Journal of Pharmacovigilance*, 1(4), Article 1000112. <https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000112>
- [9] Diamond, O. M., Turgeman, O., & Blumenfeld, Z. (2015). Minimizing the doxorubicin-Induced gonadotoxicity by sphingosine-1-phosphate analogue FTY720. *American Journal of Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology*, 2(1), 24–33. <https://pdfs.semanticscholar.org/2c33/96b0a4f12d6c5952f8e602a654fbb2f7d55.pdf>
- [10] Kostakou, P. M., Kouris, N. T., Kostopoulos, V. S., Damaskos, D. S., & Olympios, C. D. (2018). Cardio-oncology: a new and developing sector of research and therapy in the field of cardiology. *Heart Failure Reviews*, 24, 91–100. <https://doi.org/10.1007/s10741-018-9731-y>
- [11] Su, Z., Mao, Y.-P., OuYang, P.-Y., Tang, J., Lan, X.-W., & Xie, F.-Y. (2015). Leucopenia and treatment efficacy in advanced nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer*, 15, Article 429. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1442-3>
- [12] Nikolaev, V. G. (2017). Sorption Therapy with the Use of Activated Carbons: Effects on Regeneration of Organs and Tissues. In T. M. S. Chang, Y. Endo, V. G. Nikolaev, T. Tani, Y. Yu, & W.-H. Zheng (Eds.), *Hemoperfusion, Plasmaperfusion and Other Clinical Uses of General, Biospecific, Immuno and Leucocyte Adsorbents* (pp. 221–243). World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. https://doi.org/10.1142/9789814749084_0007
- [13] Andreychyn, M. A., Nikolaev, V. G., Yosyk, Ya. I., & Bidovanets, O. Yu. (2011). Kliniko-patohenetychnye obgruntuvannia enterosorbtsiinoi terapii infektsiynkh khvorob [Enterisorbition Therapy Clinic Nosotropic Ground of Infectious Diseases]. *Liky Ukrainy*, (5), 46–50. [in Ukrainian].
- [14] Hryh, N. I. (2015). Obgruntuvannia zastosuvannia eferentnoi terapii u terapevtychnii stomatologii [Substantiation of Application of Efferent Therapy in Therapeutic]. *Novyny stomatologii*, (4), 61–67. [in Ukrainian].
- [15] Shevchuk, O. O., Posokhova, K. A., Sidorenko, A. S., Bardakhivskaya, K. I., Maslenny, V. M., Yushko, L. A., Chekhun, V. F., & Nikolaev, V. G. (2014). The influence of enterosorption on some haematological and biochemical indices of the normal rats after single injection of melphalan. *Experimental oncology*, 36(2), 94–100.
- [16] Shevchuk, O. O., Posokhova, K. A., Todor, I. N., Lukianova, N. Yu., Nikolaev, V. G., & Chekhun, V. F. (2015). Prevention of myelosuppression by combined treatment with enterosorbent and granulocyte colony-stimulating factor. *Experimental Oncology*, 37(2), 135–138.
- [17] Shevchuk, O. O. (2015). Vplyv vuhletsevoho enterosorbentu i hranulotsytarnoho koloniestymuliuuchoho faktora na proksydantno-antyoksydatnyi homeostaz na tlii zastosuvannia melfalanu [The influence of carbonic enterosorbent and granulocyte colony stimulating factor on prooxidant-antioxidant homeostasis impaired by alkylating cytostatic melphalan]. *Farmakologiya ta likarska toksykologiya*, (4–5), 97–102. [in Ukrainian].
- [18] Shevchuk, O. O., Todor, I. M., Posokhova, K. A., Snezhkova, E. O., & Nikolaev, V. G. (2017). Doslidzhennia mieloprotektoinoi aktyvnosti dvokh preparativ hranulotsytarnoho koloniestymuliuuchoho faktora na modeli tsytostatychnoi mielosupresii (ohliad literatury i rezultaty vlasnykh doslidzhen) [Myeloprotective activity of two granulocyte colony stimulating factors on model of cytostatic myelosuppression (literature review and results of our own researchers)]. *Visnyk naukovykh doslidzhen*, (1), 16–20. <https://doi.org/10.11603/2415-8798.2017.1.7564> [in Ukrainian].
- [19] Marinelli, A., van Dierendonck, J., van Brakel, G., Irth, H., Kuppen, P., Tjaden, U., & van de Velde, C. (1991). Increasing the effective concentration of melphalan in experimental rat liver tumours: comparison of isolated liver perfusion and hepatic artery infusion. *British Journal of Cancer*, 64, 1069–1075. <https://doi.org/10.1038/bjc.1991.466>
- [20] Gerashchenko, B. I., Todor, I. M., Shevchuk, O. O., & Nikolaev, V. G. (2018). Melphalan-induced cytotoxicity in the bone marrow of rats by flow cytometry measurements. *International Journal of Medicine and Medical Research*, 4(2), 72–78. <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2018.2.9836>
- [21] Jain, T., Alahdab, F., Firwana, B., Sonbol, M. B., Almader-Douglas, D., & Palmer, J. (2019). Choosing a Reduced-Intensity Conditioning Regimen for Allogeneic Stem Cell Transplantation, Fludarabine/Busulfan versus Fludarabine Melphalan: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 25(4), 728–733. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.11.016>
- [22] Aapro, M. S., Bohlius, J., Cameron, D. A., Lago, L. D., Donnelly, J. P., Kearney, N., Lyman, G. H., Pettengell, R., Tjan-Heijnen, V. C., Walewski, J., Weber, D. C., & Zielinski, C. (2011). 2010 update of EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphoproliferative disorders and solid tumours. *European Journal of Cancer*, 47(1), 8–32. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.10.013>
- [23] Xie, J., Cao, J., Wang, J., Zhang, B., Zeng, X., Zheng, H., Zhang, Y., Cai, L., Wu, Y., Yao, Q., Zhao, X., Mao, W., Jiang, A.-M., Chen, S., Yang, S., Wang, S., Wang, J., Pan, Y., Ren, B., ... Hu, X. (2018). Advantages with prophylactic PEG-rhG-CSF versus rhG-CSF in breast cancer patients receiving multiple cycles of myelosuppressive chemotherapy: an open-label, randomized, multicenter phase III study. *Breast Cancer Research and Treatment*, 168(2), 389–399. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4609-6>
- [24] Hoffman, K. E., Pugh, S. L., James, J. L., Scarantino, C., Movsas, B., Valicenti, R. K., Fortin, A., Pollock, J., Kim, H., Brachman, D. G., Berk, L. B., Bruner, D. W., & Kachnic, L. A. (2014). The impact of concurrent granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on quality of life in head and neck cancer patients: results of the randomized, placebo-controlled Radiation Therapy Oncology Group 9901 trial. *Quality of Life Research*, 23(6), 1841–1858. <https://doi.org/10.1007/s11136-014-0628-5>
- [25] Barnes, G., Pathak, A., & Schwartzberg, L. (2014). Pharmacoeconomics of Granulocyte Colony-Stimulating Factor: A Critical Review. *Advances in Therapy*, 31(7), 683–695. <https://doi.org/10.1007/s12325-014-0133-9>
- [26] Shevchuk, O. O., Snezhkova, E. A., Bilous, A. G., Sarnatskaya, V. V., Badakhivskaya, K. I., Sakhno, L. A., Chekhun, V. F., & Nikolaev, V. G. (2019). Sorption Detoxification as an Addition to Conventional Therapy of Acute Radiation Sickness and Iatrogenic Leukopenia. In O. Fuchs (Ed.), *Cells of the Immune System* (pp. 120). IntechOpen, <https://doi.org/10.5772/intechopen.85690>
- [27] Muravskaya, G. V., Nikolaev, V. G., Sergeev, V. P., Krutlina, N. I., Bonatskaya, L. V., Klevtsov, V. N., Surovikina, V. V., & Sinajko, V. V. (1991). Enterosorption in Oncotherapy. *Biomaterials, Artificial Cells and Immobilization Biotechnology*, 19(1), 167–174. <https://doi.org/10.3109/10731199109117823>
- [28] Bonatskaya, L. V., Plotnikov, V. M., & Nikolaev, V. G. (1989). Snizhenie gematotoksichnosti protivopukhovevnykh preparatov pri enterosorbtsii [Reduction of hematotoxicity of anticancer drugs during enterosorption]. *Eksperymental'naya onkologiya*, 23(11), 71–73. [in Russian].
- [29] Shevchuk, O. O., Todor, I. M., Lukianova, N. Y., Rodionova, N. K., Nikolaev, V. G., & Chekhun, V. F. (2019). Efficacy of granulocyte colony-stimulating factor and enterosorption in melphalan-induced bone marrow suppression in guerin carcinoma grafted rats. *International Journal of Medicine and Medical Research*, 5(1), 66–74. <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2019.1.10307>