

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ОКСИДАНТНОГО И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВВЕДЕНИЕМ ХИМИОПРЕПАРАТОВ

Аннотация. Изучено состояние оксидантного и метаболического статуса при экспериментальном введении химиопрепаратов доксорубина и циклофосфана и его коррекция мексидолом, этилметилгидроксипиридином гемисукцинатом (ЭМГП) и нооклерином. Показано, что исследуемые препараты устраняют индуцированные введением цитостатиков ПОЛ, функциональные нарушения печени, снижают степень выраженности цитолитического синдрома, печеночно-клеточной недостаточности, холестаза, восстанавливают холестерин- и белоксинтетическую функцию. Последнее предопределяет целесообразность использования препаратов сопровождения в комплексной терапии при лечении онкопатологии.

Ключевые слова: оксидантный, метаболический статус, ПОЛ, синдром цитолиза, печеночно-клеточной недостаточности, мексидол, ЭМГП, нооклеин.

Abstract. State of oxidative and metabolic status was studied under experimental introduction of chemotherapeutic agents doxorubicin and cyclophosphanum and its correction by mexidol, nooklerin, ethylmethylhydroxypyridine succinate. Shown that the study drugs eliminate the introduction of cytotoxic drugs induced lipid peroxidation, functional disorders of the liver, reduce the severity of cytolytic syndrome, hepatocellular insufficiency, cholestasis, reduced cholesterol forming function and protein forming function. The latter determines the feasibility of using maintenance drugs in adjuvant therapy in the treatment of cancer pathology.

Keywords: oxidative, metabolic status, lipid peroxidation, cytolysis syndrome, hepatocellular insufficiency, mexidol, nooklerin, ethylmethylhydroxypyridine succinate.

Определенные успехи в лечении злокачественных новообразований, достигнутые в последние годы, обычно связывают с развитием методик хирургического лечения, химио- и биотерапии. Однако полностью решить проблему местной девитализации опухоли без столь мощного фактора, как лучевая терапия, на современном этапе развития онкологии не представляется возможным [1]. Поэтому химио- и лучевая терапия по-прежнему являются одними из основных в лечении злокачественных новообразований, однако существенным лимитирующим фактором в достижении максимальной терапевтической эффективности является развитие выраженных токсических побочных эффектов, что может привести к снижению качества жизни пациентов, незапланированным перерывам в лечении. Это ухудшает отдаленные результаты противоопухолевой терапии [2].

Несмотря на открытия в области молекулярной биологии опухолевых клеток, многообразие схем радиационного и фармакологического воздействия на различные этапы и звенья опухолевого роста, проблема создания эффективных методов лечения до сих пор в основном не решена. Повышение эффективности химио- и лучевой терапии злокачественных новообразований

продолжается по разным направлениям. Одним из перспективных направлений является разработка подходов к реализации максимально возможной специфической активности широко применяемых в клинике цитостатических методов терапии путем снижения их токсичности при использовании анти-токсических модификаторов [3]. Поэтому наряду с традиционными методами противоопухолевого лечения в клинической онкологии все более прочные позиции занимает поддерживающая терапия, позволяющая не только предупредить или уменьшить проявления нежелательных побочных эффектов лекарственной и лучевой терапии, но и в значительной степени уменьшить степень проявления тяжелых осложнений, обусловленных распространенным опухолевым процессом, и, тем самым, повысить качество жизни больных [4].

Патофизиологической основой развития токсических побочных эффектов является способность противоопухолевых препаратов и лучевых воздействий интенсифицировать свободнорадикальные процессы и обусловленное ими перекисное окисление липидов (ПОЛ) клеточных мембран в разных органах и тканях [5–7], в результате чего нарушается жидкостно-мозаичная структура мембран и повышается их гидрофильность, происходит набухание органелл, в том числе митохондрий, что в сочетании с угнетением ферментных систем транспорта электронов приводит к грубым нарушениям энергетического обмена: разобщению дыхания и окислительного фосфорилирования [8]. Развитие структурных и метаболических нарушений в «нормальных» клетках обуславливает возникновение выраженных побочных эффектов [9], из которых одним из наиболее распространенных является гематотоксичность с развитием миелосупрессии и нарушениями коагуляционного потенциала крови.

Не менее важным является тот факт, что в процессе злокачественного роста происходит изменение показателей антиокислительной активности и окислительного статуса опухоли, что может отражаться на органах и тканях организма. Данные литературы свидетельствуют, что свободнорадикальное окисление играет важную роль в процессах возникновения и развития опухоли [10, 11].

Важная роль в нарушениях коагуляционного потенциала крови у онкологических больных также отведена активации процессов свободнорадикального окисления, дестабилизации биологических мембран клеток крови, сосудистой стенки. При этом возникают обнажение субэндотелия, экспрессия адгезивных молекул, активации внешнего и внутреннего механизмов формирования протромбиназы [12, 13]. Противоопухолевая химио- и лучевая терапия усиливает эти нарушения [14].

Таким образом, учитывая большую значимость активации свободнорадикальных реакций в развитии большинства осложнений противоопухолевой терапии, перспективным, актуальным и патогенетически обоснованным представляется применение препаратов, обладающих антиоксидантным действием, с различным механизмом и уровнем воздействия на процессы перекисного окисления липидов и обеспечивающих адекватную защиту мембран здоровых клеток без снижения терапевтической эффективности химио- и лучевой терапии.

Учитывая, что в литературе имеются неполные сведения о применении антиоксидантов как средств вспомогательной терапии опухолей, настоящая

работа посвящена изучению эффективности отдельных антиоксидантов в снижении гематотоксичности противоопухолевой химио- и лучевой терапии, а также терапевтической эффективности сочетанного применения средств с антиоксидантным действием с известными широко используемыми в лечении злокачественных новообразований цитостатиками.

Цель работы: разработка патогенетически обоснованной медикаментозной коррекции оксидантного и метаболического статуса препаратами сопровождения с антиоксидантным типом действия при развитии цитостатической болезни, вызванной введением химиопрепаратов.

Материалы и методы исследования

В работе использованы производные 3-оксипиридина: препарат мексидол в виде 5 % официального раствора в ампулах по 2 мл, соединение этилметилгидроксипиридина гемисукцинат, синтезированное профессором Л. Д. Смирновым (институт биохимической физики им. Н. М. Эммануэля Российской академии наук), и нооклерин, которые вводились животным в краевую вену уха по схемам.

Эксперименты были проведены на 80 кроликах-самцах породы шиншилла массой 2,5–3,0 кг. Все экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария Пензенского государственного университета при естественном световом режиме на стандартной диете, свободном доступе к воде и пище. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных и используемыми для экспериментальных и иных научных целей (Страстбург, 1986).

Выполнено три серии опытов, в которых изучались оксидантный и метаболический статус при цитостатическом повреждении без какой-либо коррекции, а также на фоне фармакологической коррекции мексидолом, этилметилгидроксипиридина гемисукцинатом и нооклерином. Схема эксперимента представлена в табл. 1.

Во всех сериях венозную кровь забирали до радиационного воздействия, на 8, 15, 22 и 29-е сутки опыта из краевой вены уха кроликов. В качестве критериев оценки прогностически неблагоприятных сдвигов метаболического статуса использовали показатели содержания в крови продуктов липопероксидации – малонового диальдегида (МДА) и Fe-индуцированного МДА в исследуемой среде (Конюхова С. Г. с соавт., 1989), а также состояние антиоксидантной системы по показателям активности СОД (Frid R., 1975), каталазы (Королук М. А. с соавт., 1998), глутатион пероксидазы (Paglia, Valentine, 1967), определяемых при помощи общепринятых спектрофотометрических и фотометрических методов исследования. О степени выраженности синдрома цитолиза судили по активности АСТ, АЛТ, определяемых колориметрическим динитрофенилгидразиновым методом, активности ЛДГ, определяемой кинетическим методом, и активности ЩФ, определяемой по «конечной точке». Изучали содержание общего белка в сыворотке крови, концентрацию глюкозы в плазме крови, мочевой кислоты, общего и прямого билирубина, общего холестерина, триглицеридов, мочевины (Камышников В. С., 2002).

Для биохимических исследований использовали фотозлектрокалориметр «КФК-2МП» и спектрофотометр «СФ-46».

Таблица 1

Структура эксперимента

№	n	Серия	Режим эксперимента
1	10	Контрольная	Доксорубицин внутривенно в дозе 30 мг/м ² на 1, 8 и 15-е сутки один раз в день
2	10	Контрольная	Циклофосфан внутривенно в дозе 20 мг/кг (курсовая доза 100 мг/кг) один раз в день через день
3	20	Опытная	Доксорубицин внутривенно в дозе 30 мг/м ² на 1, 8 и 15-е сутки один раз в день. Циклофосфан внутривенно в дозе 20 мг/кг (курсовая доза 100 мг/кг) один раз в день через день. Мексидол 5 мг/кг внутривенно через день в течение 29 суток
4	20	Опытная	Доксорубицин внутривенно в дозе 30 мг/м ² на 1, 8 и 15-е сутки один раз в день. Циклофосфан внутривенно в дозе 20 мг/кг (курсовая доза 100 мг/кг) один раз в день через день. Этилметилгидроксипиридина гемисукцинат 5 мг/кг внутривенно через день в течение 29 суток
5	20	Опытная	Доксорубицин внутривенно в дозе 30 мг/м ² на 1, 8 и 15-е сутки один раз в день. Циклофосфан внутривенно в дозе 20 мг/кг (курсовая доза 100 мг/кг) один раз в день через день. Нооклерин 120 мг/кг внутривенно через день в течение 29 суток

Белковые фракции сыворотки крови разделяли с использованием системы для электрофореза «Кормэй – DS-2» и наборов реагентов (с агаровыми пластинами) фирмы «Кормэй» (Польша).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета статистических программ: русифицированная версия программы STATISTICA (StatSoft – Russia, 1999), BIOSTAT (S. A. Glantz, McGraw Hill, перевод на русский язык, 1998). Результаты представлены в виде средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$). Проверка нормальности распределения проводилась по критерию Шапиро-Уилка. Для оценки достоверности различий независимых переменных между группами использовали *t*-критерий Стьюдента. В случае распределения, отличного от нормального, для оценки достоверности различий между независимыми переменными использовался непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми с вероятностью не менее 95 % ($p < 0,05$).

Результаты исследования

В плазме крови экспериментальных кроликов при введении доксорубицина гидрохлорида (рис. 1) выявлено увеличение конечных продуктов липопероксидации, что проявлялось достоверным ростом уровня МДА на всех этапах исследования.

Все препараты сопровождения достоверно ограничивали рост МДА в плазме крови, стимулированного введением доксорубицина, в большей степени в период введения химиопрепарата. Нооклерин наиболее выражено снижал уровень МДА: в два раза на фоне введения антибиотика и в 1,2 –

на 29-е сутки эксперимента. Доксорубин снижал активность каталазы, глутатионпероксидазы и в большей степени СОД (на 23,16 % на 29-е сутки). Все изученные препараты сопровождения повышали активность СОД (мексидол увеличивал активность фермента на 37,7 %, нооклерин – на 25,4 %, ЭМГП – на 15,9 % на 29-е сутки). Все препараты при длительном введении корректировали индуцированное доксорубином снижение активности каталазы. Нооклерин и мексидол повышали активность глутатионпероксидазы к концу опыта.

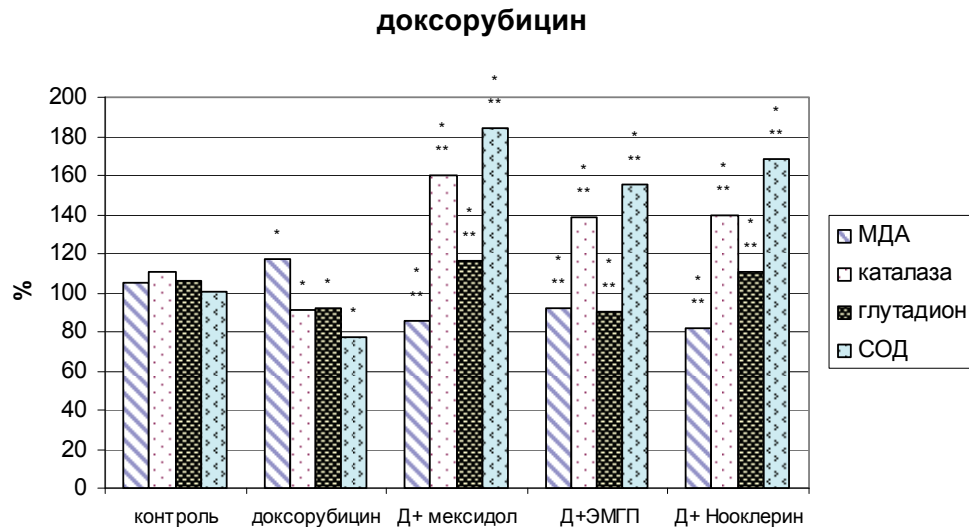


Рис. 1. Содержание МДА, каталазы, глутатионпероксидазы, СОД на 29-е сутки в плазме крови при цитотоксическом действии доксорубина на фоне введения мексидола, ЭМГП и нооклерина (* $p < 0,05$ – достоверность отличия с данными интактной группы; ** $p < 0,05$ – достоверность отличия с данными контрольной группы)

Гепатотоксическое действие доксорубина подтверждалось повышением активности цитолитических индикаторных ферментов. Активность АЛТ возрастала на 30,3 % после первой инъекции антибиотика на восьмые сутки до $0,43 \pm 0,02$ ед./л ($p < 0,001$), ($0,33 \pm 0,02$ ед./л – в интактном контроле). Активность АСТ возрастала на 36,3 % до $0,3 \pm 0,02$ мкт/л ($p < 0,001$) при контрольных значениях $0,22 \pm 0,03$ мкт/л. На 22-е и 29-е сутки после инъекций доксорубина активность ЛДГ повышалась в 2,3 раза ($858,36 \pm 8,13$ ед./л, $p < 0,001$) и 1,7 раза ($636,06 \pm 18,68$ ед./л, $p < 0,001$), соответственно (в интактном контроле показатель составлял $365,52 \pm 10,93$ ед./л). Максимальное повышение активности ЩФ доксорубина гидрохлоридом (на 127 %) регистрировалось на 15-е сутки опыта. Все препараты сопровождения в равной степени снижали активность ЛДГ, мексидол максимально угнетал активность фермента на 29-е сутки в 1,8 раза. Нооклерин и ЭМГП уменьшали активность ЩФ в среднем в два раза в течение всего опыта. Активность АСТ и АЛТ в равной степени снижались исследуемыми антиоксидантами на 29-е сутки.

При введении доксорубина регистрировалось резкое снижение синтеза мочевины на 8-е сутки и холестерина на 29-е сутки. Мочевинообразовательная и холестеринсинтезирующая функции печени при введении антиоксидантов восстанавливались. Мочевая кислота при использовании ЭМГП

снижалась в 3,2 раза относительно показателя при инъекциях только доксорубина и в 2,9 раза относительно интактного контроля. Концентрация билирубина при коррекции мексидолом, ЭМГП, нооклерином снижалась во все исследуемые сроки, на 29-е сутки – в два раза. Триглицериды препаратами сопровождения снижались до уровня интактного контроля.

Мексидол в большей степени, чем ЭМГП и нооклерин, проявил гепатопротекторную активность, восстанавливал детоксикационную способность печени и белоксинтезирующую функцию печени, увеличивая содержание общего белка сыворотки крови на 22 % на 29-е сутки и концентрацию альбуминов на 31 % на 15-е сутки эксперимента.

В плазме крови экспериментальных животных на фоне циклофосфана выявлено увеличение конечных продуктов липопероксидации (рис. 2), что проявлялось ростом уровня МДА, не исключая отдаленные периоды после прекращения введения цитостатика (до 71 % на 29-е сутки).

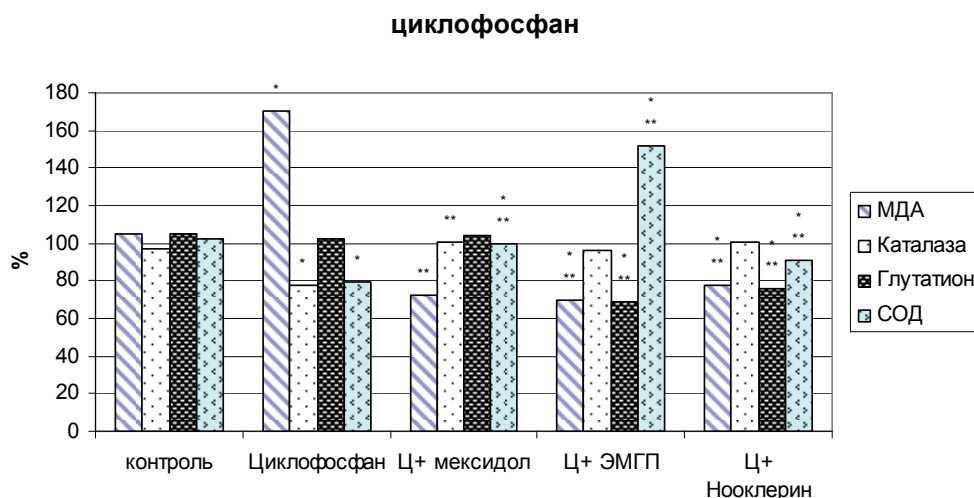


Рис. 2. Содержание МДА, каталазы, глутатионпероксидазы, СОД на 29-е сутки в плазме крови при цитотоксическом действии циклофосфана на фоне введения мексидола, ЭМГП и нооклерина (* $p < 0,05$ – достоверность отличия с данными интактной группы; ** $p < 0,05$ – достоверность отличия с данными контрольной группы)

Отмечалось статистически значимое снижение активности каталазы и СОД, максимально выраженное до 22,1 и 20,48 % к концу исследования. Активность глутатионпероксидазы не претерпевала резких отклонений от уровня интактного контроля. Препараты с антиоксидантной активностью в равной степени ограничивали процессы активации ПОЛ, стимулированные введением циклофосфана, уровень МДА снижался в два раза как в первой половине опыта, так и в отдаленном периоде. Все препараты повышали активность каталазы в среднем на 28,5 % на 29-е сутки опыта. ЭМГП вызывал повышение активности СОД с 15-го дня и до конца эксперимента – на 29-е сутки величина показателя была выше контрольной на 91 %. В отличие от других ферментов, активность глутатионпероксидазы на фоне ЭМГП и нооклерина снижалась с восьмых суток относительно интактного контроля, что может быть связано с утилизацией большого количества липоперекисей и истощением компенсаторных возможностей АОС. У контрольных животных токсическое

воздействие циклофосфана на целостность гепатоцитов характеризовалось максимальным повышением активности индикаторных ферментов цитолиза АЛТ в 1,4 раза на восьмые сутки, ЛДГ – в два раза на восьмые сутки, ЩФ – в 2,4 раза на 29-е сутки. Мексидол и нооклерин в равной степени снижали активность ЛДГ и ЩФ в среднем на 30 % относительно показателей контрольных животных. Активность АЛТ снижалась ЭМГП сопоставимо с мексидолом на 20 % после введения цитостатика.

Мексидол, этилметилгидроксипиридина гемисукцинат, нооклерин устраняли состояние уремии, вызванной циклофосфаном, мексидол снижал концентрацию мочевины до значений интактного контроля. ЭМГП и нооклерин снижали концентрацию креатинина на 30 %, мексидол – на 10 % относительно показателей на фоне цитостатика. Концентрация общего и прямого билирубина при коррекции мексидолом и нооклерином снижалась во все исследуемые сроки в среднем на 12 и 70 %. ЭМГП снижал только уровень прямого билирубина на 79 %. Циклофосфан вызывал повышение уровня триглицеридов до 102 % и общего холестерина до 235 %. Все препараты сопровождения статистически значимо снижали содержание общего холестерина и триглицеридов, мексидол проявлял более выраженный эффект, восстанавливая показатели до интактного контроля.

Таким образом, мексидол в большей степени проявил гепатопротекторную активность, восстанавливал белоксинтезирующую функцию печени, увеличивая содержание общего белка сыворотки крови на 17,2 %.

Список литературы

1. **Виноградов, В. М.** Химиолучевая терапия опухолей головного мозга / В. М. Виноградов, А. В. Карташев // Практическая онкология. – 2008. – Т. 9. – № 1. – С. 47–55.
2. **Черниченко, А. В.** Химиолучевая терапия немелкоклеточного рака легкого / А. В. Черниченко, А. В. Филимонов // Практическая онкология. – 2008. – Т. 9. – № 1. – С. 16–20.
3. **Давыдов, М. И.** Экспериментальная онкология на рубеже веков / М. И. Давыдов ; под ред. М. И. Давыдова, А. Ю. Барышникова. – М., 2003. – 552 с.
4. **Константинова, М. М.** Новые поддерживающие средства (противорвотные, бисфосфонаты, колониестимулирующие факторы) / М. М. Константинова // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3. – № 4. – С. 309–319.
5. **Успенская, Ю. А.** Модуляция доксорубицином биологических эффектов АТФ в клетках костного мозга IN VITRO / Ю. А. Успенская, А. Б. Егорова, В. П. Нефедов // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Т. 133. – № 5. – С. 487–490.
6. **Глушков, С. И.** Состояние системы глутатиона в тканях сердца крыс при острых отравлениях доксорубицином / С. И. Глушков, С. А. Куценко, Т. М. Новикова // Вопросы онкологии. – 2005. – Т. 51. – № 1. – С. 108–112.
7. **Саенко, Ю. В.** Изучение генотоксических свойств доксорубина с использованием клеточной модели *saccharomyces cerevisiae* / Ю. В. Саенко, А. М. Шутов // Эксперим. и клин. фармакология. – 2007. – Т. 70. – № 3. – С. 29–32.
8. **Кинзирская, Ю. А.** Гепатотоксическое действие лекарственных препаратов некоторых фармакологических групп / Ю. А. Кинзирская, Т. А. Богущ, Н. В. Остапчук [и др.] // Клин. медицина. – 2003. – № 10. – С. 11–16.
9. **Немцова, Е. Р.** Антиоксиданты – место и роль в онкологии / Е. Р. Немцова, Т. В. Сергеева, О. А. Безбородова [и др.] // Рос. онкол. журн. – 2003. – № 5. – С. 48–53.

10. **Меньщикова, Е. Б.** Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин [и др.]. – Новосибирск. – 2008. – 284 с.
11. **Белоногов, Р. Н.** Окислительная модификация белков и липидов плазмы крови больных раком легкого / Р. Н. Белоногов, Н. М. Титова, Ю. А. Дыхно [и др.] // Сибир. онкол. журн. – 2009. – № 4 (34). – С. 48–51.
12. **Барсуков, В. Ю.** Характер изменения показателей коагуляционного гемостаза, активности перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крови у больных с отечно-инфильтративным раком молочной железы / В. Ю. Барсуков, В. Н. Плохов, О. Э. Лосев, Т. В. Гречишникова // Проблемы диагностики и лечения рака молочной железы : материалы первой международной онкологической конференции. – СПб., 2004. – С. 95–96.
13. **Зайчик, А. Ш.** Механизмы развития болезней и синдромов / А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов. – СПб. : ЭЛБИ, 2001. – Т. 3.
14. **Сейдалин, Н. К.** Ранняя диагностика и коррекция состояния тромбоопасности у больных раком молочной железы в условиях неoadъювантной полихимиотерапии по схеме CAF / Н. К. Сейдалин, С. В. Пушкарев, В. А. Лебедева [и др.] // Сибир. онкол. журн. – 2007. – № 3 (23). – С. 39–45.

Микуляк Надежда Ивановна

кандидат биологических наук, доцент,
заведующая кафедрой физиологии
человека, Медицинский институт,
Пензенский государственный
университет

E-mail: normphys@mail.ru

Mikulyak Nadezhda Ivanovna

Candidate of biological sciences,
associate professor, head of sub-department
of human physiology, Medical Institute,
Penza State University

УДК 612.1. 616-006-085

Микуляк, Н. И.

Фармакологическая коррекция оксидантного и метаболического статуса при цитостатической болезни, вызванной введением химиопрепаратов / Н. И. Микуляк // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2010. – № 4 (16). – С. 36–43.