

Изучение комбинированного применения противоопухолевой химиотерапии и препаратов антиоксидантного действия

профессор А.В. Зорькина, канд. мед. наук П.И. Скопин, профессор А.А. Усанова, Е.С. Маланжина, кафедра поликлинической терапии и функциональной диагностики с курсом эндокринологии медицинского института ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск

Studying of the combined application of antineoplastic chemotherapy and preparations antioxidant actions

A.V. Zorkina, P.I. Skopin, E.S. Malanjina

Резюме

На модели перевиваемого рака крыс РС-1 изучено комбинированное применение препаратов антиоксидантного действия – эмоксипина и α -токоферола ацетата с противоопухолевыми лекарственными средствами (циклофосфан, 5-фторурацил, рубомицин). Установлено, что в этих условиях происходило снижение показателей интоксикации, ограничение активности процессов перекисного окисления липидов в тканях печени и почек и степени лейкопении, а также рост содержания малонового диальдегида и угнетение антиокислительной активности ткани опухоли. Эмоксипин (17 мг/кг, 25 мг/кг) проявил противоопухолевый эффект в условиях роста холангиоцеллюлярного рака РС-1 в эксперименте и повысил индекс торможения роста опухоли циклофосфаном, 5-фторурацилом и рубомицином при комбинированном применении, в большей степени, чем α -токоферола ацетат в изомолярных дозах.

Ключевые слова: противоопухолевая химиотерапия, эмоксипин, перевиваемый холангиоцеллюлярный рак РС-1, перекисное окисление липидов.

Resume

Cancer chemotherapy is limited by its pro-oxidant toxicity. Because emoxipinum (3-oxy-6-metyl-2-etyl-piridin hydrochloridum) and alpha-tocopheryl acetate are broad spectrum antioxidants, we investigated their ability to control the oxidative damage induced by some antitumor drugs (cyclophosphamide, 5-fluorouracil, rubomycine). Studies were performed on rats with transplantable cholangiocellular RS-1 carcinoma. Biochemical methods were used for this investigation. The rats that were subjected to combination antioxidants and antitumor drug had normalized of lipid peroxidation in the liver and renal tissue compared the group only treated with antitumor drug. Also, emoxipinum inhibited chemotherapy-induced leucopenia. The activity of tumor antioxidative enzymes was significantly decreased and tumor malondialdehyde (MDA) level was increased in the study group compared to the group only treated with antitumor drug ($P < 0.01$). Emoxipinum (in doses 17 and 25 mg/kg) demonstrated antitumor efficacy in experiment and increased tumor control cyclophosphamide, 5-fluorouracil and ru-bomycine treatment, to a greater extent than α -tocopheryl acetate in isomolar doses.

Key words: anticancer chemotherapy, antioxidant drugs, transplantable cholangiocellular RS-1 carcinoma, lipid peroxidation.

Введение

Практически для каждого онкологического больного на определенном этапе его заболевания обсуждается вопрос о возможности использования противоопухолевой химиотерапии. При назначении противоопухолевых препаратов в организме больного образуются свободные радикалы, инактивируются ферменты, ответственные за антиоксидантную защиту, что усиливает интоксикацию, токсическое повреждение клеток внутренних органов и зачастую оказывается лимитирующим фактором для продолжения лечения [1,2], к тому же, важно учитывать, что химиотерапия проводится у больных в условиях уже активированных злокачественной опухолью процессов ПОЛ [3-5].

В литературе имеются многочисленные, но довольно противоречивые сведения относительно взаимодействия про-

тивоопухолевых препаратов и веществ с антиоксидантной активностью. Одни источники приводят сведения, что антиоксиданты улучшают переносимость химиотерапии и отдаленные результаты лечения [5-9], по другим антиоксиданты ингибируют противоопухолевый эффект химиопрепаратов [10]. Однако все эти исследования касаются применениянутрицевтиков с мягким антиоксидантным действием (β -каротин; витамины А, С, Е; селен; мелатонин, цистенин; витамины группы В; витамин D3; витамин К3; лютеин, коэнзим Q10).

Целью нашего исследования явилось изучить воздействие отечественного синтетического производного 3-окси-пиридина с мощным антиоксидантным действием – эмоксипина, применяемого на фоне моделирования курса противоопухолевой химиотерапии, на некоторые показатели эндотоксикоза и характеристики опухоли в условиях роста холангиоцеллюлярного рака РС-1

Материалы и методы

Для изучения возможности применения синтетических препаратов антиоксидантного действия на фоне противоопу-

Ответственный за ведение переписки:

Скопин П.И., Адрес раб.: 430032, респ. Мордовия

г. Саранск, ул. Ульянова, д.30,

тел. раб. 8(8342)330458 E-mail: skopinpi@mail.ru

холевой химиотерапии проведен эксперимент на 228 белых нелинейных крысах мужского пола с перевиваемой опухолью – холангиоцеллюлярный рак крыс РС-1 (НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН). Для проведения эксперимента использованы следующие фармакологические препараты: эмоксипин (ФГУП «Московский эндокринный завод») в ампулах по 1 мл 1% раствора, α -токоферола ацетат – 10% масляный раствор в ампулах (АО «АЙ СИ ЭН ОКТЯБРЬ» г. Санкт-Петербург).

Для моделирования курса противоопухолевой химиотерапии использованы препараты с разным механизмом противоопухолевого действия, наиболее широко применяемые в клинической практике: циклофосфан – противоопухолевый препарат из группы алкилирующих цитостатиков (ОАО «Биохимик», г. Саранск) во флаконах по 200 мг сухого вещества (растворялся в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида), в дозе 20 мг/кг, внутримышечно, через день N5; 5-фторурацил – цитостатический препарат из группы антиметаболитов нуклеинового обмена, по 10 мг/кг внутримышечно через день N5; рубомидин – противоопухолевый антрациклиновый антибиотик (ЗАО «Брындавал-А», г. Москва) во флаконах по 20 мг сухого вещества (растворялся в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида) в дозе 4 мг/кг внутрибрюшинно через день N4.

Всего проведено 20 опытных серий. Эмоксипин вводился в дозах 3,4 мг/кг, 6,8 мг/кг, 17 мг/кг, 25 мг/кг – условно соответствующих 1% от LD50, 2%, 5% и 8% от LD50. α -токоферола ацетат применялся в дозах 9,5 мг/кг, 19 мг/кг, 47,5 мг/кг, изомолярно соответствующих изучаемым дозам эмоксипина (3,4, 6,8 и 17 мг/кг). У трех групп моделировалась противоопухолевая химиотерапия циклофосфаном, 5-фторурацилом и рубомидином, а так же изучались комбинации этих цитостатиков с α -токоферола ацетатом в дозе 47,5 мг/кг и эмоксипином 17 и 25 мг/кг. Корригирующие препараты вводились с 21 по 35 сутки роста опухоли ежедневно; интактную группу составили 12 животных, животным контрольной группы вводился физраствор. Животных всех опытных серий забивали путем декапитации после внутрибрюшного введения раствора тиопентала натрия в дозе 50 мг/кг на 35 сутки после перевивки опухолевого штамма.

В плазме крови, эритроцитах, гомогенатах печени, почек, ткани сердца и кишечника, а также ткани опухоли определяли содержание вторичного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) и железом индуцированного МДА (Fe-МДА) (Конюхова С.Г., 1989), рассчитывали антиокислительную активность (АОА) (Клебанов Г.И., 1999), определяли активность ферментов антиокислительной защиты – каталазы (Королюк М.А., 1988) и супероксиддисмутазы (СОД) по методу С. Чевари (1990). Для оценки изменений в метаболическом звене гомеостаза определяли уровень креатинина, мочевины, активность АлТ и АсТ, содержание глюкозы, молекул средней массы (МСМ), общую (ОКА) и эффективную (ЭКА) концентрации альбумина. По полученным значениям ЭКА, ОКА и МСМ рассчитывали: резерв связанного альбумина (РСА), индекс токсичности (ИТ) и критерии интоксикации (КИ) (Трызунов Ю.А. и соавт., 1994). О проницаемости мембран эритроцитов судили по коэффициенту: каталаза эритроцитов / каталаза плаз-

мы. Производили общий анализ крови, рассчитывали индекс лейкоцитарной интоксикации (ИЛИ). Оценивали массу животных опухоле-носителей, массу и индекс массы опухоли (ИМО), рассчитанный как отношение массы опухоли к массе животного. Противоопухолевый эффект оценивали по индексу торможения роста опухоли (ИТРО).

Статистическую обработку проводили с использованием коэффициента достоверности Стьюдента (t). Изменения считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования: в условиях роста холангиоцеллюлярного рака РС-1 в организме животных происходило резкое усиление процессов ПОЛ на фоне выраженного истощения антиоксидантной защиты организма. У этих животных отмечалось повышение содержания вторичных продуктов ПОЛ – МДА и Fe-МДА, угнетение активности каталазы и СОД. Рост опухоли приводил к снижению ЭКА на 75% ($p < 0,001$), это сопровождалось снижением РСА на 64% ($p < 0,001$) и увеличением индекса токсичности в 5 раз ($p < 0,001$). Увеличение СОЭ произошло 4,6 раза ($p < 0,001$). В плазме крови выявлялось значительное увеличение содержания молекул средней массы, мочевины и креатинина, развивалась гипогликемия, анемия и лейкопения.

На фоне применения химиопрепаратов происходило торможение роста опухоли, так при введении циклофосфана ИТРО составил 40,2%, при использовании рубомидина ИТРО составил 33,5±7,05%. В условиях применения 5-фторурацила ИМО уменьшился на 45% ($p < 0,05$). В связи торможением роста опухоли под влиянием цитостатиков, в организме опухоленосителей несколько ограничивались показатели эндотоксикоза – наблюдалось снижение содержания МДА во внутренних органах, повышение РСА, снижался уровень гипогликемии, однако наблюдалось усугубление лейкопении, сохранялась угнетенность АОА в крови и внутренних органах.

При одновременном применении противоопухолевых химиопрепаратов и α -токоферола ацетата не происходило изменений весовых показателей опухоли по сравнению с животными, получавшими только цитостатик. В организме подопытных животных в основном сохранялись изменения процессов ПОЛ, вызванных введением противоопухолевых препаратов. Кроме того, в крови животных и в тканях внутренних органов происходило усиление активности каталазы, повышение АОА от уровня животных получавших монотерапию цитостатиками. В ткани опухоли применение циклофосфана с α -токоферола ацетатом проявилось ростом МДА на 36% ($p < 0,05$) от уровня животных, получавших монотерапию циклофосфаном. Кроме того, происходило снижение содержания в плазме крови МСМ, увеличение количества лейкоцитов и содержания гемоглобина к уровню животных, получавших монотерапию цитостатиками.

При комбинированном использовании противоопухолевых препаратов и эмоксипина отмечено усиление противоопухолевого эффекта цитостатиков. Это наблюдалось при введении эмоксипина в дозах – 17 и 25 мг/кг. Так, у животных получавших комбинацию циклофосфана и эмоксипина в дозе 17 мг/кг масса опухоли уменьшилась на 44% ($p < 0,01$) по сравнению с животными, получавшими только циклофосфан. Индекс массы опухоли в этой группе был на 73%

($p < 0,001$) ниже контрольного уровня, а индекс торможения роста опухоли составил 66,3%. Введение эмоксипина в дозе 17 мг/кг на фоне применения рубомицина способствовало снижению массы опухоли на 39%, и на 55% – при использовании эмоксипина в дозе 34 мг/кг, при этом индекс массы опухоли уменьшился на 50% и 63% соответственно в сравнении с группой животных, получавшей только рубомицин.

Дополнительное введение эмоксипина на фоне моделирования химиотерапии холангиоцеллюлярного рака оказывало выраженное дезинтоксикационное действие на организм животных опухоленосителей: происходило увеличение ОКА и ЭКА, снижение концентрации МСМ в плазме крови, уменьшение критериев гипоксикации, нормализация активности АлТ и АсТ, снижение содержания креатинина по отношению к уровню животных, получавших цитостатик в режиме монотерапии. Кроме этого, в крови животных этой опытной группы наблюдалось увеличение содержания лейкоцитов и концентрации гемоглобина по сравнению с животными, получавшими только противоопухолевую химиотерапию.

Комбинация циклофосфана с эмоксипином в дозах – 3,4 и 6,8 мг/кг вызывала умеренное ограничение процессов ПОЛ в организме опухоленосителя, с увеличением дозы эмоксипина до 17 мг/кг выраженность эффектов нарастала, и при использовании максимальной из изученных доз – 25 мг/кг наблюдался наибольший корригирующий эффект.

Так при использовании эмоксипина в дозе 25 мг/кг на фоне применения циклофосфана в плазме крови содержание МДА уменьшилось на 44% ($p < 0,001$), АОА увеличилась на 166% ($p < 0,001$), активность каталазы выросла на 45% ($p < 0,001$). В ткани печени на 41% ($p < 0,001$) уменьшилась концентрация МДА, и АОА увеличилась на 111% ($p < 0,001$). Активность СОД снизилась на 26% ($p < 0,05$), а активность каталазы выросла на 45% ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем животных, получавших монотерапию циклофосфаном. Сходные изменения наблюдались и в других внутренних органах, при комбинированном применении 5-фторурацила и эмоксипина 17 мг/кг МДА в почках снижался на 43% ($p < 0,001$) по сравнению с животными, получавшими только 5-фторура-

цил, а АОА выросла на 31% ($p < 0,01$).

Обращает внимание, что в ткани опухоли, комбинированное применение цитостатиков и эмоксипина проявлялось совершенно противоположным эффектом – активацией процессов ПОЛ. Дополнительное применение эмоксипина в дозе 25 мг/кг на фоне терапии 5-фторурацилом вызвало большую активацию процессов ПОЛ в опухолевой ткани, чем 5-фторурацил в виде монотерапии, что проявилось повышением концентрации МДА в ткани опухоли на 35% ($p < 0,01$). При сочетанном введении эмоксипина 25 мг/кг и циклофосфана со-держание МДА в ткани опухоли выросло на 92% ($p < 0,001$), а активность СОД упала на 44% ($p < 0,001$). Комбинированное применение рубомицина и эмоксипина в дозе 17 мг/кг в опухолевой ткани вызывало угнетение активности каталазы и СОД на 56% ($p < 0,005$) и 76% ($p < 0,05$) соответственно, снижало РЛПО на 15% ($p < 0,05$). Повышение дозы эмоксипина до 25 мг/кг еще больше угнетало активность ферментов антиоксидантной защиты, при этом содержание МДА увеличилось на 79% ($p < 0,05$), РЛПО уменьшился на 59% ($p < 0,001$), АОА снизилась на 33% ($p < 0,01$) в сравнении с группой, получавшей только рубомицин.

Выводы

Комбинированное применение эмоксипина (17 мг/кг, 25 мг/кг) при моделировании противоопухолевой химиотерапии на фоне роста холангиоцеллюлярного рака РС-1 приводит к более выраженному снижению показателей интоксикации, ограничению активности процессов перекисного окисления липидов в тканях печени и почек и степени лейкопении, а также к активации процессов перекисного окисления липидов и угнетению антиоксидантной активности ткани опухоли, чем при комбинированном применении цитостатиков и α -токоферола в изомолярных дозах. Эмоксипин (17 мг/кг, 25 мг/кг) проявляет противоопухолевый эффект в условиях роста холангиоцеллюлярного рака РС-1 в эксперименте и повышает индекс торможения роста опухоли циклофосфаном, 5-фторурацилом и рубомицином при комбинированном применении. ■

Литература:

1. Chen Y., Jungsuwadee P., Vore M. et al. Collateral damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in nontargeted tissues. *Mol. Interv.* – 2007. – Vol. 7, №3. – P. 147-156.
2. Pan H., Mukhopadhyay P., Rajesh M. et al. Cannabidiol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing oxidative/nitrosative stress, inflammation and cell death. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2008. – №12.
3. Chang D., Wang F., Zhao Y.S., Pan H.Z. Evaluation of oxidative stress in colorectal cancer patients // *Biomed. Environ. Sci.* – 2008. – Aug. Vol. 21, №4 – P. 286-289.
4. Looi M.L., Mohd Dali A.Z., Md Ali S.A. et al. Oxidative damage and antioxidant status in patients with cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma of the cervix. *Eur. J. Cancer Prev.* – 2008. – Nov. Vol. 17, №6. – P. 555-560.
5. Rajneesh C.P., Manimaran A., Sasikala K.R., Adaikappan P. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with breast cancer. *Singapore Med. J.* – 2008. – Aug. Vol. 49, №8. – P. 640-643.
6. Prasad K.N. Multiple dietary antioxidants enhance the efficacy of standard and experimental cancer therapies and decrease their toxicity. *Integr. Cancer Ther.* – 2004. – Dec. Vol. 3, №4. – P. 310-322.
7. Moss R.W. Should patients undergoing chemotherapy and radiotherapy be pre-scribed antioxidants? *Integr. Cancer Ther.* – 2006. – Mar. Vol. 5, №1. – P. 63-82.
8. Simone C.B. 2nd, Simone N.L., Simone V., Simone C.B. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Altern. Ther. Health Med.* – 2007. – Jan-Feb. Vol. 13, №1. – P. 22-28.
9. Block K.I., Koch A.C., Mead M.N., et al. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic toxicity: a systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Int. J. Cancer.* – 2008. – Sep. Vol. 15, №123(6). – P. 1227-39.
10. Lawenda B.D., Kelly K.M., Ladas E.J. et al. Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy? *J. Natl. Cancer Inst.* – 2008. – Jun. – Vol. 4, №100(11). – P. 773-783.