

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭМОКСИПИНА КАК ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЦИКЛОФОСФАНА У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМой ЛЕГКОГО ЛЬЮИС

СИПРОВ А.В.

ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», г. Саранск

АННОТАЦИЯ

В эксперименте на мышах с карциномой легкого Льюис изучена эффективность применения эмоксипина в качестве гепатопротектора при цитотоксическом действии циклофосфана. Установлено, что эмоксипин проявлял существенный гепатопротекторный эффект при опухолевом процессе и химиотерапии циклофосфаном. При этом противоопухолевая эффективность цитостатика не изменялась, а антиметастатический эффект при комбинированном использовании циклофосфана и эмоксипина превышал таковой при введении цитостатика в монорежиме.

Ключевые слова: эмоксипин, циклофосфан, гепатопротекторный эффект, противоопухолевый эффект, метастазирование.

ВВЕДЕНИЕ

Химиотерапия является одним из основных методов лечения злокачественных новообразований, наряду с хирургическим и лучевым. Однако высокая токсичность противоопухолевых препаратов лимитирует эффективность проводимого лечения. Уменьшение побочных эффектов цитостатиков без ослабления их противоопухолевой активности остается актуальной задачей, решение которой позволит существенно улучшить качество жизни больных [1].

Одним из осложнений является гепатотоксичность химиотерапии, приводящая к уменьшению противоопухолевого действия и увеличению токсичности препаратов, метаболизирующихся в печени [2]. При этом нарушения функции печени, не будучи откорректированными, способствуют возникновению всего спектра побочных эффектов химиотерапии. Проявления гепатотоксичности противоопухолевых препаратов во многих случаях занимают ведущее место среди их побочных эффектов [3]. В связи с этим очевидными являются необходимость и своевременность коррекции токсических поражений печени, вызванных цитостатиками в процессе химиотерапии. В этом отношении особый интерес представляют антиоксиданты, так как в большинстве случаев основной причиной развития токсической гепатопатии является инициация противоопухолевыми агентами процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гепатоцитах.

Целью работы явились изучение эффективности применения эмоксипина в качестве гепатопротектора с исследованием его влияния на параметры перекисного окисления липидов и морфофункциональные изменения в печени у мышей с карциномой легкого Льюис (LLC) при использовании циклофосфана (ЦФ), оценка влияния эмоксипина на противоопухолевый и антиметастатический эффекты данного цитостатика.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 80 мышах-самках линии C57Bl/6 массой 18-20 г разведения питомника ГУ НЦБМТ РАМН «Столбовая». Суспензию клеток карциномы легкого Льюис (10^6 клеток в растворе Хенкса) перевивали внутримышечно в область бедра. В каждую группу входило по 12-15 голов мышей. Схема эксперимента представлена в табл. 1.

Таблица 1.

Схема эксперимента по изучению влияния эмоксипина на параметры перекисного окисления липидов и морфофункциональные изменения в печени у мышей с LLC при химиотерапии циклофосфаном.

Экспериментальные группы	Условное обозначение	Схема введения препаратов групп
Интактный контроль	(ИК)	Препараты не вводили и опухолевые клетки LLC не перевивали
I-опухолевый штамм LLC	(LLC)	1×10^6 опухолевых клеток LLC внутримышечно
II-LLC, циклофосфан	(LLC+ЦФ)	1×10^6 опухолевых клеток LLC внутримышечно, циклофосфан внутривенно, 2 раза с интервалом 96 часов, в дозе 100 мг/кг, начиная с 7-х суток после имплантации опухолевых клеток
II-LLC, циклофосфан, эмоксипин 12,5 мг/кг	(LLC+ЦФ+ЭМ 12,5)	так же, как и во II гр., эмоксипин ежедневно, внутримышечно, в дозе 12,5 мг/кг, начиная с 7-х суток после имплантации опухолевых клеток в течение 14 дней
IV - LLC, циклофосфан, эмоксипин 25 мг/кг	(LLC+ЦФ+ЭМ 25)	так же, как и во II гр., эмоксипин ежедневно, внутримышечно, в дозе 25 мг/кг, начиная с 7-х суток в течение 14 дней
V - LLC, циклофосфан, α -токоферол	(LLC+ЦФ+ α -ТОК)	так же, как и во II гр., α -токоферол ежедневно, внутримышечно, в дозе 50 мг/кг, начиная с 7-х суток в течение 14 дней

В качестве препарата сравнения для эмоксипина служил α -токоферол как известный антиоксидант, который вводился внутримышечно в дозе 50 мг/кг. Эмоксипин использовался в двух дозах для выявления дозозависимого эффекта – 12,5 и 25 мг/кг.

На 22-е сутки после трансплантации опухолевых клеток животные подвергались эвтаназии под эфирным наркозом. Материалами исследования явились кровь и ткани (печень, первичный опухолевый узел, легкие) мышей.

В сыворотке крови определяли концентрацию общего белка, альбуминов, активность аланиновой и аспарагиновой трансаминаз (АЛТ и АСТ). В гомогенатах ткани печени определяли содержание малонового диальдегида (МДА), Fe-МДА, активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД).

Гистологическую структуру печени исследовали светооптическим методом. Для этого кусочки органов после стандартной гистологической обработки заливали в парафин. Срезы толщиной 4-5 мкм изучали микроскопически.

Эффективность лечения оценивали по индексу торможению роста опухоли (ИТРО), который рассчитывали в конце эксперимента по массе опухоли. Антиметастатический эффект оценивали по среднему числу поверхностных метастазов в легких на одно животное. При статистической обработке результатов исследования использовали критерии t Стьюдента и χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 22-е сутки эксперимента в печени у животных I группы (LLC) отмечалась значительная интенсификация процессов ПОЛ, о чем свидетельствовали увеличение уровня МДА в 2,1 раза и Fe-МДА в 2,7 раза по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$), при этом, возможно компенсаторно, повышалась и активность каталазы в 4,19 раза, однако активность СОД не изменялась (табл. 2).

Таблица 2.

Влияние эмоксипина на динамику МДА, Fe-МДА, каталазы и СОД в печени экспериментальных мышей на фоне введения циклофосфана.

Группы животных	Показатели			
	МДА, мкмоль/л	Fe-МДА, мкмоль/л	Каталаза, мкат/л	СОД, ЕА/г. ткани
Интактные	8,67±0,96	8,82±1,63	0,186±0,02	39,4±2,9
LLC	18,43±0,93 $p_1 < 0,05$	23,9±2,3 $p_1 < 0,05$	0,78±0,03 $p_1 < 0,05$	35,87±0,5
LLC+ЦФ	5,19±0,62 $p_{1,2} < 0,05$	3,7±0,52 $p_{1,2} < 0,05$	0,44±0,02 $p_{1,2} < 0,05$	20,0±1,15 $p_{1,2} < 0,05$
LLC+ЦФ+ЭМ12,5	8,1±1,06 $p_{2,3} < 0,05$	15,8±1,46 $p_{1,2,3} < 0,05$	0,365±0,04 $p_{1,2} < 0,05$	25,0±1,43 $p_{1,2,3} < 0,05$
LLC+ЦФ+ЭМ25	5,12±0,43 $p_{1,2} < 0,05$	7,6±0,59 $p_{2,3} < 0,05$	0,865±0,04 $p_{1,3} < 0,05$	30,99±1,02 $p_{1,2,3} < 0,05$
LLC+ЦФ+α-ТОК	7,33±0,85 $p_2 < 0,05$	17,1±1,23 $p_{1,2,3,5} < 0,05$	0,47±0,03 $p_{1,2,5} < 0,05$	31,3±1,87 $p_{1,2,3,4} < 0,05$

Примечание: достоверность различий p_1 рассчитана по отношению к интактной группе; p_2 – к группе I (LLC); p_3 – к группе II (LLC+ЦФ); p_4 – к группе III (LLC+ЦФ+ЭМ 12,5); p_5 – к группе IV (LLC+ЦФ+ЭМ 25).

На фоне монотерапии циклофосфаном уровень МДА и Fe-МДА в печени резко снижался и был достоверно ниже, чем у здоровых животных в 1,7 и 2,38 раза соответственно. Активность каталазы снижалась в 1,77 раза по сравнению с I группой животных, однако была достоверно выше этого показателя в интактной группе в 2,36 раза. Активность СОД снижалась в 1,97 раза по сравнению с интактными животными (табл. 2).

В группе с сочетанной терапией ЦФ и эмоксипина в дозе 12,5 мг/кг уровень МДА в печени восстанавливался до интактного, а Fe-МДА в 1,79 раза превышал данный показатель у здоровых животных, активность каталазы не отличалась от II группы (LLC+ЦФ), а активность СОД была в 1,25 раза выше, чем в группе с монотерапией ЦФ ($p < 0,05$), но достоверно ниже исходного значения. При совместном введении ЦФ и эмоксипина в дозе 25 мг/кг концентрация МДА в печени сохранялась низкой и не отличалась от II группы, а содержание Fe-МДА не отличалось от интактного уровня и было в 2 раза выше, чем во II группе. Активность каталазы превышала таковую во II группе в 1,96 раза, а активность СОД возрастала по сравнению с группой с введением ЦФ в монорежиме в 1,55 раза, но была ниже, чем у интактных животных (табл. 2).

При комбинированном применении ЦФ и α-токоферола содержание МДА не отличалось от такового во II группе, концентрация Fe-МДА превышала таковую у интактных в 1,94 раза, активность каталазы не отличалась, а активность СОД повышалась в 1,56 раза по сравнению со II группой. При этом активность СОД была достоверно ниже исходной.

У животных-опухоленосителей I группы (LLC) отмечалось снижение содержания общего белка и альбуминов в сыворотке крови на 21,6% и 30,88% соответственно по отношению к интактным животным (табл. 3).

Таблица 3.

Влияние эмоксипина на содержание общего белка, альбуминов, активность АЛТ и АСТ в сыворотке крови мышей с LLC при введении циклофосфана.

Группы животных	Показатели			
	Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	АЛТ, ммоль/л	АСТ, ммоль/л
Интактные	47,33±1,41	30,8±1,93	1,07±0,05	0,88±0,09
LLC	37,11±1,09 $p_1 < 0,05$	21,29±1,02 $p_1 < 0,05$	1,74±0,14 $p_1 < 0,05$	1,5±0,06 $p_1 < 0,05$
LLC+ЦФ	38,6±1,95 $p_1 < 0,05$	23,48±1,8 $p_1 < 0,05$	2,03±0,2 $p_1 < 0,05$	1,54±0,07 $p_1 < 0,05$
LLC+ЦФ+ЭМ12,5	45,3±2,4 $p_{2,3} < 0,05$	19,99±0,41 $p_1 < 0,05$	1,23±0,17 $p_{2,3} < 0,05$	1,07±0,07 $p_{2,3} < 0,05$
LLC+ЦФ+ЭМ25	42,5±1,75 $p_2 < 0,05$	22,1±0,97 $p_1 < 0,05$	1,28±0,12 $p_{2,3} < 0,05$	1,2±0,16 $p_{1,2,3} < 0,05$
LLC+ЦФ+α-ТОК	37,78±1,08 $p_{1,4,5} < 0,05$	23,09±0,93 $p_{1,4} < 0,05$	1,53±0,11 $p_1 < 0,05$	1,35±0,05 $p_{1,4} < 0,05$

Примечание: достоверность различий p_1 рассчитана по отношению к интактной группе; p_2 – к группе I (LLC); p_3 – к группе II (LLC+ЦФ); p_4 – к группе III (LLC+ЦФ+ЭМ 12,5); p_5 – к группе IV (LLC+ЦФ+ЭМ 25).

В группе с введением ЦФ в монорежиме показатели общего белка и альбуминов сохранялись на уровне таковых I группы. При сочетанном введении ЦФ и эмоксипина в дозе 12,5 мг/кг уровень общего белка достоверно увеличивался на 17,4% при отсутствии различий в содержании альбуминов по сравнению с группой с введением одного ЦФ. В IV группе (LLC+ЦФ+ЭМ 25) содержание общего белка и альбуминов не отличалось от таковых II группы (LLC+ЦФ, табл. 3), α-токоферол тоже не препятствовал снижению содержания общего белка и альбуминов при опухолевом росте и введении ЦФ. Активность АЛТ и АСТ у животных I группы (LLC) возрастала в 1,6 и 1,7 раза соответственно по сравнению с интактными ($p < 0,05$). У животных, получавших один ЦФ, активность АЛТ и АСТ не отличалась от соответствующих показателей в I группе и была достоверно выше в 1,9 и 1,75 раза по отношению к интактным (табл. 3).

Эмоксипин в дозе 12,5 мг/кг препятствовал развитию гиперферментемии: активность АЛТ и АСТ достоверно снижалась на 39,4 и 30,5% соответственно по сравнению со II группой (LLC+ЦФ) и не отличалась от таковых показателей в группе интактных животных. Эмоксипин в дозе 25 мг/кг также препятствовал росту активности АЛТ, снижая ее на 36,6% по сравнению с группой с монотерапией ЦФ ($p < 0,05$), однако не корректировал активность АСТ (табл. 3), α-токоферол не препятствовал развитию гиперферментемии.

Морфологическая картина печени у животных с LLC без лечения характеризовалась по сравнению с печенью здоровых животных появлением клеточной инфильтрации перипортальных трактов и синусои-

дов (в основном лимфоидными элементами), в отдельных полях зрения встречались мостовидные некрозы гепатоцитов.

Монотерапия ЦФ приводила к усугублению дистрофических и структурных изменений в печени: по сравнению с нелечеными животными нарастали дистрофические изменения в гепатоцитах (цитоплазма их пенистая, разряжена, ядра с крупными ядрышками). Перипортальные тракты обильно инфильтрированы полиморфноядерными клеточными элементами. Увеличивалось количество мостовидных некрозов.

Эмоксипин в дозе 12,5 мг/кг оказывал гепатопротекторное действие, что проявлялось выраженным уменьшением инфильтрации перипортальных трактов, отсутствием некрозов. Морфологическая картина печени при введении эмоксипина в дозе 25 мг/кг идентична таковой при введении эмоксипина в дозе 12,5 мг/кг. На фоне α -токоферола сохранялись выраженные дистрофические и структурные изменения в печени, но уменьшалась инфильтрация перипортальных трактов по сравнению с монотерапией ЦФ.

Исследование противоопухолевого эффекта от сочетанного воздействия ЦФ и эмоксипина показало, что в группах с комбинированным лечением индекс торможения роста первичного опухолевого узла (ИТРО) не отличался от такового показателя в группе с введением ЦФ в монорежиме (табл. 4).

Таблица 4.

Влияние сочетанного применения циклофосфана и эмоксипина на рост и метастазирование карциномы легкого Льюис у мышей.

Группы животных	ИТРО, % 22-е сутки	Масса опухоли на 22-е сутки, г	Процент животных с метастазами	Среднее число метастазов
LLC	–	9,18±0,2	100	95,7±8,2
LLC+ЦФ	29,7 $p_1 < 0,05$	6,45±0,18 $p_1 < 0,05$	100	5,0±1,2 $p_1 < 0,05$
LLC+ЦФ+ЭМ 12,5	23,5 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	7,02±0,21 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	42,8 $p_{1,2} < 0,05$	0,6±0,3 $p_{1,2} < 0,05$
LLC+ЦФ+ЭМ 25	23,7 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	7,0±0,22 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	50 $p_{1,2,3} > 0,05$	1,0±0,5 $p_{1,2} < 0,05$ $p_3 > 0,05$
LLC+ЦФ+ α -ТОК	24,5 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	6,93±0,2 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	100 $p_3 < 0,05$	5,2±1,2 $p_{1,3,4} < 0,05$

Примечание: достоверность различий p_1 рассчитана по отношению к группе I (LLC); p_2 – к группе II (LLC+ЦФ); p_3 – к группе III (LLC+ЦФ+ЭМ 12,5); p_4 – к группе IV (LLC+ЦФ+ЭМ 25).

В группе мышей, получавших только ЦФ, значительно снижалась интенсивность метастазирования. У мышей, получавших ЦФ в сочетании с эмоксипином в дозах 12,5 и 25 мг/кг, отмечалось достоверное уменьшение интенсивности метастазирования по сравнению с группой с монотерапией ЦФ. При этом в группе с эмоксипином в дозе 12,5 мг/кг статистически значимо снижалась и частота метастазирования (табл. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эмоксипин оказывает гепатопротекторное действие при опухолевом процессе и в условиях химиотерапии ЦФ, более выраженное в дозе 12,5 мг/кг: корректирует изменения ПОЛ в печени, оказывая модулирующее влияние на уровень МДА, каталазы и СОД, предупреждает развитие синдрома цитолиза, улучшает морфологическую картину печени. Противоопухолевая эффективность цитостатика при этом не изменяется, а антиметастатический эффект при комбинированном применении ЦФ и эмоксипина в обеих исследуемых дозах превышает таковой в группе с монотерапией ЦФ, α -токоферол уступает по гепатопротекторной активности эмоксипину.

ЛИТЕРАТУРА

1. Муфазалова Н.А., Трещалин И.Д., Трещалина Е.М. и др. // Бюл. экспер. биол. и мед. – 2004. – Т. 137, № 1. – С. 45-47.
2. Городецкий В.М. // Гематол. и трансфузиол. – 1998. – № 1. – С. 11-15.
3. Кинзирская Ю.А., Богуш Т.А., Остапчук Н.В., Фисенко В.П. // Клин. медицина. – 2003. – № 10. – С. 11-16.

РЕЗЮМЕ

Показано, что в эксперименте на мышях с карциномой легкого Льюис эмоксипин оказывал гепатопротекторное действие при опухолевом процессе и химиотерапии циклофосфаном, препятствуя изменению свободнорадикальных процессов в печени и развитию синдрома цитолиза, α -токоферол уступал по гепатопротекторной активности эмоксипину.

Сочетанное применение эмоксипина и циклофосфана не снижало противоопухолевой эффективности цитостатика в отношении первичного опухолевого узла, но оказалось более эффективным в предупреждении развития метастазов по сравнению с терапией одним циклофосфаном.

ABSTRACT

Emoxipin is shown to have rendered hepatoprotective action at the tumoral processes and cyclophosphamide treatment, prevented both changes of free-radical processes in the liver and development of cytolysis syndrome in mice with Lewis lung carcinoma. α -tocopherol yielded to emoxipin with respect to hepatoprotective action. A combined application of emoxipin and cyclophosphamide did not change cytostatic antitumor efficacy but proved more effective in prevention of metastasis development than the use of cyclophosphamide alone.