

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ДОКСОРУБИЦИНА И МЕКСИДОЛА

Н. И. Микуляк, Ю. А. Кинзирская

Медицинский институт Пензенского государственного университета

Экспериментально изучено влияние производного 3-оксипиридина мексидола на перекисное окисление липидов (ПОЛ) животных при химиотерапии доксорубицином. Показано, что исследуемый препарат устраняет индуцированное доксорубицином ПОЛ, снижает уровень малонового диальдегида (МДА), повышает активность ферментов антиоксидантной защиты как в сыворотке крови, так и в тканях и в эритроцитах. Последнее предопределяет целесообразность использования мексидола в комплексной терапии при активации процессов липопероксидации.

Ключевые слова: мексидол, доксорубицин, липопероксидация, малоновый диальдегид (МДА), ферменты антиоксидантной защиты.

EXPERIMENTAL STUDY OF LIPID PEROXIDATION IN COMBINATION OF DOXORUBICIN AND MEXIDOL

N. I. Miculyak, U. A. Kinzirskaya

The influence of a derivative of 3-oxyperidine of mexidol on animal lipid peroxidation in chemotherapy with doxorybicin was studied. It is shown that mexidol eliminates induced lipid peroxidation by doxorybicin, decreases the MDA lever, increases enzymatic activity of antioxidative protection both in the blood and in tissues and erythrocytes. This substantiates the use of mexidol in complex tumor treatment with lipid peroxidation activation by chemotherapy.

Key words: mexidol, doxorubicin, lipid peroxidation, MDA, antioxidative enzymes.

Учитывая современные тенденции развития химиотерапевтического метода лечения злокачественных опухолей, заключающиеся в использовании высоких доз противоопухолевых средств, приходится говорить о возросшем влиянии токсических реакций, таких как гепатотоксичность и кардиотоксичность, что наиболее часто встречается при использовании антибиотиков на течение, прогноз и эффективность лечения злокачественных новообразований [2, 7, 10].

В связи с этим одной из важнейших проблем экспериментальной и клинической фармакологии является разработка новых фармакотерапевтических подходов к повышению терапевтической эффективности лекарственного метода лечения злокачественных опухолей.

Принимая во внимание, что в большинстве случаев основной причиной развития кардиотоксичности и токсической гепатопатии антрациклиновых антибиотиков является инициация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3, 5, 6, 8], представляется вполне оправданным использование мексидола — антиоксиданта производного 3-оксипиридина с целью коррекции индуцированных токсических проявлений и повышения эффективности химиотерапии опухолей. Мексидол относится к мембраноактивным антиоксидантам и проявляет способность ингибировать перекисное окисление липидов биомембран и модифицировать их функциональную активность [1, 4, 9].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Учитывая роль ПОЛ в генезе опухолевого процесса, при воздействии ионизирующего излучения и цито-

статических средств, а также принимая во внимание установленный ранее другими авторами антиоксидантный эффект мексидола, нам представлялось целесообразным изучить отдельные показатели ПОЛ у экспериментальных животных при комбинированном и раздельном применении доксорубицина с мексидолом.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было выполнено на 26 аутбредных мышах-самцах, массой 20—25 г, на 26 крысах с перевитой карциносаркомой Уокера-256 (W-256) и на 30 кроликах-самцах породы шиншилла, массой 2,5—3 кг. Взвесь опухолевых клеток W-256 трансплантировали крысам под кожу хвоста в количестве 1×10^6 клеток. Доксорубицин мышам и крысам вводили 3-кратно, внутрибрюшинно (в/б), в дозе 5 мг/кг, 1 раз в неделю, мексидол в/б в дозе 5 мг/кг в течение 3 недель. Контрольной группе животных ($n = 10$) препараты не вводились. В опытных группах ($n = 8$) животных забивали через 24 часа после последнего введения. Доксорубицин кроликам вводили внутривенно в разовой дозе 30 мг/м², трехкратно на 7-е сутки. На курс использовали 90 мг/м². Мексидол вводили внутривенно по 5 мг/кг через день в течение 29 суток. Применяли доксорубицин АО «Ферейн», Москва. Раствор мексидола использовали в виде 5%-го раствора по 2 мл в ампулах экспериментального производства медико-биологических препаратов Российского кардиологического научно-производственного комплекса Министерства здравоохранения РФ (Москва).

Для диагностики липоперекисной патологии и оценки эффективности проводимого лечения определяли следующие показатели ПОЛ: малоновый диальдегид (МДА), Fe-МДА — вторичные продукты ПОЛ, каталазу, глутатионпероксидазу и супероксиддисмутазу — ферменты антиокислительной защиты. МДА, Fe-МДА определяли по методу Конюховой С. Г. с соавт. (1989), каталазу — по методу Королюк М. А. с соавт. (1988), для определения глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы использовали набор Randox по определению общего содержания антиоксидантов.

Статистическую обработку результатов экспериментальных исследований проводили с помощью t-критерия Стьюдента (Гельман В. Я., 2002) на персональном компьютере IBM PC/Pentium с использованием программы «Microsoft Excel». Степень достоверности различий показателей определяли в каждой серии по отношению к интактным животным (P_0). Находили достоверность различий показателей в сериях цитостатической терапии с коррекцией и без коррекции (P_1, P_2). Явления считали достоверным при P менее 0,05 (0,01; 0,001).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения отдельных показателей ПОЛ подопытных животных при введении доксорубина и коррекцией мексидолом сведены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели ПОЛ в экстракте печени, плазме крови, эритроцитах животных при введении доксорубина и мексидола ($M \pm m$), мкМ

Группы	Печень		Плазма		Эритроциты	
	МДА	Fe-МДА	МДА	Fe-МДА	МДА	Fe-МДА
I ИК	10,83 ± 1,43	19,03 ± 1,15	3,09 ± 0,49	14,83 ± 0,40	29,32 ± 3,15	35,83 ± 1,29
II ДР	17,84 ± 1,40	28,44 ± 0,85	3,95 ± 0,61	16,44 ± 0,85	25,56 ± 2,28	36,44 ± 2,85
	$p_0 < 0,05$	$p_0 < 0,001$		$p_0 < 0,05$		
III МД+ ДР	9,29 ± 0,85	20,85 ± 1,55	3,12 ± 0,35	13,89 ± 0,27	26,82 ± 2,25	34,45 ± 1,25
	$p_1 < 0,05$	p_1		$p_1 < 0,05$		

Примечание. Здесь и далее: p_0 — достоверность различий по отношению к данным интактных животных, P_1 — достоверность различий по отношению к данным животных, получавших доксорубин.

У животных опытных групп, получавших доксорубин, увеличивается содержание малонового диальдегида и Fe-МДА в экстракте печени. Максимальное значение этого увеличения для МДА составило 64 %, Fe-МДА — 49 % при воздействии доксорубина. Повышение содержания продуктов перекисного окисления липидов в экстракте печени экспериментальных животных, получавших противоопухолевый антибиотик

доксорубин, свидетельствует об интенсивности ПОЛ на фоне применения цитостатиков и повышения функциональной активности других компонентов антиоксидантной системы (АОС). При совместном применении доксорубина с мексидолом (III группа) содержание МДА в экстракте печени экспериментальных животных снижалось на 47,93 % и Fe-МДА — на 26,69 % относительно показателя при введении антибиотика, но достоверных различий относительно уровня интактных животных не наблюдалось. Для нас представляло интерес определение содержания МДА и Fe-МДА в крови (в плазме и эритроцитах) экспериментальных животных. Из табл. 1 видно, у животных опытных групп, получавших цитостатик, регистрируется увеличение содержания малонового диальдегида в плазме крови экспериментальных животных, но достоверно значимые различия МДА не выявлены, Fe-МДА увеличивался на 10,9 % ($p_0 < 0,05$). При совместном применении противоопухолевого препарата с мексидолом (III группа) содержание МДА и Fe-МДА в плазме крови экспериментальных животных соответствовало уровню интактных животных. При определении МДА и Fe-МДА в эритроцитах экспериментальных животных нам также не удалось выявить существенных различий в содержании МДА и Fe-МДА в контрольной и опытных группах.

Изучение активности каталазы в печени, плазме и эритроцитах экспериментальных животных (табл. 2) позволило выявить снижение активности фермента в печени и плазме крови, но статистически значимые различия установлены только в плазме крови.

Таблица 2

Показатели активности каталазы при введении экспериментальным животным доксорубина и мексидола ($M \pm m$), мкКат/л

Экспериментальные группы	Среда		
	Печень	Плазма	Эритроциты
I — интактный контроль	1,59 ± 0,49	0,13 ± 0,01	3,05 ± 0,03
II — доксорубин	1,35 ± 0,29	0,07 ± 0,03	3,14 ± 0,05
		$p_0 < 0,001$	
III — доксорубин, мексидол	1,59 ± 0,25	0,11 ± 0,02	3,12 ± 0,08

Совместное применение противоопухолевого препарата с мексидолом приводило к повышению показателей активности каталазы относительно показателя при применении доксорубина без коррекции.

Изучение ПОЛ и антиоксидантной активности плазмы при опухолевом росте (табл. 3) показали достоверное увеличение МДА относительно интактных животных, повышение Fe-МДА и каталазы. Мексидол в исследуемой дозе снижал уровень МДА на 39,4 % относительно показателя при опухолевом росте и доксорубине, но не снижал относительно контроля. Fe-МДА и каталаза достоверно не отличались от I и II групп.

Таблица 3

Влияние мексидола на уровень МДА, Fe-МДА и каталазы в сыворотке крови крыс с W-256 при введении мексидола

Группы	МДА	%	Fe-МДА	%	Ката-лаза	%
I ИК	4,90 ± 0,77		8,47 ± 0,60		0,23 ± 0,03	
II W-256 + ДР	8,04 ± 1,29 <i>p₀</i> < 0,001	+64	9,50 ± 0,59	+12,2	0,27 ± 0,04	+17,4
III W-256 +М	4,87 ± 0,55 <i>p₁</i> < 0,001	-0,6 -39,4	8,85 ± 0,50	+4,5 -6,85	0,32 ± 0,09	+39,1 +18,5

Изучение активности ферментного звена антиоксидантной системы крови при химиотерапии у кроликов в динамике показало, что доксорубин вызывает стойкую нестабильность антиоксидантной системы как во время введения препарата, так и в отдаленном периоде (табл. 4).

Мексидол в дозе 5 мг/кг через день в течение 3 недель приводил к достоверному снижению уровня МДА в сыворотке крови животных относительно доксорубина и на 29-е сутки относительно контроля. Активность каталазы при введении мексидола достоверно сохранялась на более высоких показателях в течение всего периода исследования относительно контроля и относительно доксорубина. К 29-м суткам активность каталазы была выше на 39,2 % относительно контроля и на 7,5 % относительно доксорубина. Глутатионпероксидаза под прикрытием мексидола сохранялась на уровне контроля в течение всего периода исследования, но превышала соответствующие показатели при введении доксорубина без коррекции. СОД имела тенденцию к активации по отношению к показателям при введении доксорубина без коррекции с первых дней введения, но в течение длительного периода сохранялась ближе к уровню контроля. На 29-е сутки СОД была выше контроля на 22,6 % и на 37,6 % относительно доксорубина.

Таблица 4

Показатели активности ПОЛ при введении экспериментальным животным доксорубина и мексидола в динамике (M ± m)

Показатели	Контроль	8-е сутки	15-е сутки	22-е сутки	29-е сутки
МДА мкмоль/л	7,35 ± 0,21	8,55 ± 0,13 [#]	7,50 ± 0,14 [*]	7,29 ± 0,23	6,35 ± 0,15 ^{**}
	Д 7,35 ± 0,21	8,61 ± 0,09	7,95 ± 0,16	7,71 ± 1,14	7,24 ± 0,11
Каталаза мм/м. л.	88,00 ± 4,53	105,16 ± 1,74	105,14 ± 2,10 ^{**}	110,47 ± 2,94 [#]	115,40 ± 3,13 ^{**}
	Д 99,50 ± 6,25	109,20 ± 5,29	91,1 ± 5,4	91,5 ± 7,4	90,40 ± 1,95
Глутатион пероксидаза е/чНв	95,53 ± 3,10	100,39 ± 2,37	102,74 ± 2,85 [*]	104,85 ± 3,50 [*]	111,20 ± 3,25 [*]
	Д 105,90 ± 2,14	99,8 ± 3,0	98,70 ± 2,28	98,40 ± 3,26	97,40 ± 0,83 [*]
СОД е/мл. кр.	300,3 ± 16,5	300,90 ± 6,78	308,60 ± 4,52 [*]	309,70 ± 16,49 [*]	330,4 ± 17,1 ^{**}
	Д 312,5 ± 6,9	308,10 ± 13,84	287,5 ± 15,4	246,70 ± 9,38	240,01 ± 9,08

**p₀*, [#]*p₁* — достоверность различий по отношению к данным интактных животных; ^{*}*P₁* — достоверность различий по отношению к данным животных, получавших доксорубин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование мексидола в качестве модификатора доксорубиновой окислительной стресс-реакции приводит в соответствие скорость окисления липидов с активностью ферментативного резерва антиоксидантной системы, особенно при длительных курсах коррекции, что доказано экспериментально на различных животных с прививаемыми опухолями и с химиотерапией на животных без опухолевого роста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Апшаева Н. В. Сравнительная оценка гепатопротекторной активности димефосфона, мексидола и токоферола ацетата при токсическом поражении печени: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Кулава, 2001. — 15 с.
2. Богуш Т. А. и др. // Вестник РАМН. — 2002. — № 1. — С. 37—41.
3. Гершанович М. Л. Кардиосан: профилактика кардиотоксичности антрациклинов. — СПб., 2004. — 24 с.
4. Горенкова Н. А. и др. // Анестезиология и реаниматология. — 2002. — № 6. — С. 63—66.

5. Донскова Ю. С. и др. // Анестезиология и реаниматология. — 2004. — № 3. — С. 67—70.
6. Киреев Г. В. и др. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2004. — № 12. — С. 20—34.
7. Сафонова С. А. // Вопросы онкологии. — 2006. — Т. 52, № 5. — С. 590-592.
8. Сипров А. В. Фармакологическая коррекция побочных эффектов некоторых противоопухолевых средств препаратами с антиоксидантным типом действия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Саранск, 2004. — 16 с.
9. Хафизьянова Р. Х. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2007. — № 4. — С. 423—426.
10. Lipshultz S. L., Colan S. D., et al. // Proc. ASCO. — 2002. — Abstr. 390.

Контактная информация

Микуляк Надежда Ивановна — к. б. н., доцент, зав. кафедрой физиологии человека Медицинского института Пензенского государственного университета, e-mail: normphys@mail.ru.