

Изучение влияния препаратов антиоксидантного действия на физиологические реакции животных, получающих противоопухолевую химиотерапию

П.И. Скопин, А.В. Зорькина, М.Т. Кулаев, А.А. Пешев

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Саранск

Контактная информация: к.м.н., доцент Скопин Павел Игоревич skopinpi@mail.ru

В эксперименте на крысах с перевиваемой холангиоцеллюлярной карциномой РС-1, которым моделировалась химиотерапия доксорубицином (1 мг/кг внутривенно N3), изучено стресс-протекторное действие 3-окси-6-метил-2-этил-пиридина сукцината (25 мг/кг в/м N12) и 3-окси-6-метил-2-этил-пиридина гидрохлорида (17 мг/кг в/м N12). Для оценки эмоционально-поведенческих реакций использованы методика «приподнятого крестообразного лабиринта» в сочетании с традиционной методикой оценки двигательной активности и эмоционального состояния экспериментальных животных в тесте «открытое поле». Выявлено развитие тревожно-фобического состояния у крыс контрольной группы с холангиоцеллюлярной карциномой и усугубление депрессивноподобных расстройств на фоне химиотерапии, несмотря на торможение роста опухоли. По сравнению с группой монотерапии доксорубицином, крысы, получавшие антиоксидантную коррекцию, значительно больше времени проводили на открытых участках лабиринта и активнее вели себя в «открытом поле».

Ключевые слова: противоопухолевая химиотерапия, мексидол, перевиваемая холангиоцеллюлярная карцинома РС-1, тревожность, депрессия.

Современная интенсивная противоопухолевая химиотерапия сопровождается многочисленными побочными эффектами и ухудшает качество жизни пациентов. Образующиеся на фоне противоопухолевой химиотерапии в организме больного свободные радикалы и инактивация ферментов антиоксидантной защиты усиливают интоксикацию, вызывают токсическое повреждение клеток внутренних органов и зачастую оказываются лимитирующим фактором для продолжения лечения [1-3]. Применение веществ с антиоксидантной активностью, по данным многих авторов, улучшает переносимость противоопухолевой лучевой химиотерапии и результаты лечения [4-6].

Отечественный лекарственный препарат этилметилгидроксипиридина сукцинат, обладающий антиоксидантным

и мембранопротекторным механизмом действия, проявляет уникальный спектр фармакологических свойств – ноотропную, противогипоксическую, нейропротекторную, анксиолитическую, антистрессорную, антиалкогольную, противопаркинсоническую и противосудорожную активность и др. [7]. Рядом работ доказана возможность применения производных 3-оксипиридина в комплексной терапии онкологических заболеваний [8-10]. Учитывая эффективность препарата при невротических и неврозоподобных расстройствах с проявлениями тревоги, страха, эмоционального напряжения, нами проведено экспериментальное исследование анксиолитической и стресс-протекторной эффективности 3-окси-6-метил-2-этил-пиридина сукцината при онкологической патологии в условиях противоопухолевой химиотерапии.

Материалы и методы

Эксперимент был проведен на 42 самцах белых нелинейных крыс. Модель неоплазии создавалась путем подкожной перевивки животным массой 80-100 г опухолевого штамма холангиоцеллюлярного рака РС-1 (НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН). Животные содержались в стандартных условиях в виварии ГОУВПО «Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарёва», со свободным доступом к стандартному брикетированному корму и питьевой воде.

Для моделирования химиотерапии животным на 14, 21 и 28 сутки после перевивки опухоли вводился доксорубин в/брюшинно в дозе 1 мг/кг, 3 инъекции (до суммарной дозы 3 мг/кг). Мексидол и эмоксипин вводили через день с 14 по 34 сутки после перевивки опухоли в/м в дозе 25 мг/кг. Интактную группу составили 10 животных, животным контрольной группы (n=8) вводился соответствующий объем физиологического раствора в/м.

Целостность физиологической реакции крыс в ответ на введение исследуемых производных 3-оксипиридина оценивалась в физиологических тестах с учетом ориентировочно-исследовательского эмоционального, стереотипного и двигательного компонентов по поведенческому атласу для грызунов [11] на 35 день после перевивки опухоли.

Свободную двигательную активность животных изучали в тесте «открытого поля» (ОП), предложенном Hall C.S. (1936) [12] для регистрации поведения животных в ответ на «новые, потенциально опасные стимулы». Продолжительность опыта для каждой отдельной крысы составляла 3 мин. Регистрировался ряд элементарных двигательных

актов и поз, совокупность которых характеризует целостное поведение в «открытом поле» [13].

Для оценки эмоционально-поведенческих реакций на стресс, развивающийся у экспериментальных животных в результате роста опухоли и противоопухолевой химиотерапии, и оценки стресс-протекторных эффектов 3-оксипиридина сукцината использован тест «Приподнятый крестообразный лабиринт – ПКЛ». Животное помещалось в центр лабиринта. Фиксировали время пребывания в закрытых и открытых «рукавах», количество заходов в закрытые и открытые «рукава», длительность нахождения в центре [14]. Продолжительность теста для каждой отдельной крысы составляла 3 мин.

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

Результаты и их обсуждение

При использовании теста «открытого поля» в контрольной группе наблюдалось ограничение горизонтальной и вертикальной активности животных-опухоленосителей по сравнению с интактными. Горизонтальная двигательная активность на периферии снизилась на 80% ($p < 0,001$), вертикальная у стенки – на 76% ($p < 0,001$); у животных контрольной группы полностью отсутствовала вертикальная активность в центре поля, тогда как у интактных животных она составила $7,0 \pm 0,4$. Спонтанная двигательная активность (суммарное число пересеченных квадратов) уменьшилась на 78,8% ($p < 0,001$) (рис. 1). Число актов короткого груминга в контрольной группе было на 75% меньше, чем в интактной ($p < 0,001$), на 80,6% ($p < 0,001$) сократи-

лась активность по исследованию отверстий в стенках. Суммарная ориентировочно-исследовательская активность уменьшилась на 81,9% ($p<0,001$).

В результате противоопухолевой химиотерапии доксорубицином усилились характерные для депрессии черты поведения – снижение двигательной активности, исследовательской деятельности ($p<0,05$); вместе с тем, достоверно возрос уровень тревожности. На фоне химиотерапии доксорубицином у исследуемых животных еще больше угнеталась двигательная активность – горизонтальная на периферии снизилась на 66,7% ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой, вертикальная на периферии – на 81,6% ($p<0,01$), спонтанная двигательная активность по сравнению с контрольной группой уменьшилась на 52,7% ($p<0,01$). Уменьшилось число актов короткого груминга на 82% ($p<0,001$) по сравнению с животными контрольной группы, количество исследованных отверстий – на 80% ($p<0,05$), суммарная ориентировочно-исследовательская активность уменьшилась на 78,2% ($p<0,05$) к данным контрольной группы (табл. 1).

Применение мексидола на фоне химиотерапии холангиоцеллюлярного рака крыс PC-1 доксорубицином приводило к снижению уровня тревожности у исследуемых животных. Наблюдалась активация горизонтальной активности в 4,4 раза на периферии ($p<0,001$) и в центре в 2,3 раза ($p<0,05$), по сравнению с уровнем животных, получавших монотерапию доксорубицином, и превысив уровень контрольной группы.

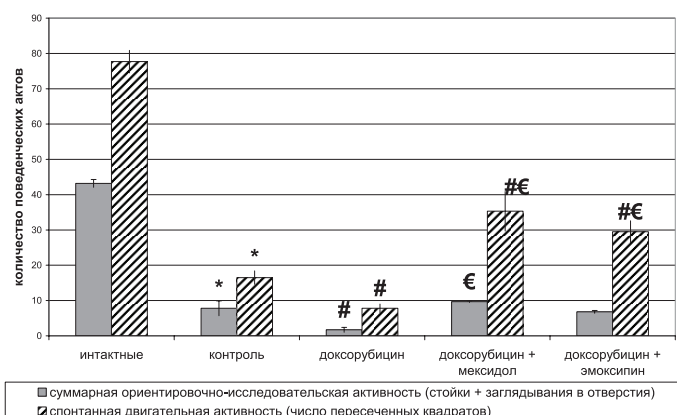


Рис. 1. Влияние мексидола и эмоксипина на фоне химиотерапии доксорубицином холангиоцеллюлярного рака крыс PC-1 на параметры поведения животных в тесте «открытое поле» (* – достоверность различий $p<0,05$ по сравнению с интактными животными, # – по сравнению с контрольной группой, € – по сравнению с группой, получающей монотерапию цитостатиком).

Усилилась и вертикальная двигательная активность – на 542% ($p<0,001$) увеличилось число стоек с упором в стенку. Число актов короткого груминга вернулось к показателям контрольной серии, как и активность по исследованию отверстий, суммарная ориентировочно-исследовательская активность увеличилась в 4,7 раза ($p<0,001$) по сравнению с группой животных, получавших монотерапию доксорубицином. Число актов дефекации уменьшилось по отношению к группе, получавшей только доксорубицин, на 60% ($p<0,05$).

Комбинация противоопухолевой химиотерапии доксорубицином с эмоксипином не столь эффективно снижала уровень тревожности животных с холангиоцеллюлярным раком PC-1, как с мексидолом. Статистически достоверные отличия зарегистрированы при оценке горизонтальной двигательной активности – активность на периферии увеличилась в 4,8 раза ($p<0,01$), и в центре поля – в 2,5 раза ($p<0,05$) (табл. 1). Суммарная ориентировочно-исследовательская активность выросла в 4 раза ($p<0,05$) по

Таблица 1

Влияние мексидола и эмоксипина на физиологические реакции крыс в тесте «открытого поля» на фоне химиотерапии доксорубицином в условиях модели холангиоцеллюлярного рака PC-1 ($M\pm m$)

		Интактные	Контроль	Доксорубицин	Доксорубицин + мексидол	Доксорубицин + эмоксипин
Горизонтальная двигательная активность	На периферии	65,67±2,26	13,00±1,47 $p<0,001$	4,33±1,15 $p'<0,001$	23,50±3,31 $p'<0,05$ $p''<0,001$	20,83±2,93 $p'<0,05$ $p''<0,01$
	В центре	10,33±3,05	3,5±0,68 $p>0,05$	3,50±0,25 $p'>0,05$	11,50±2,78 $p'<0,05$ $p''<0,05$	8,64±2,23 $p'<0,05$ $p''<0,05$
Вертикальная двигательная активность	Упор в стенку	19,00±0,40	4,50±1,01 $p<0,001$	0,83±0,44 $p'<0,01$	5,33±0,54 $p'>0,05$ $p''<0,001$	3,24±1,37 $p'>0,05$ $p''>0,05$
	Стойка в центре	7,00±0,40	0 $p<0,001$	0,17±0,18 $p'>0,05$	0,67±0,54 $p'>0,05$ $p''>0,05$	0,34±0,22 $p'>0,05$ $p''>0,05$
Груминг, кол-во	Короткий	7,33±0,54	1,83±0,18 $p<0,001$	0,33±0,23 $p'<0,001$	1,83±0,87 $p'>0,05$ $p''>0,05$	0,94±0,35 $p'>0,05$ $p''>0,05$
	Длинный	1,17±0,34	1,33±0,67 $p>0,05$	0,33±0,37 $p'>0,05$	1,50±0,47 $p'>0,05$ $p''>0,05$	1,23±0,37 $p'>0,05$ $p''>0,05$
Обследование отверстий		17,17±1,04	3,33±1,12 $p<0,001$	0,67±0,36 $p'<0,05$	3,67±0,67 $p'>0,05$ $p''<0,01$	3,18±0,48 $p'>0,05$ $p''<0,01$
Число актов дефекации		1,00±0,40	1,50±0,25 $p>0,05$	1,67±0,36 $p'>0,05$	0,67±0,23 $p'<0,05$ $p''<0,05$	1,17±0,29 $p'>0,05$ $p''>0,05$

Примечание: достоверность различия p – к показателям интактной группы, p' – к данным контрольной группы, p'' – к данным серии с введением доксорубицина в виде монотерапии.

сравнению с группой животных, получавших монотерапию доксорубицином.

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» животные контрольной группы больше времени находились в закрытых «рукавах» по сравнению с интактными, время пребывания в светлом месте у животных контрольной группы уменьшилось на 61,2% ($p<0,05$). Животные, которым вводился доксорубицин, полностью избегали открытых «рукавов» в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», что, вероятно, связано с усилением тревожности под влиянием противоопухолевой химиотерапии, которая, как известно, снижает скорость реакции и затрудняет целенаправленную

деятельность – время пребывания в светлом месте составило лишь 10,0±2,0 сек., что на 60,8% меньше, чем в контрольной группе (рис. 2).

Под влиянием мексидола у исследуемых животных на 34,8% ($p<0,05$) сократилось время пребывания в закрытых «рукавах» лабиринта, время пребывания в светлом месте увеличилось на 523% ($p<0,05$) по сравнению с животными, получавшими только доксорубицин, в 3,6 раза ($p<0,05$) возросло количество актов груминга.

Введение эмоксипина на фоне терапии доксорубицином увеличило в 4,2 раза ($p<0,05$) время пребывания в светлом месте животных с холангиоцеллю-

лярным раком РС-1. Количество заходов в открытые «рукава» увеличилось у этих животных в 3,7 раза ($p<0,05$), а число актов груминга – в 4 раза ($p<0,05$), по сравнению с животными, получавшими только доксорубин (табл. 2).

Таблица 2

Влияние мексидола и эмоксипина на эмоционально-поведенческие реакции крыс в тесте приподнятый крестообразный лабиринт на фоне химиотерапии доксорубином в условиях модели холангиоцеллюлярный рак РС-1 ($M\pm m$)

	Интактные	Контроль	Доксорубин	Доксорубин + мексидол	Доксорубин + эмоксипин
Время пребывания в закрытых «рукавах», с	104,5±11,7	150,3±6,9 $p<0,01$	66,8±1,5 $p'<0,05$	108,7±18,8 $p'>0,05$ $p''<0,05$	125,4±15,7 $p'>0,05$ $p''<0,05$
	18,2±8,7	1,3±1,0 $p>0,05$	0 $p'>0,05$	46,0±20,8 $p'>0,05$ $p''>0,05$	15,5±6,9 $p'<0,05$ $p''>0,05$
Время пребывания в центре, с	47,5±17,2	24,2±4,7 $p>0,05$	10,0±2,0 $p'<0,05$	16,3±4,5 $p'>0,05$ $p''>0,05$	27,2±8,3 $p'>0,05$ $p''<0,05$
Количество заходов в закрытые «рукава»	3,17±0,44	3,33±0,46 $p>0,05$	1,83±0,34 $p'<0,05$	2,67±0,46 $p'>0,05$ $p''>0,05$	4,67±0,69 $p'>0,05$ $p''>0,05$
Количество заходов в открытые «рукава»	1,33±0,54	0,33±0,23 $p>0,05$	0 $p'>0,05$	1,83±0,59 $p'<0,05$ $p''<0,05$	1,23±0,36 $p'<0,05$ $p''<0,05$
Груминг, кол-во	2,83±0,77	1,33±0,36 $p>0,05$	0,50±0,25 $p'>0,05$	2,33±0,36 $p'>0,05$ $p''<0,05$	2,02±0,51 $p'>0,05$ $p''<0,05$

Примечание: достоверность различия p – к показателям интактной группы, p' – к данным контрольной группы, p'' – к данным серии с введением доксорубина в виде монотерапии.

Выводы

Таким образом, мексидол в дозе 25 мг/кг и, в меньшей степени, эмоксипин в дозе 17 мг/кг, вводимые в/м с 14 по 33 сутки роста опухоли, на фоне химиотерапии доксорубином и этопозидом холангиоцеллюлярного рака крыс РС-1, препятствовали угнетению локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности исследуемых животных в «открытом поле» и уменьшали степень выраженности тревожно-фобических реакций в «Приподнятом крестообразном лабиринте».

Список литературы

1. *Chen Y., Jungsuwadee P., Vore M. et al.* Collateral damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in nontargeted tissues // *Mol. Interv.* 2007. № 7 (3). P. 147-56.
2. *Moss R.W.* Should patients undergoing chemotherapy and radiotherapy be prescribed antioxidants? // *Integr. Cancer Ther.* 2006. №5. P. 63-82.
3. *Зорькина А.В., Скопин П.И.* Применение отрицательных аэроионов кислорода для модификации противоопухолевой терапии // *Вестник новых медицинских технологий.* 2009. Т. XVI. №4. С. 102-104.

4. *Prasad K.N.* Multiple dietary antioxidants enhance the efficacy of standard and experimental cancer therapies and decrease their toxicity // *Integr. Cancer Ther.* 2004. № 3. P. 310-22.

5. *Зорькина А.В., Скопин П.И.* Влияние комбинации дистанционного гамма-облучения и антиоксидантного препарата на показатели эндогенной интоксикации в условиях экспериментального опухолевого роста // *Сибирский онкологический журнал.* – 2009. – №3 (33). – С. 56-59.

6. *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. № 13. P. 22-28.

7. *Воронина Т.А.* Мексидол: основные нейропсихотропные эффекты и механизм действия // *Фарматека.* 2009. № 6. С. 28-31.

8. *Зорькина А.В., Скопин П.И., Усанова А.А., Маланьина Е.С.* Изучение комбинированного применения противоопухолевой химиотерапии и препаратов антиоксидантного действия // *Уральский медицинский журнал.* 2009. № 8 (62). С. 17-19.

9. *Зорькина А.В., Скопин П.И.,*

Кулаев М.Т., Маланьина Е.С. Морфологические характеристики опухоли в условиях комбинированного применения противоопухолевой химиотерапии и эмоксипина // *Морфологические ведомости.* 2010. № 1. С. 86-89.

10. *Скопин П.И.* Влияние мексидола на антиметастатическую активность противоопухолевых препаратов // *Аспирантский вестник Поволжья.* 2009. № 3-4. С. 104-106.

11. *Пошивалов В.П.* Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах. М.: Деп. В ВИНТИ. 1978. С. 3164-78.

12. *Hall C.S.* Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity // *J. comp. physiol. Psychol.* 1936. vol. 22. P. 345-352.

13. *Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: «Высшая школа». 1991. С. 119-122.

14. *Родина В.И., Крупина Н.А., Крыжановский Г.Н., Окнина Н.Б.* Многопараметровый метод комплексной оценки тревожно-фобических состояний у крыс // *Журн. высш. нерв. деят.* 1993. № 43 (5). С. 1006–1017.

Effects antioxidant drugs during cytostatic therapy on rats behaviour

P.I. Skopin, A.V. Zorkina, M.T. Kulaev, A.A. Peshev

The present study aimed to investigate the influence of combination of the synthetic antioxidant mexidol (3-oxy-6-methyl-2-ethyl-pyridin succinatum, 25 mg/kg i/m N12) or emoxipin (3-oxy-6-methyl-2-ethyl-pyridin hydrochloridum, 25 mg/kg i/m N12) and antitumor drug – doxorubicin (1 mg/kg intraperitoneum N3) on behavioral characterization in rats. Studies were performed on rats with transplantable cholangiocellular carcinoma RS-1. The estimating tests anxiety, locomotion and exploration activity – «elevated plus-maze» and «open field», were used for this investigation. We studied depressive-like state in the behaviour in rats with cholangiocellular carcinoma RS-1. Animals who received cytostatic therapy with doxorubicin showed anxiety-depressive status, despite they had anticancer effect of chemotherapy. Antioxidant correction in rats had more open arm entries in plus maze and had more active in «open field» test, compared with rats doxorubicin treated only.

Key words: cancer chemotherapy, Mexidol, transplantable cholangiocellular RS-1 carcinoma, anxiety, depression.