

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МЕЛАТОНИНА И ПРОИЗВОДНОГО 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА НА ГЕМАТОТОКСИЧНОСТЬ И ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛКИЛИРУЮЩЕГО ЦИТОСТАТИКА У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС

УДК 615.357:616.24.001.6—006.6

Поступила 11.03.2011 г.



**И.М. Вашуркина**, аспирант кафедры патологии с курсом патологической физиологии Медицинского института;  
**А.В. Сипров**, д.м.н., доцент кафедры фармакологии Медицинского института;  
**Н.А. Плотникова**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологии с курсом патологической физиологии Медицинского института

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

**Цель исследования** — сравнительная оценка влияния мелатонина (Мелаксена) и производного 3-гидроксипиридина (Мексидола) на гематотоксичность и противоопухолевую эффективность алкилирующего цитостатика Циклофосфана у мышей с карциномой легкого Льюис.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на 80 мышях-самках линии C57Bl/6 массой 20–22 г. Циклофосфан вводили в дозе 100 мг/кг двукратно с интервалом 96 ч внутрибрюшинно, Мексидол и Мелаксен — внутримышечно в дозах 50 и 45 мг/кг соответственно, в течение 14 дней. Оценивали гематотоксичность у животных каждой группы, эффективность лечения по индексу торможения роста опухоли, антиметастатический эффект по среднему числу поверхностных легочных метастазов на одно животное.

**Заключение.** Мелаксен и Мексидол снижают гематотоксичность Циклофосфана, не уменьшая его противоопухолевой эффективности в отношении первичного опухолевого узла. Антиметастатический эффект при сочетанном применении Циклофосфана и Мелаксена не изменяется, а при использовании цитостатика с Мексидолом — увеличивается по сравнению с введением одного Циклофосфана.

**Ключевые слова:** Мелаксен, Мексидол, Циклофосфан, гематотоксичность, противоопухолевый эффект, метастазирование.

## English

## Comparative assessment of the effect of melatonin and 3-hydroxypyridine derivative on hematotoxicity and antitumour efficacy of alkylating cytostatic in mice with Lewis lung carcinoma

**I.M. Vashurkina**, Postgraduate, the Department of Pathology with the Course of Pathological Physiology of Medical Institute;  
**A.V. Siprov**, D.Med.Sc., Associate Professor, the Department of Pharmacology of Medical Institute;  
**N.A. Plotnikova**, D.Med.Sc., Professor, Head of the Department of Pathology with the Course of Pathological Physiology of Medical Institute

Mordovian State University named after N.P. Ogaryov, Saransk

**The aim of the investigation** is to give comparative assessment of melatonin (Melaxen) and the derivative of 3-hydroxypyridine (Mexidol) effect on hematotoxicity and antitumour efficacy of alkylating cytostatic Cyclophosphan in mice with Lewis lung carcinoma.

**Materials and Methods.** The experiments were carried out on 80 female mice of C57Bl/6 line, weighing 20–22 g. Cyclophosphan was administered twice at the dosage of 100 mg/kg at 96h intervals intraperitoneally, and Melaxen and Mexidol — intramuscularly at the dosages of 50 and 45 mg/kg respectively, within 14 days. In each group of animals there was assessed hematotoxicity, treatment efficacy by the index of tumour growth inhibition, and antimetastasis effect by an average number of superficial lung metastases per an animal.

**Conclusion.** Melaxen and Mexidol decrease Cyclophosphan hematotoxicity without reducing its antitumour efficacy in regard to primary tumour node. Cyclophosphan and Melaxen used in combination do not change antimetastasis effect, while the latter is increasing when cytostatic agent is used with Mexidol compared to the administration of Cyclophosphan only.

**Key words:** Melaxen, Mexidol, Cyclophosphan, hematotoxicity, antitumour effect, metastasis.

Многочисленные побочные эффекты, сопровождающие противоопухолевую химиотерапию, обуславливают исследование возможностей применения средств с антиоксидантным действием для снижения токсичности про-

тивоопухолевых препаратов с учетом патогенетического значения интенсификации перекисного окисления липидов в развитии многих побочных эффектов антибластных средств [1].

Для контактов: Вашуркина Ирина Михайловна, тел. моб. +7 961-099-88-95, +7 917-694-98-26; e-mail: impolyakova@ya.ru

Таблица 1

## Дизайн исследований

Группы	Схема введения препаратов
Интактные животные (n=20)	Препараты и опухолевые клетки КЛЛ не вводили
1-я — опухолевый штамм КЛЛ (n=20)	1·10 <sup>6</sup> опухолевых клеток КЛЛ внутримышечно
2-я — КЛЛ, Циклофосфан — КЛЛ+ЦФ (n=20)	1·10 <sup>6</sup> опухолевых клеток КЛЛ внутримышечно, Циклофосфан — внутривенно, 2 раза с интервалом 96 ч, в дозе 100 мг/кг, начиная с 7-х суток
3-я — КЛЛ, Циклофосфан, Мелаксен 45 мг/кг — КЛЛ+ЦФ+Мелаксен (n=20)	Так же, как и во 2-й группе, +Мелаксен 45 мг/кг, начиная с 7-х суток после имплантации опухолевых клеток, в течение 14 сут
4-я — КЛЛ, Циклофосфан, Мексидол 50 мг/кг — КЛЛ+ЦФ+Мексидол (n=20)	Так же, как и во 2-й группе, +Мексидол 50 мг/кг, начиная с 7-х суток, в течение 14 сут

**Цель исследования** — сравнительная оценка влияния мелатонина (Мелаксена) и производного 3-гидроксипиридина (Мексидола) на гематотоксичность и противоопухолевую эффективность алкилирующего цитостатика Циклофосфана у мышей с карциномой легкого Льюиса.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на 80 мышках-самках линии С57В1/6 массой 20–22 г разведения питомника НЦБМТ РАМН «Столбовая». Суспензию клеток карциномы легкого Льюиса (КЛЛ) (10<sup>6</sup> клеток в растворе Хенкса) перевивали внутримышечно в область бедра. Животные были распределены на 4 группы. Интактную группу составили 20 животных (табл. 1).

Для оценки гематотоксичности на 14-е и 22-е сутки опыта у 6 животных из каждой группы под эфирным наркозом производили забор крови с последующим определением содержания эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов и лейкоцитов. У животных выделяли костный мозг из

бедерной кости и на предметном стекле готовили мазок костного мозга. Мексидол и Мелаксен как средства с антиоксидантным действием вводили внутримышечно в дозах 50 и 45 мг/кг соответственно.

На 22-е сутки эксперимента животных выводили из опыта под эфирным наркозом. Эффективность лечения оценивали по индексу торможения роста опухоли (ИТРО), который рассчитывали по массе опухоли. Антиметастатический эффект оценивали по среднему числу поверхностных легочных метастазов на одно животное [2].

При статистической обработке результатов исследования использовали критерий Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Анализ периферической крови показал, что на 14-е сутки эксперимента на фоне опухолевого роста развивались анемия и лейкопения с выраженной лимфопенией (табл. 2).

Введение ЦФ усиливало анемию и лейкопению у животных: содержание эритроцитов и гемоглобина снижалось на 23,9 и 17,1% соответственно ( $p < 0,05$ ), а количество лейкоцитов — на 65% по сравнению с нелечеными животными. Мелаксен эффективнее Мексидола препятствовал снижению содержания гемоглобина после введения ЦФ: его уровень увеличивался на 49,9% по отношению к группе с ЦФ. Он в сопоставимой с Мексидолом степени уменьшал выраженность лейкопении, при этом достоверно повышалось и количество лимфоцитов (на 220,8 и 107% при введении Мелаксена и Мексидола соответственно, см. табл. 2).

К 22-м суткам эксперимента у нелеченых животных развивалась тромбоцитопения. Терапия ЦФ приводила к сокращению числа тромбоцитов в крови на 24,6% по отношению к интактным животным. Мелаксен и Мексидол в сопоставимой степени препятствовали усилению тромбоцитопении после введения ЦФ (табл. 3).

К концу эксперимента у животных групп КЛЛ и КЛЛ+ЦФ регистрировали более выраженную анемию. Мелаксен, в отличие от Мексидола, уменьшал степень тяжести анемии, увеличивая уровень гемоглобина и эритроцитов на 60 и 47,8% соответственно по сравнению с группой ЦФ.

В группе КЛЛ к 22-м суткам отмечались лимфопения и

Таблица 2

## Влияние Мелаксена и Мексидола на клеточный состав периферической крови мышей с КЛЛ при введении Циклофосфана на 14-е сутки эксперимента (M±σ)

Показатели	Интактные животные	Экспериментальные группы			
		КЛЛ	КЛЛ+ЦФ	КЛЛ+ЦФ+Мелаксен	КЛЛ+ЦФ+Мексидол
Гемоглобин, г/л	143,40±3,15	61,17±1,90 $p_1 < 0,05$	50,70±3,08 $p_{1,2} < 0,05$	76,0±2,5 $p_{1,2,3} < 0,001$	63,60±3,06 $p_{1,3,4} < 0,05$
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	8,23±0,18	3,97±0,09 $p_1 < 0,05$	3,02±0,20 $p_{1,2} < 0,05$	3,05±0,22 $p_{1,2} < 0,01$	3,96±0,20 $p_{1,3,4} < 0,05$
Тромбоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	376,7±14,7	356,7±18,6	428,00±24,98 $p_2 < 0,05$	406,7±51,4	442,0±27,5 $p_{1,2} < 0,05$
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	5,84±0,48	3,52±0,30 $p_1 < 0,05$	1,23±0,20 $p_{1,2} < 0,05$	2,15±0,37 $p_{1,2,3} < 0,05$	1,88±0,20 $p_{1,2,3} < 0,05$
Нейтрофилы, ×10 <sup>9</sup> /л	1,70±0,21	2,26±0,21	0,96±0,18 $p_{1,2} < 0,05$	1,13±0,25 $p_2 < 0,05$	1,27±0,11 $p_2 < 0,05$
Лимфоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	4,10±0,32	1,28±0,15 $p_1 < 0,05$	0,24±0,04 $p_{1,2} < 0,05$	0,77±0,22 $p_{1,3} < 0,05$	0,51±0,06 $p_{1,2,3} < 0,01$

Примечание:  $p_1$  — статистическая значимость различий данных с интактной группой;  $p_2$  — с группой КЛЛ;  $p_3$  — с группой КЛЛ+ЦФ;  $p_4$  — с группой КЛЛ+ЦФ+Мелаксен.

Таблица 3

**Влияние Мелаксена и Мексидола на клеточный состав периферической крови мышей с КЛЛ при введении Циклофосфана на 22-е сутки эксперимента (M±σ)**

Показатели	Интактные животные	Экспериментальные группы			
		КЛЛ	КЛЛ+ЦФ	КЛЛ+ЦФ+Мелаксен	КЛЛ+ЦФ+Мексидол
Гемоглобин, г/л	143,40±3,15	47,55±3,68 p <sub>1</sub> <0,001	43,55±2,90 p <sub>1</sub> <0,001	69,7±4,6 p <sub>1,2,3</sub> <0,01	44,8±2,7 p <sub>1,4</sub> <0,001
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	8,23±0,18	3,68±0,23 p <sub>1</sub> <0,001	2,30±0,18 p <sub>1,2</sub> <0,001	3,40±0,18 p <sub>1,3</sub> <0,01	2,27±0,11 p <sub>1,2,4</sub> <0,001
Тромбоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	376,7±14,7	260,0±27,8 p <sub>1</sub> <0,001	196,0±7,9 p <sub>1,2</sub> <0,05	313,3±26,5 p <sub>1,3</sub> <0,05	280,0±27,6 p <sub>1,3</sub> <0,01
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	5,84±0,48	5,04±0,52	12,35±1,60 p <sub>1,2</sub> <0,01	36,95±9,27 p <sub>1,2,3</sub> <0,01	22,8±4,5 p <sub>1,2,3</sub> <0,05
Нейтрофилы, ×10 <sup>9</sup> /л	1,70±0,21	3,30±0,46 p <sub>1</sub> <0,001	10,40±1,57 p <sub>1,2</sub> <0,05	30,99±7,86	19,40±3,85 p <sub>2,3</sub> <0,05
Лимфоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	4,10±0,32	1,62±0,13 p <sub>1</sub> <0,001	1,82±0,24 p <sub>1,2</sub> <0,001	3,60±1,09 p <sub>1,2,3</sub> <0,05	3,21±0,62 p <sub>1,2,3</sub> <0,0

Примечание: p<sub>1</sub> — статистическая значимость различий данных с интактной группой; p<sub>2</sub> — с группой КЛЛ; p<sub>3</sub> — с группой КЛЛ+ЦФ; p<sub>4</sub> — с группой КЛЛ+ЦФ+Мелаксен.

Таблица 4

**Влияние комбинированного применения Циклофосфана с Мелаксеном и Мексидолом на клеточный состав костного мозга мышей с КЛЛ на 14-е сутки эксперимента (M±σ)**

Показатели, %	Интактные животные	Экспериментальные группы животных			
		КЛЛ	КЛЛ+ЦФ	КЛЛ+ЦФ+Мелаксен	КЛЛ+ЦФ+Мексидол
Бласты	0,10±0,06	0,8±0,2	2,4±0,5 p <sub>1,2</sub> <0,05	2,3±0,6 p <sub>1</sub> <0,05	1,07±0,30
Миелоциты	6,0±2,3	7,0±1,4 p <sub>1,2</sub> <0,05	18,4±0,6 p <sub>1,2</sub> <0,05	18,3±1,9 p <sub>1,2</sub> <0,05	15,2±2,3 p <sub>1,2</sub> <0,05
Метамиелоциты	0,53±0,1	0,9±0,2	4,9±0,6 p <sub>1,2</sub> <0,05	7,6±1,5 p <sub>1,2</sub> <0,05	7,7±1,2 p <sub>1,2</sub> <0,05
Палочкоядерные нейтрофилы	30,5±3,5	36,5±4,8	46,0±1,2 p <sub>1</sub> <0,05	30,2±3,6 p <sub>3</sub> <0,05	44,6±4,6 p <sub>4</sub> <0,05
Сегментоядерные нейтрофилы	23,4±2,1	23,2±2,6	4,5±0,2 p <sub>1,2</sub> <0,05	12,9±0,8 p <sub>1,2,3</sub> <0,05	10,5±2,0 p <sub>1,2,3</sub> <0,05
Нормоциты базофильные	1,67±0,30	0,90±0,37	1,3±0,4	1,8±0,8	2,3±0,8
Нормоциты полихроматофильные	23,6±3,7	19,0±3,8	11,4±1,6 p <sub>1</sub> <0,05	9,1±3,4 p <sub>1</sub> <0,05	18,1±2,1 p <sub>3</sub> <0,05
Лимфоциты	6,5±1,9	2,2±0,3	4,8±0,6 p <sub>2</sub> <0,05	6,9±0,9 p <sub>2</sub> <0,05	7,07±1,20 p <sub>2</sub> <0,05

Примечание: p<sub>1</sub> — статистическая значимость различий данных с интактной группой; p<sub>2</sub> — с группой КЛЛ; p<sub>3</sub> — с группой КЛЛ+ЦФ; p<sub>4</sub> — с группой КЛЛ+ЦФ+Мелаксен.

нейтрофиллез без изменений общего количества лейкоцитов по сравнению с интактными животными. В группе с ЦФ регистрировался лейкоцитоз с нейтрофиллезом и сохранением лимфопении. В группах с мелаксеном и Мексидолом на фоне лейкоцитоза отмечалось достоверное увеличение числа лимфоцитов на 97,8 и 76,4% соответственно по сравнению с группой с ЦФ.

Клеточный состав костного мозга мышей с КЛЛ без лечения к 14-м суткам не отличался от такового у интактных животных. У мышей с монотерапией ЦФ к этому времени наблюдались увеличение пролиферативной активности незрелых гранулоцитов и торможение процессов дифференцировки, что выражалось в нарастании в костном моз-

ге бластных (в 3 раза) и созревающих форм (миелоцитов и метамиелоцитов — в 2,6 и 5,4 раза соответственно) и сокращении количества сегментоядерных нейтрофилов (в 5,2 раза) по сравнению с нелечеными животными (табл. 4). Количество полихроматофильных нормоцитов уменьшалось в 2 раза по сравнению с группой интактных животных. В группах с сочетанным введением ЦФ с мелаксеном и Мексидолом отмечалось статистически значимое увеличение числа сегментоядерных нейтрофилов — в 2,8 и в 2,3 раза соответственно. В группе с Мексидолом, в отличие от группы с Мелаксеном, отмечалось увеличение числа полихроматофильных нормоцитов в 1,6 раза по сравнению с группой КЛЛ+ЦФ.

Таблица 5

**Влияние комбинированного применения Циклофосфана с Мелаксеном и Мексидолом на метастазирование КЛЛ (M±σ)**

Группа	Число животных с метастазами, %	Среднее число метастазов, абс. число	ИИМ, %
Интактные животные	0	0	—
КЛЛ	100	95,7±8,2	—
КЛЛ+ЦФ	100	5,0±1,2 $p_1 < 0,001$	94,8
КЛЛ+ЦФ+Мелаксен	100	8,86±3,03 $p_1 < 0,001$	90,7
КЛЛ+ЦФ+Мексидол	66,7	1,0±0,4 $p_{1,2,3} < 0,001$	99,3

Примечание:  $p_1$  — статистическая значимость различий данных с группой КЛЛ;  $p_2$  — с группой КЛЛ+ЦФ;  $p_3$  — с группой КЛЛ+ЦФ+Мелаксен.

На 22-е сутки в группе КЛЛ+ЦФ регистрировалось увеличение в 2 раза количества сегментоядерных нейтрофилов и сокращение числа базофильных нормоцитов в 2,9 раза и полихроматофильных нормоцитов в 5,8 раза по сравнению с группой КЛЛ. Мексидол в отличие от Мелаксена увеличивал количество базофильных нормоцитов в 2,19 раза по сравнению с группой с монотерапией ЦФ.

Масса опухоли при терапии ЦФ снизилась с 9,18±0,19 г до 6,45±0,18 г ( $p < 0,05$ ). При использовании мелаксена и Мексидола масса опухолевого узла составила 6,69±0,33 и 6,92±0,19 г соответственно, что не отличалось от таковой в группе с применением одного ЦФ.

Мелаксен не снижал антиметастатический эффект ЦФ, индекс ингибирования метастазирования (ИИМ) составил 90,7%. При использовании ЦФ в сочетании с Мексидолом отмечалось достоверное уменьшение интенсивности метастазирования по сравнению с терапией одним цитостатиком и, соответственно, повышение ИИМ до 99,3% (табл. 5).

Следовательно, Мелаксен в сопоставимой с Мексидолом степени уменьшал повреждающее действие ЦФ на гранулоцитопоз. Он в отличие от Мексидола уменьшал степень тяжести анемии на 22-е сутки эксперимента, увеличивая количество эритроцитов и гемоглобина в крови. При этом Мексидол эффективнее мелаксена уменьшал повреждение эритрокариоцитарного ростка кроветворения.

**Заключение.** Мелаксен эффективнее Мексидола снижает степень тяжести анемии после лечения Циклофосфаном. Он в сопоставимой с Мексидолом степени корригирует лейкопению при опухолевом процессе и терапии Циклофосфаном, не снижает противоопухолевую и антиметастатическую эффективность Циклофосфана, а антиметастатический эффект при сочетанном применении цитостатика и Мексидола превышает таковой в группе с монотерапией Циклофосфаном.

#### References

1. Kinzirskaia Yu.A., Bogush T.A., Ostapchuk N.V., Fisenko V.P. *Klinicheskaya meditsina* 2003; 10: 11–16.
2. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Instructions on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Pod obshchey red. R.U. Khabrieva [R.U. Khabriev (editor)]. Moscow; 2005.