

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-1-7-12

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ У КРЫС С КАРЦИНОМОЙ WALKER-256 ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ ДОКСОРУБИЦИНА И КСИМЕДОНА

А. В. Сипров, В. А. Масыгин, Е. В. Тютяев, И. В. Сюсин¹

Изучено влияние ксимедона (100 мг/кг однократно ежедневно 10 дней внутримышечно, начиная с 11 сут после имплантации опухолевых клеток) в сравнении с мексидолом (50 мг/кг однократно ежедневно 10 дней внутримышечно с 11 сут после имплантации опухолевых клеток) на морфометрические показатели эритроцитов и кислородтранспортную функцию гемоглобина у крыс с карциномой Walker-256 на фоне доксорубина. Показано, что ксимедон сопоставимо с мексидолом предупреждает изменения геометрии эритроцитов, ассоциированные с использованием доксорубина (уменьшение площади и объема эритроцитов) и опухолевой прогрессией (уменьшение объема эритроцитов), восстанавливая площадь и объем эритроцитов на 21 и 22 %, соответственно на 14 сут после введения опухолевых клеток. Ксимедон эффективнее мексидола оптимизирует кислородтранспортную функцию гемоглобина в ранние сроки после введения доксорубина (14 сут эксперимента), увеличивая на 9 % и нормализуя таким образом способность гемоглобина отдавать кислород (на 7 % больше в сравнении с мексидолом, $p < 0,05$) при умеренном росте на 17 % сродства гемоглобина к кислороду (на 28 % меньше относительно мексидола, $p < 0,05$). В поздние сроки исследования (22 сут) ксимедон уступает мексидолу в коррекции кислородтранспортной функции гемоглобина (способность гемоглобина связывать и отдавать кислород снижается на 13 и 6 %, соответственно, относительно монотерапии доксорубином, и на 22 и 6,5 % в сравнении с мексидолом, $p < 0,05$).

Ключевые слова: морфометрические параметры эритроцитов; кислородтранспортная функция; доксорубин; ксимедон; мексидол; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема профилактики и коррекции гематологических нарушений, вызванных антибластными лекарственными препаратами и самим опухолевым процессом, актуальна, поскольку существующие в настоящее время способы снижения таких осложнений в большинстве своем недостаточно эффективны. Известно, что многие цитостатики, особенно антрациклины, вызывают побочные эффекты, в том числе гематологические, в развитии которых важная роль принадлежит усилению процессов перекисного окисления липидов и угнетению антиоксидантной системы организма [4]. Образующиеся активные формы кислорода и азота могут индуцировать явления эритроцитоза (мембранно-связанный апоптоз) клеток крови [8, 12], что, наряду с угнетением кроветворения, усугубляет анемию и гипоксию. Ухудшение эффективности кислородтранспортной функции эритроцитов возможно

и при изменении свойств гемоглобина, определяющих его распределение в клетке и сродство к кислороду [13]. Вместе с тем показано, что опухолевая гипоксия и анемия отрицательно влияют на результаты химио- и лучевой терапии [9]. В связи с этим продолжается поиск наиболее эффективных протекторов среди средств с антиоксидантной активностью. Ранее было показано гематопротекторное действие производных 3-оксипиридина при использовании алкилирующих агентов и доксорубина, при этом эффективность антибластной терапии не снижается, а в ряде случаев повышается [10, 11]. Производное пиридина ксимедон, обладающий антиоксидантным действием [3], эффективнее мексидола снижал выраженность анемии при добавлении его к противоопухолевой терапии в эксперименте [5]. Вместе с тем не изучено влияние ксимедона на морфофункциональные свойства эритроцитов при опухолях в условиях цитостатической терапии.

Целью настоящего исследования явилось изучение морфометрических и функциональных особенностей эритроцитов крови крыс с карциномой Walker-256 при

¹ ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева», Медицинский институт, Россия, 430005, Саранск, ул. Большевикская, 68.

сочетанном применении доксорубицина с ксимедоном и препаратом сравнения мексидолом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 50 крысах-самках линии Вистар массой 150–250 г из филиала “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА (Московская область). Животные находились в стандартных условиях вивария Мордовского государственного университета при естественном световом режиме на стандартном корме при свободном доступе к воде и корму. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). Исследование одобрено Локальным этическим комитетом Мордовского государственного университета (протокол № 41 от 29.07.16). Моделирование опухолевого процесса осуществляли введением суспензии клеток карциномы Walker-256 (W-256) (10^6 клеток) под кожу хвоста. Для верификации используемой модели использовали доксорубицин (“ЛЭНС-ФАРМ”, Россия) однократно внутривентриально в дозе 8 мг/кг (в виде 0,08 % изотонического водного раствора) с момента визуально определяемого первичного опухолевого узла — на 11 сут после введения суспензии опухолевых клеток. Верификацию опухоленосительства осуществляли гистологическим исследованием ткани первичного опухолевого узла. Доксорубицин в дозе 8 мг/кг (на изотоническом растворе хлорида натрия) вводили однократно внутривентриально на 11 сут после введения суспензии опухолевых клеток. Ксимедон

(гидроксиэтилдиметилдигидропиримидин, ФГУП НИИ “Кристалл”, Россия) в дозе 100 мг/кг вводили внутримышечно (в виде 10 % раствора на изотоническом растворе хлорида натрия) ежедневно однократно с 11 сут после введения опухолевых клеток в течение 10 дней. Препарат сравнения мексидол (этилметилгидроксипиридина сукцинат, “Фармасофт”, Россия) в дозе 50 мг/кг (5 % раствор в виде официальной лекарственной формы) вводили внутримышечно ежедневно с 11 сут опыта в течение 10 дней.

Животные были распределены на 5 групп по 10 особей в каждой: 1-я группа — “W-256” — крысы с трансплантированной карциномой Walker-256, не получавшие препараты (контроль); 2-я группа — “W-256 + доксорубицин” — крысы с трансплантированной карциномой Walker-256, получавшие доксорубицин; 3-я — “W-256 + доксорубицин + мексидол” — крысы с трансплантированной карциномой W-256, получавшие мексидол на фоне доксорубицина; 4-я — “W-256 + доксорубицин + ксимедон” — крысы с трансплантированной карциномой Walker-256, получавшие ксимедон на фоне доксорубицина. Отдельную 5 группу составили интактные животные.

Для оценки морфофункционального состояния эритроцитов у 6 животных из каждой группы на 14 сут и повторно на 22 сут эксперимента осуществляли забор крови кардиальной пункцией под общей анестезией тиопенталом натрия (50 мг/кг), затем кровь стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия (1:9, v:v).

Изучение морфометрических параметров эритроцитов проводили с помощью лазерного интерференционного микроскопа МИИ-4М (Россия), длина волны 650 нм, объектив с увеличением $\times 33,4$ и числовой

Таблица 1. Морфометрические показатели эритроцитов у крыс с карциномой Walker-256 при введении ксимедона и мексидола на фоне доксорубицина ($M \pm m$)

| Группа | Срок, сут | Площадь, мкм ² | Средняя ОРХ, нм | Толщина, мкм | Фазовый объем, мкм ³ |
|--|-----------|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Интактные крысы | - | 97,4 ± 3,5 | 185,5 ± 8,1 | 0,72 ± 0,03 | 70,5 ± 3,5 |
| 1 – Walker-256 (контроль) | 14 | 89,07 ± 4,0 | 168,7 ± 8,6 | 0,66 ± 0,03 | 58,1 ± 2,8 $p_1 < 0,05$ |
| | 22 | 70,9 ± 6,8* $p_1 < 0,01$ | 123,7 ± 2,9* $p_1 < 0,001$ | 0,48 ± 0,01* $p_1 < 0,001$ | 34,2 ± 3,1* $p_1 < 0,001$ |
| 2 – Walker-256 + доксорубицин | 14 | 80,9 ± 2,1 $p_1 < 0,01$ | 186,7 ± 3,8 | 0,73 ± 0,02 | 59,3 ± 1,9 $p_1 < 0,05$ |
| | 22 | 89,4 ± 3,1 $p_2 < 0,05$ | 182,2 ± 3,1 $p_2 < 0,001$ | 0,71 ± 0,02 $p_2 < 0,001$ | 63,7 ± 2,0 $p_2 < 0,001$ |
| 3 – Walker-256 + доксорубицин + мексидол | 14 | 94,7 ± 3,8 $p_3 < 0,05$ | 194,5 ± 9,2 | 0,76 ± 0,03 | 71,6 ± 2,0 $p_3 < 0,01$ |
| | 22 | 89,7 ± 2,1 $p_2 < 0,05$ | 193,5 ± 8,0 $p_2 < 0,05$ | 0,76 ± 0,03 $p_2 < 0,05$ | 67,7 ± 1,9 $p_2 < 0,001$ |
| 4 – Walker-256 + доксорубицин + ксимедон | 14 | 97,9 ± 2,7 $p_3 < 0,01$ | 190,0 ± 7,6 | 0,74 ± 0,03 | 72,5 ± 1,3 $p_{2,3} < 0,01$ |
| | 22 | 97,7 ± 4,8 $p_2 < 0,01$ | 166,0 ± 8,5 $p_{2,4} < 0,001$ | 0,65 ± 0,03 $p_{2,4} < 0,001$ | 62,8 ± 1,2* $p_2 < 0,001$ |

Достоверность различий относительно: p_1 — интактных животных; p_2 — контроля; p_3 — доксорубицина; p_4 — мексидола в аналогичные сроки исследования.

* Достоверность различий относительно 14 сут эксперимента в группе ($p < 0,05$).

апертурой 0,65. Исследуемые образцы крови наносили на специальное предметное стекло с зеркальной поверхностью и помещали под объектив микроскопа. Обработку фазовых изображений, регистрацию площади эритроцитов и средней величины оптической разности хода (ОРХ) лучей проводили с помощью программы FIJI. Рассчитывали геометрическую высоту (толщину) эритроцита и плотность упаковки гемоглобина в эритроците [2]. Фазовый объем клетки вычисляли как произведение площади клетки на ее толщину.

Изготавливали мазки крови на предметном стекле с последующим его изучением методом спектроскопии комбинационного рассеяния (КР). Исследование выполняли с помощью рамановского дисперсионного спектрометра in viaBasis фирмы Renishaw, интегрированного с микроскопом Leica 2500M, с короткофокусным высокосветосильным монохроматором (фокусное расстояние не более 250 мм), длина волны излучения используемого лазера составляла 532 нм, мощность излучения 5 мВт, объектив × 50. Регистратор данных

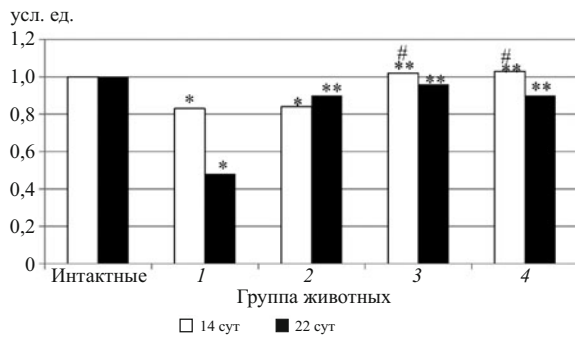
— CCD детектор (1024 × 256 пикселей с Пельтье охлаждением до -70 °С). Оцифрованные спектры обрабатывали в программе WIRE 3.3. Производили коррекцию базовой линии, сглаживание спектров. Положение и амплитуда полос в спектре КР при исследовании конформации и свойств гемоглобина отражает структурное и функциональное состояние гемоглобина. Спектроскопия КР позволяет исследовать состояние атома железа и лигандов, связанных с ним, по изменению структуры тетрапиррольного циклогемопорфирина гемоглобина. По отношениям интенсивности полос анализировали характеристики КР-спектров эритроцитов: $I_{1375}/(I_{1355} + I_{1375})$ — уровень оксигемоглобина в эритроцитах, I_{1355}/I_{1550} — способность молекул гемоглобина в эритроцитах связывать кислород, I_{1375}/I_{1580} — способность молекул гемоглобина отдавать кислород, $(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$ — сродство молекул гемоглобина к кислороду, I_{1375}/I_{1172} — выраженность симметричных и асимметричных колебаний пиррольных колец, отражающая конформационные

Таблица 2. Структурно-функциональные характеристики гемоглобина у крыс с карциномой Walker-256 после введения ксимедона и мексидола на фоне доксорубина ($M \pm m$)

| Показатель | Срок, сут | Группа | | | | |
|--|-----------|--------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| | | интактные | 1 – W-256 (контроль) | 2 – W-256 + доксорубин | 3 – W-256 + доксорубин + мексидол | 4 – W-256 + доксорубин + ксимедон |
| Количество оксигемоглобина в эритроцитах, отн. ед. | 14 | 0,66 ± 0,007 | 0,62 ± 0,01 $p_1 < 0,01$ | 0,76 ± 0,01 $p_{1,2} < 0,001$ | 0,64 ± 0,01 $p_3 < 0,001$ | 0,71 ± 0,01 $p_{1,3,4} < 0,05$ |
| | 22 | | 0,53 ± 0,005* $p_1 < 0,001$ | 0,63 ± 0,01* $p_1 < 0,01$ | 0,62 ± 0,01 $p_{1,2} < 0,001$ | 0,7 ± 0,005 $p_{1,2,3,4} < 0,001$ |
| Способность гемоглобина связывать кислород, отн. ед. | 14 | 0,62 ± 0,01 | 0,67 ± 0,03 | 0,43 ± 0,03 $p_{1,2} < 0,001$ | 0,68 ± 0,04 $p_3 < 0,01$ | 0,53 ± 0,03 $p_{1,3,4} < 0,05$ |
| | 22 | 0,62 ± 0,01 | 0,91 ± 0,02* $p_1 < 0,001$ | 0,61 ± 0,04* $p_2 < 0,001$ | 0,68 ± 0,014 $p_{1,2} < 0,01$ | 0,53 ± 0,015 $p_{1,2,3,4} < 0,05$ |
| Способность гемоглобина отдавать кислород, отн. ед. | 14 | 0,66 ± 0,014 | 0,67 ± 0,02 | 0,58 ± 0,014 $p_{1,2} < 0,001$ | 0,59 ± 0,01 $p_{1,2} < 0,05$ | 0,63 ± 0,02 $p_{3,4} < 0,05$ |
| | 22 | 0,66 ± 0,014 | 0,82 ± 0,02* $p_1 < 0,001$ | 0,62 ± 0,01 $p_{1,2} < 0,05$ | 0,62 ± 0,01* $p_{1,2} < 0,05$ | 0,58 ± 0,01* $p_{1,2,3,4} < 0,05$ |
| Сродство гемоглобина к кислороду, отн. ед. | 14 | 0,95 ± 0,02 | 1,0 ± 0,03 | 0,72 ± 0,04 $p_{1,2} < 0,001$ | 1,17 ± 0,06 $p_{1,3} < 0,001$ | 0,84 ± 0,04 $p_{1,3,4} < 0,05$ |
| | 22 | 0,95 ± 0,02 | 1,12 ± 0,03* $p_1 < 0,001$ | 0,97 ± 0,05* $p_2 < 0,01$ | 1,1 ± 0,03 $p_{1,3} < 0,05$ | 0,92 ± 0,03 $p_{2,4} < 0,05$ |
| Выраженность симметричных и асимметричных колебаний пиррольных колец, отн. ед. | 14 | 1,42 ± 0,04 | 1,35 ± 0,05 | 2,51 ± 0,35 $p_{1,2} < 0,01$ | 1,18 ± 0,05 $p_{1,3} < 0,001$ | 1,96 ± 0,09 $p_{1,2,4} < 0,001$ |
| | 22 | 1,42 ± 0,04 | 0,95 ± 0,03 $p_1 < 0,001$ | 1,59 ± 0,15* $p_2 < 0,001$ | 1,18 ± 0,04 $p_{1,2,3} < 0,05$ | 1,65 ± 0,04* $p_{1,2,4} < 0,05$ |
| Содержание комплексов гемоглобин — NO I типа, отн. ед. | 14 | 0,42 ± 0,007 | 0,5 ± 0,03 $p_1 < 0,01$ | 0,41 ± 0,02 $p_2 < 0,05$ | 0,44 ± 0,012 | 0,43 ± 0,02 |
| | 22 | 0,42 ± 0,007 | 0,73 ± 0,02* $p_1 < 0,001$ | 0,43 ± 0,01 $p_2 < 0,001$ | 0,41 ± 0,01* $p_2 < 0,001$ | 0,4 ± 0,01 $p_2 < 0,001$ |
| Содержание комплексов гемоглобин — NO II типа, отн. ед. | 14 | 0,18 ± 0,008 | 0,29 ± 0,04 $p_1 < 0,01$ | 0,24 ± 0,02 $p_1 < 0,01$ | 0,21 ± 0,02 $p_2 < 0,05$ | 0,28 ± 0,03 $p_{1,4} < 0,05$ |
| | 22 | 0,18 ± 0,008 | 0,56 ± 0,02* $p_1 < 0,001$ | 0,21 ± 0,016 $p_2 < 0,001$ | 0,17 ± 0,004 $p_{2,3} < 0,05$ | 0,18 ± 0,01* $p_2 < 0,001$ |

Достоверные различия в сравнении: p_1 — с интактными животными; p_2 — с группой 1; p_3 — с группой 2; p_4 — с группой 3 в аналогичные сроки;

* достоверные различия в группе на 22 день относительно 14 сут, $p < 0,05$.



Плотность упаковки гемоглобина в эритроците у крыс с карциномой Walker-256 после введения ксимедона или мексидола на фоне доксорубина.

1 — Walker-256 (контроль); 2 — Walker-256 + доксорубин; 3 — Walker-256 + доксорубин + мексидол; 4 — Walker-256 + доксорубин + ксимедон.

* $p < 0,05$, по сравнению с интактными крысами; ** $p < 0,05$, по сравнению с контролем; # $p < 0,05$, по сравнению с применением доксорубина.

изменения пирролов, I_{1618}/I_{1580} — число комплексов гемоглобина с NO при наличии связи атома Fe^{2+} с глобином (комплекс I типа), I_{1668}/I_{1580} — число комплексов гемоглобина с NO при отсутствии связи атома Fe^{2+} с глобином (комплекс II типа) [1].

Статистический анализ первичных данных включал расчет показателей средних арифметических значений (M) и их стандартных ошибок (m). Проверка характера распределения данных в выборочных совокупностях проводилась с использованием теста Колмогорова — Смирнова. При нормальном характере распределения оценку статистической значимости различий величин проводили с использованием t -критерия Стьюдента, при распределении, отличном от нормального, — с применением U -критерия Манна — Уитни. За уровень статистически значимых принимали изменения при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ морфометрических показателей эритроцитов в контрольной (1-й) группе крыс выявил достоверное уменьшение фазового объема клеток на 17,5 % на 14 сут эксперимента, а к 22 сут — прогрессирующее снижение всех исследуемых геометрических показателей: площади (на 27,2 %, $p < 0,01$), средней оптической разницы хода-ОРХ (на 33,3 %), толщины (высоты) (на 33,3 %) и объема эритроцитов (на 51 %), по сравнению с интактными животными, $p < 0,001$ (табл. 1). Изменениям геометрических размеров клеток сопутствовало уменьшение плотности упаковки молекул гемоглобина на 17,3 и 51,5 %, соответственно 14-м и 22-м суткам опыта (рисунок). Не исключено, что уже на 14 сут эксперимента происходит перераспределение гемоглибиновых фракций, которое значительно усиливается к концу эксперимента [2]. Возможно, в процессе опухолевой прогрессии и сопутствующей и усиливающейся эндогенной интоксикации,

в том числе связанной с активацией перекисного окисления липидов, развиваются изменения в эритроцитах, соответствующие явлениям эритроза [6, 12].

Применение доксорубина сопровождалось уменьшением площади и объема эритроцитов на 17 и 16 %, соответственно, на 14 сут эксперимента в сочетании с уменьшением плотности упаковки гемоглобина в эритроцитах на 16 %, $p < 0,01$. Однако к 22 сут опыта морфометрические параметры эритроцитов восстанавливались до исходных значений. Вероятно, на фоне реализации противоопухолевого эффекта и подавления опухолевой прогрессии уменьшаются и негативные изменения в геометрии эритроцитов.

Ксимедон предупреждал формирование изменений геометрических показателей эритроцитов на 14 сут эксперимента: площадь эритроцитов и их объем достоверно превышали соответствующие параметры в группе с доксорубином на 21 и 22 % при $p < 0,01$ и не отличались от таковых у интактных крыс (табл. 1). Плотность упаковки гемоглобина эритроцита также нормализовалась (рисунок). К концу опыта морфометрические параметры эритроцитов также не отличались от исходных. Аналогичные изменения наблюдали и при использовании мексидола.

Известно, что в зависимости от распределения гемоглобина в эритроците изменяется как его деформируемость, так и способность образовывать комплексы с лигандами. При оценке структурно-функциональных характеристик гемоглобина в контрольной группе на 14 день опыта уменьшался уровень оксигемоглобина в эритроцитах на 6 % в сочетании с ростом числа комплексов гемоглобин-NO I и II типа на 25 и 61 %, соответственно (табл. 2). NO-производные гемоглобина рассматриваются как депо и переносчики NO в кровеносном русле, при этом комплекс II типа (при отсутствии связи Fe^{2+} с глобином) регулирует способность гемоглобина отдавать кислород [7]. Поэтому рост числа комплексов гемоглобин — NO может быть связан с компенсацией оксигенации и кровоснабжения в ответ на развивающуюся гипоксию. Однако известно, что сродство NO к Fe^{2+} гема выше, сравнительно с кислородом, в связи с чем NO конкурирует с кислородом за связь с гемоглобином. Вместе с тем усиленная генерация NO в организме возможна при опухоли из-за активации экспрессии генов индуцированной NO-синтазы [7]. На 22 день опыта уровень оксигемоглобина снижался на 24 % на фоне роста числа комплексов гемоглобин — NO I и II типа в 1,8 и 3 раза, соответственно ($p < 0,01$). Эти изменения сопровождалось, вероятно, компенсаторным ростом сродства гемоглобина к кислороду в сочетании с увеличением способности связывать и выделять кислород.

На фоне применения доксорубина к 14 сут эксперимента уровень оксигемоглобина превышал исходный показатель на 13 %, сродство гемоглобина к кислороду уменьшалось на 24 %, а способность гемоглобина связывать и отдавать кислород — на 30 и 12 %

соответственно ($p < 0,01$). Число комплексов гемоглобин — NO I типа уменьшалось относительно контроля на 18 % (табл. 2). Эти изменения, вероятно, связаны с конформационными изменениями гемоглобина, о чем свидетельствует также повышение выраженности симметричных и асимметричных колебаний пиррольных колец по сравнению с аналогичными показателями у интактных крыс [1]. Снижение возможности утилизации кислорода тканями при уменьшении способности гемоглобина связывать и выделять кислород может усиливать гипоксические изменения в клетках органов и тканей.

На 22 сут эксперимента у животных 2 группы регистрировали гипоксемию — уровень оксигемоглобина на 6 % снижен относительно интактных крыс, а сродство гемоглобина к кислороду, способность связывать и отдавать кислород понижались на 13, 33 и 24 %, соответственно ($p < 0,05$). Число комплексов гемоглобин — NO I и II типа достоверно снижалось в 1,7 и 2,8 раза, соответственно, в сравнении с животными 1 группы.

Ксимедон снижал уровень оксигемоглобина в эритроцитах на 14 сут опыта на 6,7 % относительно группы с использованием только доксорубина, а сродство гемоглобина к кислороду увеличилось на 17 % (табл. 2). Данные изменения могут указывать на улучшение кислородтранспортной функции гемоглобина и оптимизации потока кислорода в ткани.

На 22 сут у крыс, получавших ксимедон, доля оксигемоглобина в эритроцитах повышалась на 13 % ($p < 0,001$) по сравнению с животными 2 группы. Число комплексов гемоглобин — NO I и II типа и сродство гемоглобина к кислороду не отличались от исходных показателей, а способность молекул гемоглобина связывать и отдавать кислород снижалась соответственно на 13 и 6 % относительно животных, получавших только доксорубин. Нормализация сродства гемоглобина к кислороду оптимизирует дезоксигенацию оксигемоглобина в тканях. Повышение уровня оксигемоглобина на фоне уменьшения способности отдавать кислород, вероятно, ведет к сдерживанию потока кислорода в ткани, что может препятствовать созданию избыточных концентраций кислорода в клетках и росту интенсивности свободнорадикального окисления. Однако более выраженное снижение способности гемоглобина отдавать кислород может усиливать гипоксию.

У крыс, получавших мексидол, на 14 сут опыта отмечали нормализацию доли оксигемоглобина в эритроцитах и его способности связывать кислород. При этом сродство гемоглобина к кислороду возрастало на 22 %, а способность отдавать кислород снижалась на 11 % ($p < 0,05$), по сравнению с интактными крысами (табл. 2). Число комплексов гемоглобин — NO I и II типа не отличалось от исходных показателей. Выявленное повышение сродства гемоглобина к кислороду и снижение способности отдавать кислород в сочета-

нии с нормализацией уровня оксигемоглобина в крови не исключает в определенной степени улучшения утилизации кислорода тканями. Повышение сродства гемоглобина к кислороду способствует лучшей оксигенации крови, но при этом может нарушаться дезоксигенация оксигемоглобина в тканях, что может провоцировать развитие тканевой гипоксии. Однако есть и противоположные данные: показано уменьшение поражения мозга при экспериментальном инсульте после введения рекомбинантного полимерного гемоглобина с высоким сродством к кислороду [14].

К 22 сут эксперимента в группе крыс, получавших мексидол, выявляли гипоксемию (аналогично использованию одного цитостатика) на фоне повышения сродства гемоглобина к кислороду (на 13 % относительно группы с доксорубицином, $p < 0,05$). Способность гемоглобина связывать и отдавать кислород не отличалась от таковой у животных, которым вводили доксорубин. Число комплексов гемоглобин — NO I, II типа было на уровне исходных значений интактных крыс. Развивающаяся гипоксемию свидетельствует о наличии гипоксии.

Таким образом, доксорубин способствует ухудшению кислородтранспортной функции эритроцитов, особенно в ранние сроки после его введения. Ксимедон эффективнее мексидола, но кратковременно (на 14 сут опыта) улучшает кислородтранспортную функцию гемоглобина с нормализацией его способности отдавать кислород и умеренным ростом сродства гемоглобина к кислороду у крыс с карциномой Walker-256 после химиотерапии доксорубицином. Мексидол, увеличивая рост сродства гемоглобина к кислороду выше исходного уровня, со снижением способности гемоглобина отдавать кислород ухудшает поступление кислорода в ткани.

Однако к 22 сут эксперимента у крыс, получавших ксимедон, показатели способности гемоглобина связывать и отдавать кислород снижаются, что может свидетельствовать об ухудшении кислородтранспортной функции гемоглобина. Повышение уровня оксигемоглобина может сдерживать избыточный поток кислорода в ткани и препятствовать росту интенсивности свободнорадикального окисления. У крыс, получавших мексидол, к 22 сут опыта на фоне гипоксемии способность гемоглобина связывать и отдавать кислород повышается. Это создает предпосылки для облегчения отдачи кислорода кровью в капиллярах.

Полученные данные указывают на важную роль улучшения структурно-функционального состояния эритроцитов и гемоглобина в реализации гематопротекторного эффекта ксимедона при применении доксорубина на 14 сут исследования, углубляя таким образом имеющиеся сведения о фармакодинамике ксимедона. Снижение эффекта ксимедона к 22 сут эксперимента в сравнении с мексидолом может быть обусловлено особенностями в механизме действия препаратов, по-разному влияющими, возможно, на сдвиги в

липидном спектре мембран и метаболизме эритроцитов, а также конформационные изменения гемоглобина. Улучшение структурно-функционального состояния эритроцитов и гемоглобина под действием антигипоксантов на фоне доксорубина может препятствовать “утяжелению” гипоксии, способствуя уменьшению метаболических нарушений в органах и тканях.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости доклинического изучения возможностей ксимедона в снижении токсичности противоопухолевой химиотерапии в отношении “здоровых” тканей (гепато-, нефро-, нейро-, гонадотоксичности) с последующим клиническим исследованием эффективности ксимедона в снижении побочных эффектов антибластомных средств.

ВЫВОДЫ

1. Доксорубин (8 мг/кг внутривенно однократно) вызывает значимые изменения морфометрических показателей эритроцитов, что сочетается с конформационными изменениями гемоглобина и снижением его кислородтранспортной функции, уменьшением сродства гемоглобина к кислороду. К 22 сут опыта отмечена нормализация формы эритроцитов. При этом конформационные изменения гемоглобина и снижение кислородтранспортной функции эритроцитов сохраняются.

2. Ксимедон (100 мг/кг в течение 10 дней внутримышечно) предупреждает изменения морфометрических показателей эритроцитов крыс с карциномой Walker-256 на протяжении всего периода исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. М. Абатурова, Д. В. Багров, А. А. Байжуманов и др., *Нанобиотехнологии*, Практикум, БИНОМ. Лаб. знаний, Москва (2012).
2. С. С. Бочкарева, *Дис. канд. биол. наук*, Москва (2016).
3. И. Х. Валеева, А. Ф. Титаренко, В. Н. Хазиахметова, Л. Е. Зиганшина, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **79**(1), 33 – 37 (2016).
4. В. В. Жиленко, С. П. Залеток, *Сиб. онкол. ж.*, № 2, 58 – 61 (2013).
5. В. А. Масыгин, А. В. Сипров, Н. Д. Волкова и др., *Совр. проблемы науки и образов.*, № 3 (2015); URL: <http://www.science-education.ru/> 123 – 19818.
6. И. В. Миндукшев, В. В. Кривошлык, И. А. Добрылко и др., *Биол. мембраны*, **27**(1), 28 – 38 (2010).
7. А. Н. Осипов, *Успехи биол. химии*, **47**, 259 – 292 (2007).
8. И. В. Петрова, О. А. Трубачева, С. В. Гусакова, *Вестн. Томского гос. университета*, № 346, 165 – 168 (2011).
9. Д. Ю. Семин, Ю. С. Мардынский, В. С. Медведев и др., *Вопр. онкол.*, **61**(1), 125 – 129 (2015).
10. А. В. Сипров, Н. И. Микуляк, Ю. А. Кинзирская, *Антиоксиданты как средства снижения гематотоксичности химио- и лучевой терапии злокачественных опухолей*, Изд-во ПГУ, Пенза (2012).
11. П. И. Скопин, А. В. Зорькина, Ю. А. Скопина, О. В. Минаева, *Совр. проблемы науки и образов.*, № 6 (2012); URL: <http://www.science-education.ru/> / ru / view?id=8026.
12. М. Н. Стародубцева, *Проблемы здоровья и экол.*, **1**(19), 117 – 122 (2009).
13. А. И. Юсипович, Н. А. Браже, О. Г. Лунева и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **155**(2), 201 – 203 (2013).
14. R. C. Koehler, C. Fronticelli, E. Bucci, *Biochim. Biophys. Acta*, **1784**, 1387 – 1394 (2008).

Поступила 10.12.19

MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF ERYTHROCYTES IN RATS WITH WALKER-256 CARCINOMA UNDER COMBINED TREATMENT WITH DOXORUBICIN AND XYMEDON

A. V. Siprov, V. A. Masyagin, E. V. Tyutyayev, and I. V. Syusin

Institute of Medicine, N. P. Ogarev Mordovia State University, ul. Bolshevistskaya 68, Saransk, Mordovia, 430005 Russia

The influence of xymedon (100 mg/kg once intramuscularly for 10 days starting from day 11 after tumor cells injection) in comparison with mexidol (50 mg/kg once intramuscularly for 10 days starting from day 11 after tumor cells injection) on the erythrocytes morphometric parameters and oxygen transport function of hemoglobin in rats with Walker-256 carcinoma under conditions of doxorubicin chemotherapy has been studied in experiment. It is established that xymedon and mexidol comparably prevent changes in the geometry of erythrocytes associated with the use of doxorubicin (decrease in the area and volume of erythrocytes) and tumor progression (decrease in the volume of erythrocytes). Both drugs restore the area and volume of erythrocytes by 21% and 22%, respectively, on 14th day after tumor cells injection. Xymedon optimizes the oxygen transport function of hemoglobin in the early periods after doxorubicin administration (14th day of experiment) more effectively than does mexidol, increasing the ability of hemoglobin to release oxygen by 9% (7% more in comparison to mexidol, $p < 0.05$) at a moderate (17%) increase in the affinity of hemoglobin for oxygen (28% lower in comparison to mexidol, $p < 0.05$). At the late stage of research (22nd day of experiment) xymedon is less effective than mexidol in correction of the oxygen transport function of hemoglobin (the ability of hemoglobin to bind and release oxygen is reduced by 13 and 6%, respectively, in comparison to doxorubicin monotherapy and by 22 and 6.5% in comparison to mexidol, $p < 0.05$).

Keywords: erythrocytes; morphometric parameters; oxygen transport function; doxorubicin; xymedon; mexidol; rats.