

ПРОТИВОБЛАСТОМНЫЕ СРЕДСТВА

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-5-11-16

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ И СВОБОДНОЙ ФОРМЫ МЕКСИДОЛА В СОЧЕТАНИИ С АНТИБЛАСТОМНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ НА СОСТОЯНИЕ ГРАНУЛОЦИТОПОЭЗА КРЫС С КАРЦИНОМОЙ WALKER-256

А. В. Сипров, М. А. Соловьева, В. П. Агеев¹

Проведено сравнительное изучение влияния липосомальной и свободной формы мексидола (25 и 50 мг/кг однократно ежедневно 5 дней внутривенно с 11 сут после имплантации клеток карциномы Walker-256) на гранулоцитарный росток гемопоэза и содержание лейкоцитов в периферической крови крыс на фоне применения липосомальной комбинации доксорубицина и циклофосфамида. Показано, что липосомальная форма мексидола в дозе 25 мг/кг способствует заметной активации гранулоцитопоэза уже на 3 сут после введения липосомальных цитостатиков, увеличивая содержание миелоцитов и метамиелоцитов в 2,8 и 3 раза, соответственно ($p < 0,05$), по сравнению с введением только липосомальных цитостатиков. При этом липосомальный мексидол в дозах 25 и 50 мг/кг эффективнее, чем этот препарат в свободной форме в аналогичных дозах увеличивает содержание нейтрофилов в периферической крови в 2,5 и 3,4 раза, соответственно ($p < 0,05$). К 7-м суткам после использования липосомальной комбинации доксорубицина и циклофосфамида липосомальный мексидол в дозах 25 и 50 мг/кг, в отличие от свободной формы, увеличивает содержание нейтрофилов в периферической крови в 2 раза (до исходного значения, $p < 0,05$), по сравнению с введением только цитостатиков крысам с карциномой Walker-256. При этом содержание лимфоцитов и моноцитов также достигает исходных значений.

Ключевые слова: лейкоциты; гранулоцитопоэз; липосомы; доксорубицин; циклофосфамид; мексидол; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Современная лекарственная терапия злокачественных новообразований с применением новых и традиционных цитостатических лекарственных средств (ЛС) сопряжена с серьезными осложнениями и, в первую очередь, с токсическим действием на гемопоэз. Нейтропения является одним из самых опасных проявлений миелотоксичности и возникает в 30–40 % случаев [6]. Алкилирующие ЛС (циклофосфамид) и антрациклины (доксорубицин), широко применяемые при адьювантной химиотерапии рака молочной железы [3], обладают высокой миелотоксичностью и могут вызывать нейтропению, особенно выраженную при совместном применении, в связи с повреждением ДНК во время репликации в быстро делящихся клетках костного мозга [7]. Липосомальные формы ЛС обладают рядом преимуществ перед свободной формой, в частности, снижением токсичности и повышением терапевтической эффективности за счет улучшения

биораспределения и фармакокинетики [9]. Однако применение цитостатических ЛС в липосомальных формах ограничено снижает их токсическое воздействие на здоровые органы и ткани и не решает проблему миелотоксичности. Поскольку в генезе нежелательных токсических эффектов антибластомных ЛС значимую роль играет избыточная продукция активных форм кислорода с развитием окислительного стресса [12], исследование эффективности цитопротекторов с антиоксидантной активностью для снижения миелотоксичности цитостатических ЛС является патогенетически обоснованным. Известны немногочисленные данные об эффективности липосомальных антиоксидантных средств при ряде патологических состояний [8, 11]. Ранее показан гематопротекторный эффект свободной формы мексидола при доксорубицин- и таксан-содержащей химиотерапии [4], однако не изучена эффективность липосомальных форм производных 3-гидроксипиридина в снижении миелотоксичности режимов применения на основе антрациклинов и алкилирующих средств.

Целью настоящего исследования явилось сравнительное исследование влияния липосомальной и свободной формы мексидола в дозах 25 и 50 мг/кг на со-

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

держание лейкоцитов в периферической крови и показатели гранулоцитопоза у крыс с карциномой Walker-256 на фоне применения доксорубина и циклофосфида в липосомах.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 83 крысах-самках линии Вистар массой 160–270 г. из филиала “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА (Московская область). Животных содержали в стандартных условиях вивария Мордовского государственного университета при естественном световом режиме, 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. Моделирование опухолевого процесса осуществляли введением суспензии клеток карциномы Walker-256 (W-256) (10^6 клеток) под кожу хвоста крыс с последующей гистологической верификацией новообразования светооптическим методом.

Использовали лекарственные формы доксорубина гидрохлорида (EbewePharma, Австрия) в виде 0,04 % раствора на изотоническом растворе натрия хлорида, циклофосфида (Baxteroncology, Германия) в виде 0,45 % раствора на изотоническом растворе натрия хлорида и производного 3-гидроксипиридина мексидола (Фармасофт, Россия) в виде 5 % водного раствора.

Липосомы получали методом гидратации липидной плёнки. Для инкапсуляции циклофосфида 120 мг препарата предварительно растворяли в хлороформе вместе с 500 мг лецитина (Lipoid, Германия) и 50 мг холестерина (Avanti Polar Lipids Inc., США). Хлороформ удаляли на роторном испарителе Heidolph (Германия), формируя липидную плёнку, которую гидратировали 10 мл доксорубина с концентрацией 2 мг/мл. Образовавшуюся полидисперсную смесь последовательно экструдировали с помощью поликарбонатных фильтров (Sartorius, Германия) с диаметром пор 400, 200 и 100 нм. Для удаления невключившихся в липосомы веществ использовали метод ультрафильтрации под давлением инертного газа, за счёт чего также произвели концентрирование препарата, уменьшив итоговый объём до 5 мл. В результате получали комбинированную липосомальную лекарственную форму доксорубина и циклофосфида. Размер липосомальных везикул определяли методом динамического светорассеяния с помощью анализатора размеров наночастиц NANO-flex (США). Липосомальную форму мексидола получали аналогичным способом, используя в качестве гидратирующего раствора водные растворы препарата с концентрациями 25 и 50 мг/мл. Размер полученных липосом в среднем колеблется от 60 до 90 нм.

Концентрацию доксорубина и циклофосфида в липосомах определяли методом УФ-спектрофотометрии с помощью спектрофотометра Shimadzu (Япония). Концентрация доксорубина и циклофосфида в липосомах составила 1,86 и 21,17 мг/мл, соответственно, мексидола — 25 и 50 мг/мл в зависимости от концентрации гидратирующего раствора.

Животные были распределены на 8 групп по 10–12 особей в каждой: 1 группа — интактные крысы, 2 группа — “W-256” — крысы с трансплантированной карциномой Walker-256, не получающие ЛС; 3 группа — “W-256 + доксорубин + циклофосфамид” — крысы с трансплантированной карциномой W-256, получающие комбинацию доксорубина гидрохлорида в дозе 4 мг/кг и циклофосфида в дозе 45 мг/кг в свободной форме однократно в боковую вену хвоста на 11 сут после введения опухолевых клеток; 4 — “W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах” — крысы с трансплантированной карциномой W-256, получающие липосомальную комбинацию доксорубина гидрохлорида в дозе 4 мг/кг и циклофосфида в дозе 45 мг/кг однократно внутривенно на 11 сут после введения опухолевых клеток; 5 — “W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 25” — крысы с трансплантированной карциномой Walker-256, получающие цитостатики в аналогичном 4 группе режиме и мексидол в свободной форме в дозе 25 мг/кг внутривенно ежедневно с начала применения цитостатиков, в течение 5 сут; 6 — “W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 25 в липосомах” — крысы с карциномой Walker-256, получающие на фоне липосомальных цитостатиков липосомальный мексидол в дозе 25 мг/кг внутривенно ежедневно с начала применения цитостатиков, в течение 5 сут; 7 — “W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 50” — крысы с трансплантированной карциномой W-256, получающие цитостатики в вышеуказанном режиме и мексидол в свободной форме в дозе 50 мг/кг внутривенно ежедневно с начала введения цитостатиков, в течение 5 дней; 8 — “W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 50 в липосомах” — крысы с карциномой Walker-256, получающие на фоне липосомальных цитостатиков липосомальный мексидол в дозе 50 мг/кг внутривенно ежедневно с начала применения цитостатиков, в течение 5 дней.

На 3 и 7 сут после введения цитостатических ЛС 5–6 животных из каждой группы выводили из опыта под общей анестезией тиопенталом натрия (50 мг/кг). Определение показателей периферической крови (лейкоциты и лейкоцитарная формула) и дифференциальный подсчет миелограмм в мазках костного мозга из бедренной кости крыс производили стандартными гематологическими методами.

Статистический анализ первичных данных включал расчет показателей средних арифметических значений (M) и их стандартных ошибок (m). Оценку статисти-

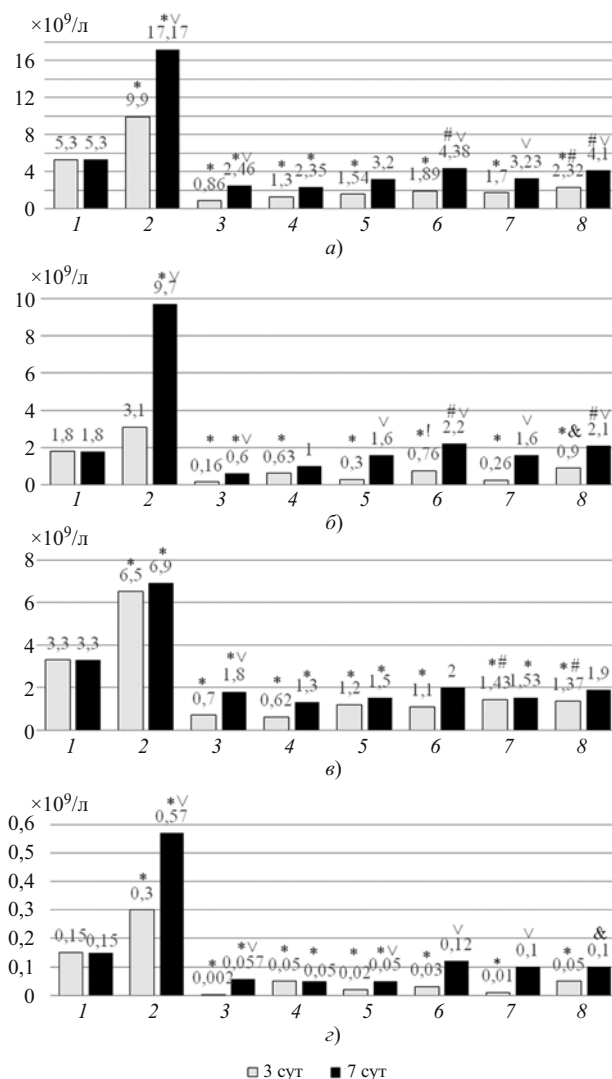
ческой значимости различий величин проводили с использованием U-критерия Манна — Уитни. За уровень статистически значимых принимали изменения при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ периферической крови во 2 группе крыс (W-256) выявил достоверное повышение общего содержания лейкоцитов на 88,7 % ($p < 0,05$) на 14 сут после имплантации опухолевых клеток (соответствует 3 сут после применения цитостатиков в последующих группах), а к 18 сут (соответствует 7 сут после применения цитостатиков в последующих группах) — в 3,2 раза ($p < 0,001$), по сравнению с интактными животными (рисунок).

При этом на 14 сут лейкоцитоз был обусловлен двукратным увеличением содержания лимфоцитов и моноцитов, а на 18 — преимущественным ростом числа нейтрофилов (в 5,4 раза), а также лимфоцитов и моноцитов (в 2 и 3,8 раза, соответственно). В гранулоцитарном ростке кроветворной ткани к 18 сут нарастало число палочкоядерных нейтрофилов на 58,6 % ($p < 0,05$) на фоне снижения содержания сегментоядерных нейтрофилов в 2,3 раза ($p < 0,01$, таблица), вероятно, за счет усиления их выхода в периферическую кровь.

У животных 3 группы на 3 сут после сочетанного применения доксорубина и циклофосфида в свободной форме регистрировалась выраженная лейкопения с уменьшением общего содержания лейкоцитов в 6 раз относительно интактных животных преимущественно за счет нейтрофилов (снижение в 11 раз, $p < 0,01$, рисунок). При этом в костном мозге отмечалась, вероятно, компенсаторная активация пролиферативных процессов в гранулоцитарном ростке кроветворения в виде значимого бластогенного эффекта (содержание бластов увеличивалось в 13,5 раза, $p < 0,01$) с ростом числа миелоцитов в 2,8 раза ($p < 0,001$) относительно интактных крыс (таблица). Известно, что повреждение гемопоэтических элементов цитостатическими ЛС может приводить к образованию большого количества продуктов деструкции, которые, повышая активность гемопоэз-индуцирующего микроокружения, стимулируют активность кроветворных предшественников [1]. Однако на фоне активации пролиферации незрелых предшественников отмечалось подавление дифференцировки созревающих клеток: содержание палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в костном мозге снижалось в 2 и 4,5 раза ($p < 0,01$), соответственно относительно интактных крыс. Таким образом, разобщение процессов пролиферации и дифференцировки клеток гранулоцитарного ряда свидетельствует о “неэффективном гранулоцитопоэзе” [2]. На 7 сут после введения цитостатиков, несмотря на достоверный прирост численности нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов, по сравнению с 3 сут, в периферической крови сохранялась лейкопения: общее содер-



Влияние липосомальной и свободной форм мексидола на общее содержание лейкоцитов (а), нейтрофилов (б), лимфоцитов (в) и моноцитов (г) в периферической крови крыс с карциномой Walker-256 на фоне применения липосомальных доксорубина и циклофосфида.

1 — интактные животные; 2 — W-256; 3 — W-256 + доксорубин + циклофосфамид; 4 — W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах; 5 — W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 25; 6 — W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 50; 7 — W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 50; 8 — W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 50 в липосомах.

* $p < 0,05$, по сравнению с интактными крысами;

$p < 0,05$, по сравнению с группой 4;

! $p < 0,05$, по сравнению с группой 5;

& $p < 0,05$ по сравнению с группой 7 в аналогичные сроки исследования;

^v $p < 0,05$, по сравнению с 3 сут.

жание лейкоцитов было в 2 раза меньше в сравнении с интактными крысами, количество нейтрофилов — в 3 раза, а лимфоцитов и моноцитов — на 45,5 % и в 2,5 раза ($p < 0,05$), соответственно (рисунок). В костном мозге отмечалось торможение процессов пролиферации и дифференцировки клеток гранулоцитарного ряда (снижение содержания метамиелоцитов и сег-

ментоядерных нейтрофилов в 2 и 1,9 раза ($p < 0,05$), соответственно, таблица).

У крыс 4 группы на 3 сут после введения липосомальной комбинации доксорубина и циклофосфида также регистрировалась лейкопения с уменьшением общего содержания лейкоцитов в 4 раза ($p < 0,001$) относительно интактных животных (уровень нейтрофилов и моноцитов снижался в 3 раза, лимфоцитов — в 5,5 раза, $p < 0,05$, рисунок). При этом в костном мозге отмечали равномерное угнетение пролиферации и дифференцировки клеток гранулоцитарного ростка гемопоэза: содержание миелоцитов, метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов снижалось в 2, 3,8 и 2,8 раза ($p < 0,01$), соответственно относительно исходных значений (таблица). Отсутствие

компенсаторной активации пролиферативных процессов в гранулоцитарном ростке кроветворения, вероятно, объясняется менее резким угнетением гемопоэтических элементов за счет использования липосомальной формы препаратов. Способность липосом медленно высвобождать ЛС, уменьшать концентрацию свободных ЛС в крови и препятствовать их быстрой экскреции почками может снижать токсичность и повышать терапевтическую активность ЛС за счет улучшения их биораспределения и фармакокинетики [9]. На 7 сут после введения цитостатиков в периферической крови сохранялась лейкопения: общее содержание лейкоцитов было в 2,2 раза ($p < 0,01$) меньше в сравнении с интактными крысами, преимущественно за счет снижения числа лимфоцитов (в 2,4

Содержание незрелых и зрелых форм нейтрофильных гранулоцитов в костном мозге крыс с карциномой Walker-256 при введении липосомальной и свободной форм мексидола на фоне применения липосомальных доксорубина и циклофосфида ($M \pm m$)

Группа	Срок, сут	Бласты, %	Миелоциты, %	Метамиелоциты, %	Нейтрофилы палочкоядерные, %	Нейтрофилы сегментоядерные, %
1 Интактные крысы	-	0,7 ± 0,1	7,6 ± 0,9	8,1 ± 1,1	11,6 ± 0,9	34,1 ± 4,2
2 W-256	14(3)	1,1 ± 0,2	7,7 ± 1,3	6,9 ± 1,2	9,8 ± 1,3	19,5 ± 4,9 $p_1 < 0,05$
	18(7)	1,1 ± 0,3	13,3 ± 3,1	7,6 ± 2,4	18,4 ± 2,7 $p_1 < 0,05$	14,4 ± 2,0 $p_1 < 0,01$
3 W-256 + доксорубин + циклофосфамид	3	9,5 ± 2,4 $p_{1,2} < 0,01$	20,9 ± 2,5 $p_{1,2} < 0,001$	8,0 ± 1,4	5,43 ± 1,7 $p_1 < 0,01$	7,5 ± 2,0 $p_{1,2} < 0,05$
	7	0,8 ± 0,3	8,9 ± 2,2	4,1 ± 1,3 $p_1 < 0,05$	11,9 ± 2,7	17,9 ± 3,7 $p_1 < 0,05$
4 W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах	3	1,6 ± 0,7 $p_3 < 0,05$	3,7 ± 0,6 $p_1 - 3 < 0,05$	2,1 ± 0,9 $p_1 - 3 < 0,05$	4,24 ± 1,4 $p_{1,2} < 0,05$	30,9 ± 4,4 $p_3 < 0,001$
	7	0,5 ± 0,3	9,0 ± 1,9	12,5 ± 3,7	14,3 ± 3,0	18,2 ± 3,5 $p_1 < 0,05$
5 W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 25	3	1,4 ± 0,5 $p_3 < 0,05$	4,6 ± 1,0 $p_{3,5} < 0,05$	3,8 ± 0,5 $p_{1,3} < 0,05$	6,3 ± 1,6 $p_1 < 0,05$	27,3 ± 2,5 $p_3 < 0,001$
	7	0,1 ± 0,07 $p_1 < 0,01$	5,9 ± 1,2	5,2 ± 0,8	12,1 ± 2,1	24,9 ± 4,3
6 W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 25 в липосомах	3	2,4 ± 0,7 $p_{1,3} < 0,05$	10,5 ± 1,5 $p_3 - 5 < 0,05$	6,3 ± 1,3 $p_4 < 0,05$	7,9 ± 1,7	22,2 ± 4,4 $p_3 < 0,05$
	7	2,4 ± 0,4 $p_1 - 5 < 0,01$	9,1 ± 3,0	10,1 ± 3,09	15,7 ± 2,1	21,3 ± 2,1 $p_1 < 0,05$
7 W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 50	3	3,0 ± 1,3	8,4 ± 2,5 $p_3 < 0,05$	3,75 ± 0,8 $p_1 < 0,05$	4,4 ± 0,1 $p_{1,2} < 0,05$	23,0 ± 3,4 $p_3 < 0,01$
	7	0,4 ± 0,2 $p_5 < 0,01$	11,0 ± 1,6	4,8 ± 0,6	9,2 ± 2,1 $p_2 < 0,05$	24,5 ± 2,8 $p_2 < 0,05$
8 W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 50 в липосомах	3	1,3 ± 0,4 $p_3 < 0,05$	5,6 ± 1,3 $p_3 < 0,001$	3,6 ± 1,1 $p_{1,3} < 0,05$	5,0 ± 1,5 $p_{1,2} < 0,05$	35,0 ± 4,2 $p_3 < 0,001$
	7	2,3 ± 0,8	11,1 ± 3,2	6,7 ± 1,0	12,0 ± 1,7	18,0 ± 2,1 $p_1 < 0,05$

Примечание:

p_1 – достоверность различий относительно интактных животных;

p_2 – относительно группы 2 (W-256);

p_3 – относительно группы 3 (W-256 + доксорубин + циклофосфамид);

p_4 – относительно группы 4 (W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах);

p_5 – относительно группы 5 (W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 25);

p_6 – относительно группы 6 (W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 25 в липосомах);

p_7 – относительно группы 7 (W-256 + доксорубин + циклофосфамид в липосомах + мексидол 50) в аналогичные сроки исследования; достоверность различий относительно 3 сут ($p < 0,05$).

раза) и моноцитов (в 3 раза, $p < 0,05$, рисунок). Содержание нейтрофилов имело тенденцию к нарастанию и одновременно не отличалось от соответствующего значения в интактной и 3 группах крыс. Однако, значимого ускорения роста численности нейтрофилов, а также лимфоцитов и моноцитов в сравнении с 3 сут, наблюдавшегося у животных 3 группы, в 4 группе крыс не отмечалось. В костном мозге при этом отмечалось восстановление численности пролиферирующей группы клеток, вероятно, с отставанием процесса дифференцировки созревающих клеток (палочкоядерных нейтрофилов), что обуславливает снижение содержания сегментоядерных нейтрофилов на 46 % ($p < 0,05$) относительно интактных крыс. В то же время уменьшение числа сегментоядерных нейтрофилов может быть связано с выходом их в периферическую кровь, что создает тенденцию к нарастанию их количества в крови.

В 5 и 7 группах животных дополнительное введение свободного мексидола в дозах 25 и 50 мг/кг, соответственно не корригировало выраженность лейкопении (нейтропении и моноцитопении) на 3 сут, однако мексидол в дозе 50 мг/кг способствовал увеличению числа лимфоцитов в периферической крови в 2 раза ($p < 0,05$) относительно 4-й группы крыс (с введением только липосомальных цитостатиков). При этом в костном мозге при использовании свободного мексидола в обеих дозах отмечали признаки угнетения пролиферации и дифференцировки клеток гранулоцитопоэза, которые не отличались от таковых для крыс 4 группы (снижение содержания метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов в среднем в 2,1 раза ($p < 0,05$) относительно интактных крыс). На 7 сут общее содержание лейкоцитов, нейтрофилов в крови животных 5 и 7 групп одновременно не отличалось от таковых у интактных животных и в 4 группе крыс (с введением только липосомальных цитостатиков), а в костном мозге показатели гранулоцитопоэза уже не отличались от исходных значений.

У крыс 6 группы дополнительное введение липосомального мексидола в дозе 25 мг/кг в сравнении с 4 группой животных хотя и не сопровождалось значимым увеличением числа нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов в периферической крови на 3 сут после введения липосомальных цитостатиков, но количество нейтрофилов превышало соответствующий показатель в группе с использованием свободной формы мексидола в аналогичной дозе в 2,5 раза ($p < 0,05$). При этом в костном мозге отмечалась заметная активация гранулоцитопоэза с ростом численности бластов в 3 раза ($p < 0,05$) относительно интактных животных, а также миелоцитов и метамиелоцитов в 2,8 и 3 раза, соответственно относительно применения липосомальных цитостатических ЛС ($p < 0,05$). К 7 сут содержание нейтрофилов в периферической крови возрастало в 2,2 раза ($p < 0,05$) в сравнении с 4-й группой крыс, способствуя росту общей численности лейкоцитов на

84 % (до исходного уровня). При этом количество лимфоцитов и моноцитов также достигало исходных значений. В костном мозге на фоне превышения числа бластных клеток в 3 раза относительно исходных значений и нормализации численности пролиферирующей группы клеток отмечалось снижение содержания сегментоядерных нейтрофилов на 37,5 % ($p < 0,05$), по сравнению с интактными крысами, что, вероятно, может быть обусловлено усиленным выходом зрелых нейтрофилов в периферическую кровь.

У животных 8 группы дополнительное введение липосомального мексидола в дозе 50 мг/кг приводило к 3 сут к росту в крови общего содержания лейкоцитов на 76 % преимущественно за счет двукратного увеличения количества лимфоцитов ($p < 0,05$), по сравнению с 4 группой крыс. Одновременно с этим количество нейтрофилов превышало соответствующий показатель в группе с использованием свободной формы мексидола в аналогичной дозе в 3,4 раза ($p < 0,05$). В костном мозге отмечалась менее заметная активация гранулоцитопоэза. Так, содержание миелоцитов достигало исходного значения, однако уровень метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов оставался ниже, чем у интактных животных, в 2,2 раза ($p < 0,05$). К 7 сут, в отличие от свободной формы мексидола в дозе 50 мг/кг, отмечалось увеличение содержания нейтрофилов в 2,1 раза ($p < 0,05$) с ростом общей численности лейкоцитов на 74 % в сравнении с 4 группой крыс. При этом количество лимфоцитов и моноцитов также достигало исходных значений. В гранулоцитарном ростке, как и при использовании в дозе 25 мг/кг, на фоне нормализации численности пролиферирующей группы клеток отмечалось снижение содержания сегментоядерных нейтрофилов на 47 % ($p < 0,05$), по сравнению с интактными крысами.

Таким образом, липосомальный мексидол, по сравнению с его свободной формой, способствует более раннему восстановлению гранулоцитопоэза и содержания лейкоцитов в периферической крови после введения липосомальных доксорубина и циклофосфамида. Вероятно, это может быть обусловлено взаимодействием мексидола и его липосомальной структуры: компоненты липосомальной оболочки могут оказывать дополнительный восстанавливающий эффект на поврежденные клеточные мембраны, обладают антигипоксическим, антиоксидантным действием и способствуют поддержанию энергетического метаболизма гипоксигенированных тканей [10]. Известен мембраностабилизирующий эффект липосомальных комплексов, "нагруженных" антиоксидантами [5]. Кроме того, предупреждение преждевременной деградации субстанции липосом, постепенное ее высвобождение сопровождается удлинением терапевтического эффекта [10]. При этом липосомальный мексидол в дозе 25 мг/кг не только сопоставим по эффективности с этим препаратом с дозой 50 мг/кг, но и, вероятно, является более перспективным, учитывая

более четкую динамику восстановления гранулоцитопоза.

Полученные в работе результаты открывают новые возможности для разработки путей повышения эффективности цитопротекторов с антиоксидантной активностью, в том числе производных 3-гидроксипиридина, для снижения гематологической и других видов токсичности противоопухолевых ЛС с последующим клиническим исследованием их эффективности.

ВЫВОДЫ

1. Липосомальная комбинация доксорубина (4 мг/кг) и циклофосфамида (45 мг/кг, внутривенно однократно), в отличие от комбинации их свободных форм, вызывает умеренное угнетение пролиферации и дифференцировки клеток гранулоцитарного ряда (в среднем на 62,7 %, $p \leq 0,01$) с отсутствием компенсаторной активации регенераторных процессов в гранулоцитопозе к 3 сут после введения цитостатиков. Восстановление численности пролиферирующей группы клеток гранулоцитопоза в костном мозге с сохранением торможения процессов дифференцировки к 7 сут после введения липосомальных препаратов происходит без сопутствующего значимого ускорения роста общей численности лейкоцитов (нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов) в периферической крови.

2. Липосомальный мексидол в дозах 25 и 50 мг/кг (в течение 5 дней внутривенно) в целом способствует более раннему восстановлению гранулоцитопоза после введения липосомальных доксорубина и циклофосфамида (к 3 сут число нейтрофилов в периферической крови превышает таковое при использовании в аналогичных дозах свободной формы мексидола в 2,5 и 3,4 раза, соответственно, $p < 0,05$). При этом липосомальный мексидол в дозе 25 мг/кг способствует более заметной активации гранулоцитопоза на 3 сут (содержание миелоцитов и метамиелоцитов возрастает в 2,8 и 3 раза, соответственно, относительно результатов применения липосомальных цитостатических ЛС

($p < 0,05$). К 7 сутк после введения липосомальных цитостатических ЛС липосомальный мексидол в дозах 25 и 50 мг/кг, в отличие от его свободной формы, равнозначно купирует лейкопению (общее число лейкоцитов возрастает на 84 и 74 %, соответственно, при двукратном росте числа нейтрофилов ($p < 0,05$) относительно использования только липосомальных цитостатических ЛС, при этом уровень лимфоцитов и моноцитов также достигает исходных значений).

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Е. Гольдберг, Т. Ю. Хричкова, Н. О. Попова и др., *Сибирский онкол. журн.*, **15**(5), 18–24 (2016); doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-5-18-24.
2. А. М. Дыгай, В. В. Жданов, *Бюл. СО РАМН*, **32**(1), 21–30 (2012).
3. И. А. Королева, М. В. Копп, Е. М. Липаева, *Мед. совет*, № 14, 112–117 (2017); doi: 10.21518/2079-701X-2017-14-112-117.
4. В. А. Масягин, А. В. Сипров, Н. Д. Волкова и др., *Современные проблемы науки и образования*, № 3, URL: <http://www.science-education.ru/123-19818> (2015).
5. Р. А. Мухамадияров, Н. Л. Воронцова, В. В. Борисов и др., *Бюл. сибирской мед.*, № 4, 130–135 (2012).
6. А. А. Налётов, Е. А. Шмальц, П. Б. Зотов и др., *Паллиативная медицина и реабилитация*, № 3, 37–41 (2019).
7. О. Д. Остроумова, А. И. Кочетков, Е. Е. Павлеева, Е. В. Кравченко, *Безопасность и риск фармакотерапии*, **8**(3), 109–122 (2020); doi: 10.30895/2312-7821-2020-8-3-109-122.
8. Т. В. Уланова, В. И. Инчина, С. В. Шокина и др., *Современные проблемы науки и образования*, № 2, URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26316> (2017).
9. А. Е. Шахмаев, А. Л. Кацай, В. В. Прохоров и др., *Ремедиум*, № 12, 56–59 (2015); doi: 10.21518/1561-5936-2015-12-56-59.
10. В. И. Швец, А. И. Лютик, *Вестник МИТХТ*, **9**(3), 11–20 (2014).
11. M. Attia, E. A. Essa, R. M. Zaki, A. A. Elkordy, *Antioxidants (Basel)*, **9**(5), 359 (2020); doi: 10.3390/antiox9050359.
12. K. Singh, M. Bhoori, Y. A. Kasu, et al., *Saudi Pharm. J.*, **26**(2), 177–190 (2018); doi: 10.1016/j.jsps.2017.12.013.

Поступила 28.02.21

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE EFFECT OF LIPOSOMAL AND FREE FORMS OF MEXIDOL IN COMBINATION WITH ANTITUMOR MEDICATIONS ON THE GRANULOCYTOPOIESIS STATE OF RATS WITH WALKER-256 CARCINOMA

A. V. Siprov¹, M. A. Solov'eva¹, and V. P. Ageev¹

¹ Institute of Medicine, Ogarev Mordovia State University, ul. Bolshevistskaya 68, Saransk, 430005 Russia

It was compared the effects of liposomal and free forms of mexidol (25 and 50 mg/kg once intravenously for 5 days starting from day 11 after Walker-256 carcinoma cells injection) on granulocytopenia and leukocyte number in the peripheral blood of rats treated with liposomal combination of doxorubicin and cyclophosphamide. It was established that the liposomal form of mexidol (25 mg/kg) favored noticeable activation of granulocytopenia already on day 3 after the administration of liposomal cytostatics. This was manifested by increasing the number of myelocytes and metamyelocytes (2.8 and 3 times, respectively, $p < 0.05$) as compared to the administration of only liposomal cytostatics. At the same time, liposomal mexidol at doses of 25 and 50 mg/kg increased the number of neutrophils in the peripheral blood 2.5 and 3.4 times, respectively, in comparison to the same doses of the free form. By day 7 after the use of liposomal combination with doxorubicin and cyclophosphamide, the liposomal mexidol in doses of 25 and 50 mg/kg (unlike the free form) equally eliminated leukopenia by increasing the neutrophils number in the peripheral blood 2 times (to the initial value, $p < 0.05$) in comparison to the administration of only cytostatics in rats with Walker-256 carcinoma. The numbers of lymphocytes and monocytes also reached initial values.

Keywords: leukocytes; granulocytopenia; liposomes; doxorubicin; cyclophosphamide; mexidol; rats.