

Влияние комбинации противоопухолевой химиотерапии и мексидола на морфологические характеристики опухоли

Зорькина А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой поликлинической терапии и функциональной диагностики с курсом эндокринологии медицинского института ГОУВПО «Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарёва», г. Саранск
Скопин П. И., к.м.н., доцент кафедры онкологии с курсом лучевой диагностики и лучевой терапии медицинского института ГОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск

Effect of mexidolum (ethylmethylhydroxypyridine succinate) with cancer chemotherapy on the morphological structure of tumor

Zorkina A.V., Skopin P.I.

Резюме

изучено влияние комбинированного применения препарата антиоксидантного действия – мексидола с противоопухолевыми лекарственными средствами: 5-фторурацилом и рубомицином на морфологическую структуру опухоли перивисающего рака крыс РС-1. В гистологических препаратах в периферической зоне первичного опухолевого узла проведена оценка плотности сети кровеносных микрососудов и подсчитано количество патологических митозов. Установлена способность мексидола (5 мг/кг, 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг), в условиях роста холангиоцеллюлярного рака РС-1, снижать количество новообразованных сосудов в краевой зоне опухоли и угнетать митотическую активность опухолевых клеток. Дополнительное введение мексидола с изученными противоопухолевыми химиопрепаратами повышает их цитостатическую активность, но не потенцирует их антиангиогенный эффект.

Ключевые слова: противоопухолевая химиотерапия, антиангиогенный эффект, мексидол, перевиваемый холангиоцеллюлярный рак РС-1

Summary

The present study aimed to investigate the influence of combination of the synthetic antioxidant mexidolum (3-oxy-6-methyl-2-ethyl-pyridin succinatum) and antitumor drugs – 5-fluorouracilum and rubomycine on morphological characteristic of tumor. Studies were performed on rats with transplantable cholangiocellular RS-1 carcinoma. Histopathological methods were used for this investigation. Results showed that mexidolum (in doses 5, 10, 25 and 50 mg/kg) demonstrated antiangiogenic and antimitotic activity in experiment. Mexidolum increased tumor control 5-fluorouracilum and rubomycine treatment, but non enhance antiangiogenic efficacy studied antitumor drugs.

Key words: cancer chemotherapy, antiangiogenic effect, antioxidant drugs, transplantable cholangiocellular RS-1 carcinoma

Введение

Важнейшим компонентом опухолевого роста и метастазирования является неоангиогенез. Опухоль для своего роста нуждается в постоянном образовании сосудов, что обеспечивает достаточное питание и удаление продуктов жизнедеятельности. Опухолевые клетки продуцируют факторы, стимулирующие образование новых сосудов из клеток эндотелия [1]. Инвазия сосудов в опу-

холь позволяет опухолевым клеткам проникать в кровоток и метастазировать в другие органы и ткани [2,4].

Антиангиогенный эффект препаратов антиоксидантного действия известен давно. В офтальмологической практике для лечения внутриглазных кровоизлияний, для защиты сетчатки и роговицы от новообразования сосудов широко применяется эмксипин [3]. Мы предположили, что и в опухолевой ткани препараты этой группы могут проявить подобный эффект.

В связи с этим нами проведено экспериментальное исследование влияния отечественного синтетического препарата с антиоксидантным типом действия, относящегося к классу β-оксипроизводных азотистых гетероароматических антиоксидантов – 3-окси-6-метил-2-этилпиридина сукцината (мексидол® 5%-2мл) на опухолевый рост в условиях противоопухолевой химиотерапии.

Ответственный за ведение переписки -

Скопин Павел Игоревич,

Адрес раб.: 430032, г. Саранск, ул. Ульянова, д.30,

тел. раб. 8(8342) 33 04 58

E-mail: skopinpi@mail.ru

Материалы и методы

Эксперимент был проведен на 98 белых нели-нейных крысах обоего пола. Модель неоплазии создавалась путем подкожной перевивки животных массой 80-100 г опухолевого штамма холангиоцеллюлярного рака РС-1 (НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН). Для моделирования химиотерапии животным с 21 дня после перевивки опухоли (срок наглядной визуализации опухоли у всех животных) вводился 5-фторурацил в/м в дозе 10 мг/кг через 48 часов, 5 инъекций (до суммарной дозы 50 мг/кг), или рубомицин в дозе 4 мг/кг в/брюшинно через 48 часов, 4 инъекции (до суммарной дозы 16 мг/кг). Мексидол вводили ежедневно с 21 суток после перевивки опухоли в/м в дозах 5 мг/кг, 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг – условно соответствующих 1% от, 2%, 5% и 10% от LD50. Оценка результатов проводилась на 35 день после перевивки опухоли. Животные забивались путем декапитации после внутрибрюшного введения раствора тиопентала натрия в дозе 50 мг/кг.

Во всех опытных сериях проводилось гистологическое исследование опухоли. С этой целью из каждого опухолевого узла вырезались кусочки из центральной и периферической зон. Гистологические препараты готовили по общепринятой методике, окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические препараты просматривали с использованием светового бинокулярного микроскопа, при этом оценивалась морфологическая структура опухоли. При увеличении $\times 300$ в 30 полях зрения произведено количественное изучение плотности сети кровеносных микрососудов в периферической зоне первичного опухолевого узла, для оценки влияния исследуемых препаратов на процесс ангиогенеза в опухолевой ткани (Карамышева А.Ф., 2000) и подсчитывалось количество патологических митозов (Казанцева И.А., 1981).

Статистическая обработка результатов исследований проведена с помощью t-критерия Стьюдента с использованием программ "Microsoft Office Excel", «Primer of Biostatistics for Windows» v.4.03 (1998).

Результаты и обсуждение

В контрольной группе животных опухолевая ткань была представлена скоплением полиморфных атипич-

ных клеток преимущественно средней величины с базофильной цитоплазмой. Клетки имели округлую и полигональную форму и крупное гиперхромное ядро, смещенное к периферии. Крупные комплексы опухолевых клеток разделены узкими прослойками соединительной ткани, состоящей из небольшого количества клеточных элементов и тонких пучков коллагеновых волокон. В ткани содержалось значительное количество полнокровных кровеносных сосудов. Плотность кровеносных сосудов в контрольной серии составила $27,56 \pm 2,22$ сосудов на 1 мм^2 опухолевой ткани. В опухоли выявлялись преимущественно патологические митозы. Таким образом, в контрольной группе морфологическая картина исследуемой ткани – низкодифференцированный железистый рак солидного строения, признаками которого являются клеточный атипизм и полиморфизм.

Исследуемые препараты приводили к выраженным изменениям морфологической структуры опухоли. При использовании мексидола в дозах 5 и 10 мг/кг наблюдалось более выраженное развитие стромального компонента опухоли по сравнению с контролем, в периферической зоне встречались единичные очаги некроза. При увеличении дозы мексидола до 25 и 50 мг/кг микроскопическая структура опухоли была значительно нарушена, обнаруживались многочисленные поля некроза опухолевой ткани. При введении мексидола в дозах 5 мг/кг, 10 мг/кг, 25 мг/кг и 50 мг/кг количество патологических митозов в опухолевой ткани по сравнению с контролем уменьшилось на 64%, 67%, 69% и 74% соответственно (табл.1).

При росте холангиоцеллюлярного рака РС-1 у крыс внутримышечное введение мексидола приводило к значительному нарушению кровоснабжения опухоли. В периферической зоне опухоли располагались крупные кровеносные сосуды, но отходящие вглубь опухоли ответвления были менее полнокровными, количество капилляров ограничено. Использование мексидола уже в дозе 5 мг/кг приводило к достоверному снижению плотности кровеносных сосудов в опухолевой ткани на 27,3% ($p < 0,01$), а в дозе 10 мг/кг – на 47,1% ($p < 0,01$). При увеличении дозы мексидола до 25 мг/кг плотность сосудов в опухолевой ткани уменьшилась до $9,37 \pm 1,943$ на 1 мм^2 ($p < 0,001$), индекс ингибирования неоплазии составил при этом

Таблица 1. Влияние комбинированного применения рубомицина в дозе 4 мг/кг и мексидола на митотическую активность в опухолевой ткани ($M \pm m$)

Серии	Количество митозов на одно поле зрения
Контроль	$3,9 \pm 0,1$
Мексидол 5 мг/кг	$1,4 \pm 0,2$; $p < 0,001$
Мексидол 10 мг/кг	$1,3 \pm 0,1$; $p < 0,001$
Мексидол 25 мг/кг	$1,2 \pm 0,2$; $p < 0,001$
Мексидол 50 мг/кг	$1,0 \pm 0,1$; $p < 0,001$
Рубомицин 4 мг/кг	$2,2 \pm 0,1$; $p < 0,001$
Рубомицин 4 мг/кг + мексидол 25 мг/кг	$1,80 \pm 0,04$; $p < 0,001$; $p^* < 0,005$
Рубомицин 4 мг/кг + мексидол 50 мг/кг	$1,40 \pm 0,04$; $p < 0,001$; $p^* < 0,001$

Примечания: p - достоверность различия с данными контрольной группы.

p^* - достоверность различия с данными группы, получавшей рубомицин.

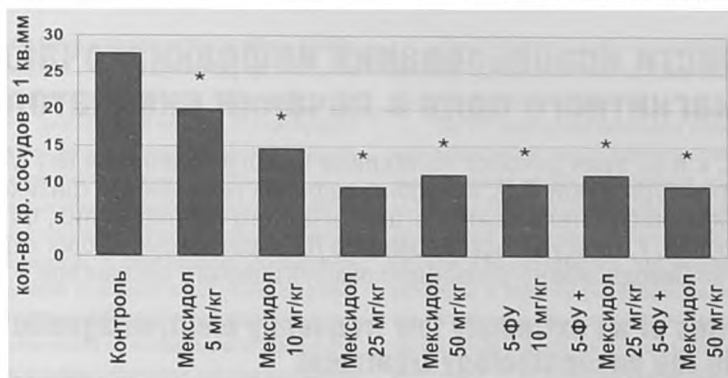


Рис. 1. Влияние мексидола и 5-фторурацила на плотность кровеносных сосудов в периферической зоне опухоли РС-1. * – достоверность различия к данным контрольной группы, $p < 0,05$.

66,0%. Введение мексидола в дозе 50 мг/кг сопровождалось максимальным снижением числа новообразованных сосудов в опухолевой ткани, их плотность уменьшилась до $11,072 \pm 2,267$ на 1 мм^2 , индекс ингибирования неоангиогенеза при этом составил 59,83% (рис. 1).

Моделирование химиотерапии холангиоцеллюлярного рака РС-1 5-фторурацилом в дозе 10 мг/кг значительно нарушало структуру опухоли, в ней определялись крупные очаги некроза опухолевой ткани и поля свободной слизи. Плотность сосудов в периферической зоне опухоли составила в этой опытной группе $9,93 \pm 1,75$ на 1 мм^2 ($p < 0,001$), что на 64% меньше чем у животных контрольной серии.

При внутрибрюшинном введении рубомицина в дозе 4 мг/кг в микропрепаратах наблюдался субтотальный некроз опухолевой ткани. Опухоль сохранялась преимущественно под капсулой. Выявлялись выраженные дистрофические изменения в сохранившихся опухолевых клетках. Количество сосудов в 1 мм^2 по сравнению с контролем уменьшилось на 46%, количество патологических митозов в опухолевой ткани также снизилось на 46%.

Введение 5-фторурацила совместно с мексидолом в дозах 25 и 50 мг/кг сопровождалось полным нарушением гистологической структуры опухоли. Скопления опухолевых клеток с явлениями выраженной дистрофии чередовались с крупными очагами фиброза и некроза опухолевой ткани. Плотность кровеносных сосудов в периферической зоне опухоли у животных, получавших 5-фто-

урацил и мексидол в дозах 25 и 50 мг/кг, достоверно не отличалось от группы животных получавших монотерапию 5-фторурацилом, сосредоточены они были в основном в крупных соединительнотканых перегородках, количество ответвлений от них и число капилляров в глуболежащих слоях опухоли было резко сокращено.

При дополнительном применении мексидола в дозах 25 мг/кг и 50 мг/кг на фоне введения рубомицина отмечалось увеличение количества сосудов в краевой зоне опухоли на 140% и 114% соответственно в сравнении с группой, получавшей только химиопрепарат. Однако у животных этих исследуемых групп выявлено снижение количества патологических митозов по сравнению с монотерапией рубомицином: при введении мексидола в дозе 25 мг/кг – на 18%, в дозе 50 мг/кг – на 36%. Визуально деструктивные процессы оказались более выраженными при комбинированном применении рубомицина и мексидола в большей из изученных доз.

Выводы

Таким образом, в условиях роста холангиоцеллюлярного рака РС-1 мексидол (5 мг/кг, 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг) снижает количество новообразованных сосудов в краевой зоне опухоли и угнетает митотическую активность опухолевых клеток. При комбинированном применении мексидола с 5-фторурацилом или рубомицином повышается цитостатическая активность изученных противоопухолевых химиопрепаратов, но не потенцируется их антиангиогенный эффект.■

Литература:

1. Бритвин Т.А., Казанцева И.А., Калинин А.П., Кушлинский Н.Е. Фактор роста эндотелия сосудов в сыворотке крови больных опухолями надпочечников. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – т. 140. – №8. – С. 198-201.
2. Автандилов Г.Г. Плоидометрическое обоснование и практическое применение закона ступенчатой стадииности канцерогенеза. Вопросы онкологии. – 2004. – т. 50. – №6. – С. 672-678.
3. Сологуб А.А., Акберова С.И., Зиянгирова Р.Р. Мексидол как ингибитор ангиогенеза. Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – №12. – С. 620-622.
4. Albini A. Tumor microenvironment, a dangerous society leading to cancer metastasis. From mechanisms to therapy and prevention. Cancer Metastasis Rev. – 2008. – Vol. 27, №1. – P. 3-4.