

УДК 615.015: 616-006

**И.Н. Чаиркин**

д-р мед. наук, профессор кафедры анатомии человека  
лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый Московский  
государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский  
Университет)

**О.Н. Дерябина**

канд. мед. наук, ассистент кафедры онкологии с курсом  
лучевой диагностики и лучевой терапии ФГБОУ ВО  
Национальный исследовательский Мордовский  
государственный университет им. Н.П. Огарева

**Н.В. Чаиркина**

канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной  
и патологической анатомии ФГБОУ ВО Национальный  
исследовательский Мордовский государственный  
университет им. Н.П. Огарева

**И.В. Карьгина**

аспирант кафедры нормальной и патологической анатомии  
ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский  
государственный университет им. Н.П. Огарева

**В.Ю. Медвежонков**

аспирант кафедры нормальной и патологической анатомии  
ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский  
государственный университет им. Н.П. Огарева

**А.Е. Стрижков**

канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии человека лечебного  
факультета ФГАОУ ВО Первый Московский государственный  
медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава  
России (Сеченовский Университет)

**К.В. Булыгин**

канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры анатомии  
человека лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый Московский  
государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова  
Минздрава России (Сеченовский Университет)

**I.N. Chairkin**

MD, PhD, DSci, Full Prof., Human Anatomy, Faculty  
of Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical  
University (Sechenov University)

**O.N. Deryabina**

MD, PhD, Assistant Prof., Oncology with a course  
of Radiodiagnosics and Radiation Therapy, Ogarev National  
Research Mordovia State University

**N.V. Chairkina**

MD, PhD, Associate Prof., Normal and Pathological Anatomy,  
Ogarev National Research Mordovia State University

**I.V. Kargina**

Postgraduate student, Normal and Pathological Anatomy, Ogarev  
National Research Mordovia State University

**V.Yu. Medvezhonkov**

Postgraduate student, Normal and Pathological Anatomy, Ogarev  
National Research Mordovia State University

**A.E. Strizhkov**

MD, PhD, Associate Prof., Human Anatomy, Faculty  
of Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical  
University (Sechenov University)

**K.V. Bulygin**

MD, PhD, Senior Lecturer, Human Anatomy, Faculty  
of Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical  
University (Sechenov University)

**Сравнительная оценка  
биохимических показателей  
крови и изменений со стороны  
внутренних органов  
под влиянием доксорубцина  
и наноструктурированного  
доксорубцина в условии  
перевиваемого канцерогенеза  
(экспериментальная асцитная  
гепатома Зайдела)**

**Comparative evaluation of blood  
biochemical parameters  
and changes of the internal organs  
under the influence of doxorubicin  
and nanostructured doxorubicin  
in condition of transplantable  
carcinogenesis (experimental  
Zajdela ascites hepatoma)**

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Чаиркина Наталья Викторовна**, канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной и патологической анатомии ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева  
**Адрес:** 430005, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68  
**Тел.:** +7 (968) 389-55-50  
**E-mail:** chairkinanata@rambler.ru  
**Статья поступила в редакцию:** 21.05.2018  
**Статья принята к печати:** 04.06.2018

## CONTACT INFORMATION

**Natalia V. Chairkina**, MD, PhD, Associate Prof., Normal and Pathological Anatomy, Ogarev National Research Mordovia State University  
**Address:** 68, Bolshevistskaya str., Saransk, 430005, Russia  
**Tel.:** +7 (968) 389-55-50  
**E-mail:** chairkinanata@rambler.ru  
**Article received on:** May 21, 2018  
**Article approved on:** June 4, 2018

## Аннотация

Изучено влияние доxorубина и наноструктурированного доxorубина на биохимические показатели и показатели в сыворотке крови крыс в условиях перевиваемой экспериментальной асцитной гепатомы Зайдела. Применение доxorубина сопровождается дисфункцией и угнетением ростков кроветворения, а также оказывает нефротоксическое и гепатотоксическое действие, что подтверждается изменением биохимических показателей сыворотки крови. В то время как использование наноструктурированного доxorубина сопровождается нормализацией данных показателей.

**Ключевые слова:** перевиваемый канцерогенез, асцитная гепатома Зайдела, наноструктурированный доxorубин.

## Abstract

The effect of doxorubicin and nanostructured doxorubicin on biochemical parameters and parameters in the blood serum of rats under conditions of the transplanted experimental Zajdela ascitic hepatoma was studied. The use of doxorubicin is accompanied by dysfunction and inhibition of blood sprouts, and also has nephrotoxic and hepatotoxic effects, which is confirmed by changes in the biochemical parameters of blood serum while the use of nanostructured doxorubicin is accompanied by normalization of these indicators.

**Keywords:** transplantable carcinogenesis, Zajdela ascites hepatoma, nanostructured doxorubicin.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время злокачественные неоплазии занимают ведущее место среди причин снижения жизненного потенциала здоровья как в России, так и во всем мире. Онкологическая заболеваемость во всем мире имеет склонность к нарастанию, что объясняет повышенное внимание к данной проблеме [2, 5, 7].

В последние годы все большее внимание уделяется изучению морфогенеза онкологических заболеваний, проводятся экспериментальные исследования на разнообразных и многочисленных моделях. Полученные данные при моделировании того или иного эксперимента возможно экстраполировать в клинику для дальнейшей корректировки и апробации результатов.

Химиотерапия является одним из основных методов лечения злокачественных опухолей человека. Для ее проведения используются специальные препараты, способствующие либо уничтожению злока-

чественных клеток, либо прекращению их деления. Актуальной на сегодняшний день остается проблема их токсичности на органы, которая заставляет нередко отказываться от эффективных схем лечения ряда опухолей. Данная проблема трудноразрешима, так как цитостатики одинаково влияют на метаболические процессы и структуры как опухолевой, так и здоровой ткани [2, 3, 8].

Для преодоления токсичности используются разнообразные системы доставки лекарственного вещества, что может улучшить фармакологические свойства химиотерапевтических средств путем изменения их биораспределения и фармакокинетических характеристик [9]. К системам доставки относят липосомы, полимерные наночастицы, мицеллы, дендримеры. На сегодняшний день в клинике успешно применяют мицеллярные и липосомальные лекарственные препараты [1, 4, 6].

**Цель исследования** — провести сравнительный анализ онкостатического эффекта и токсического воздействия на органы доxorубина и нанострук-

турированного доксорубина в условии экспериментальной гепатомы Зайдела.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент был поставлен на 120 беспородных белых крысах. Крысы были получены из питомника лабораторных животных (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России) в возрасте 2 месяцев, массой 160–170 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария, которые получали водопроводную воду и гранулированный корм без ограничения.

Крысы были разделены на 3 группы по 40 животных в каждой группе. Было проведено 3 серии экспериментов, в ходе которых изучали динамику биохимических показателей крови, характеризующих патоморфологические изменения в тканях внутренних органов, под влиянием доксорубина и нанодоксорубина в условии перевиваемой асцитной гепатомы Зайдела (ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава России).

### Биохимические методы исследования

#### Получение цельной крови, плазмы и сыворотки

Образцы цельной крови у крыс получали путем отсечения кончика хвоста с последующим отбором в контейнер необходимого объема. В качестве альтернативного метода получения образцов крови в конечной точке отбора материала использовали метод гильотинной декапитации животных.

Образцы плазмы и сыворотки крови получали следующим образом: крысам проводили наркоз 20 % раствором уретана внутривентрально в дозе 1 г/кг. Животных фиксировали на операционном столе в положении на спине, оттягивали кожу в области шеи и аккуратно, избегая повреждения подкожных сосудов, отрезали кожный лоскут. В нижней части образовавшейся раны захватывали пинцетами подлежащие ткани и отодвигали щитовидную железу вверх к голове. Пинцетом для разбортовки сосудов раздвигали мышцы, образующие яремный желоб, и отделяли сосудисто-нервный пучок от окружающих тканей. Отделяли артерию и подводили под нее колпачок от иглы одноразового шприца.

Одноразовый шприц, содержащий раствор цитрата натрия, вводили в сосуд по направлению от головы к сердцу. Медленно, избегая вспенивания, набирали кровь до метки, затем извлекали иглу. Для получения сыворотки разрезали артерию и собирали кровь в стеклянные пробирки. Кровь, набранную в шприц, незамедлительно переносили в одноразовые пластиковые пробирки для центрифугирования и отбирали 1 мл цельной крови в пробирку Эппендорфа объемом 2 мл, после чего замораживали. Для получения плазмы оставшуюся цельную кровь

центрифугировали 14 минут при 1400 g. После центрифугирования 1 мл полученной плазмы отбирали в пробирку Эппендорфа объемом 2 мл и замораживали при температуре минус 20° С для последующих исследований.

#### Исследование сыворотки крови

Исследование образцов проводили на автоматических и биохимических анализаторах Lisa 300 (Biocode Nycel) и «Сапфир-400» (Niigata Mechatronics).

В сыворотке крови животных определяли следующие показатели: активности аланинаминотрансферазы (АлТ), аспаратаминотрансферазы (АсТ), амилазы; концентрации мочевины, креатинина, билирубина, общего белка соответствии с рекомендациями по методикам клинических лабораторных исследований. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критериев *t* Стьюдента, точного метода Фишера,  $\chi^2$  и теста Колмогорова—Смирнова с помощью пакета прикладных программ «МедСтатистика» и «Биостат».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ полученных результатов показывает, что доксорубин и наноструктурированный доксорубин неодинаково влияют на содержание форменных элементов в сыворотке крови в условии перевиваемого канцерогенеза. Количество эритроцитов у крыс контрольной группы составило  $3,91 \pm 1,61 \times 10^{12}/л$ . При введении доксорубина данный показатель увеличился на 54,22 % и составил  $6,03 \pm 2,09 \times 10^{12}/л$  по сравнению с группой контроля. В то время как при использовании наноструктурированного доксорубина данный показатель практически остался неизменным —  $3,87 \pm 1,42 \times 10^{12}/л$ . Кроме того, под влиянием цитостатических препаратов в ходе эксперимента у крыс развивалась лейкопения. Так, при воздействии наноструктурированного доксорубина содержание лейкоцитов уменьшилось на 60 % по сравнению с контрольной группой и составило  $2,90 \pm 0,48 \times 10^9/л$ , а на фоне введения доксорубина количество лейкоцитов в крови составило  $3,42 \pm 1,90 \times 10^9/л$ , что на 29,08 % меньше, чем в группе контроля ( $4,82 \pm 3,26 \times 10^9/л$ ). Различия статистически достоверны (табл. 1).

Количество тромбоцитов на фоне применения доксорубина составило  $591,00 \pm 208,16 \times 10^9/л$ , что соответствует их нормальному содержанию, а при воздействии наноструктурированного доксорубина наблюдалась слабовыраженная тромбоцитопения —  $340,75 \pm 58,38 \times 10^9/л$ , но данный показатель в 3 раза превышал показатель тромбоцитов в группе контроля ( $103,40 \pm 67,77 \times 10^9/л$ ), а следова-

Таблица 1

Содержание форменных элементов крови у крыс в условиях перевиваемого канцерогенеза на фоне применения доксорубина и наноструктурированного доксорубина

Группа	Эритроциты ( $\times 10^{12}/л$ )	Лейкоциты ( $\times 10^9/л$ )	Тромбоциты ( $\times 10^9/л$ )	Гемоглобин (г/л)	Гематокрит (%)
Контроль	3,91 $\pm 1,61$	4,82 $\pm 3,26$	103,40 $\pm 67,77^k$	126,80 $\pm 43,45^{kkk}$	22,76 $\pm 8,71^{kk}$
Доксорубин	6,03 $\pm 2,09$	3,42 $\pm 1,9$	591,00 $\pm 208,16^{dd}$	117,80 $\pm 41,77^{dd}$	33,92 $\pm 11,89^{dd}$
Нанодокс	3,87 $\pm 1,42$	2,9 $\pm 0,48$	340,75 $\pm 58,38^{nnn}$	97,00 $\pm 7,62^{nnn}$	21,92 $\pm 8,09^{nn}$

**Здесь и далее:**

Достоверность к контролю:

\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$ .

Достоверность внутри группы контроля:

k —  $p < 0,05$ ; kk —  $p < 0,01$ ; kkk —  $p < 0,001$ .

Достоверность внутри группы доксорубина:

d —  $p < 0,05$ ; dd —  $p < 0,01$ ; ddd —  $p < 0,001$ .

Достоверность внутри группы нанодокса:

n —  $p < 0,05$ ; nn —  $p < 0,01$ ; nnn —  $p < 0,001$ .

тельно, применение в этом случае цитостатических препаратов не вызывало развития тромбоцитопении.

Содержание гемоглобина на фоне коррекции доксорубином и наноструктурированным доксорубином снижалось. В контрольной группе показатель гемоглобина составил  $126,80 \pm 43,45$  г/л, что практически соответствует нормальному содержанию гемоглобина у крыс (128–192 г/л). На фоне применения доксорубина содержание гемоглобина уменьшилось на 7,1 % по сравнению с группой контроля и составило  $117,80 \pm 41,77$  г/л. При введении наноструктурированного доксорубина данный показатель составил  $97,00 \pm 7,62$  г/л, что меньше на 23,5 %, чем в контрольной группе. Различия статистически достоверны (см. табл. 1).

В ходе эксперимента также определяли уровень гематокрита. На фоне коррекции наноструктурированным доксорубином уровень гематокрита уменьшился по сравнению с контролем на 3,7 %, а при введении доксорубина — уменьшился на 49 % по сравнению с контрольной группой. Различия статистически достоверны.

При изучении биохимических показателей были получены следующие результаты. Нормальная активность АлТ в крови у крыс составляет 110–140 Ед/л, при введении наноструктурированного доксорубина данный показатель находился в пределах нормы и составил  $132,00 \pm 74,72$  Ед/л. На фоне применения доксорубина активность АлТ составила  $162,60 \pm 74,89$  Ед/л, но она увеличилась на 23 % по сравнению с группой крыс, которым вводили наноструктурированный доксорубин. Различия статистически достоверны.

Нормальная активность АсТ составляет 72–196 Ед/л. Применение наноструктурированного доксорубина не влияло на активность АсТ у крыс, и данный показатель остался в пределах нормы —  $99,00 \pm 146,36$  Ед/л, что в 3 раза меньше, чем в группе контроля ( $284,80 \pm 64,65$  Ед/л) и в 4 раза меньше по сравнению с доксорубином ( $408,00 \pm 568,81$  Ед/л). Таким образом, исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что доксорубин обладает гепатотоксичностью, тогда как показатели АлТ и АсТ на фоне применения наноструктурированного доксорубина находятся в пределах нормы, следовательно, применение наноструктурированного доксорубина не оказывает отрицательного влияния на гепатоциты.

Содержание белка в сыворотке крови на фоне применения доксорубина снижено на 35 % по сравнению с нормой (98–108 г/л), при введении наноструктурированного доксорубина названный показатель уменьшился на 31,1 %. Данные представлены в табл. 2.

Концентрация билирубина в группе контроля составила  $2,32 \pm 0,41$  мкмоль/л, что превышало нормальное значение в 1,4 раза (норма — 0–1,67 мкмоль/л). При применении наноструктурированно-

Таблица 2

Биохимические показатели в сыворотке крови у крыс в условиях перевиваемого канцерогенеза на фоне коррекции доксорубином и наноструктурированным доксорубином

Группа	АлТ (Ед/л)	АсТ (Ед/л)	Билирубин (мкмоль/л)	Мочевина (мкмоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Белок (г/л)	Амилаза (Ед/л)
Контроль	82,40 $\pm 32,26^k$	184,80 $\pm 64,65^{kk}$	2,32 $\pm 0,41^{kk}$	10,50 $\pm 7,56^{kk}$	0,154 $\pm 0,130^{kk}$	72,20 $\pm 8,18$	685,60 $\pm 124,67^{kk}$
Доксорубин	162,60 $\pm 74,89^d$	408,00 $\pm 568,81$	9,36 $\pm 0,94^{ddd}$	12,72 $\pm 2,66^{dd}$	0,191 $\pm 0,020^{dd}$	64,40 $\pm 4,50^d$	3800,6 $\pm 4661,99$
Нанодокс	132,00 $\pm 74,72$	99,00 $\pm 146,36^n$	6,98 $\pm 4,43^{nn}$	14,0 $\pm 4,88$	0,207 $\pm 0,03^n$	67,33 $\pm 3,79$	1194,00 $\pm 746,27$

го доксорубина данный показатель увеличился в 4,2 раза по сравнению с нормальным значением, а при введении доксорубина — в 5,6 раза.

Изученные показатели мочевины и креатинина позволяют оценить функцию почек. Концентрация мочевины в крови у крыс в опытных и контрольной группах находятся в пределах нормы.

Концентрация креатинина как в опытных, так и в контрольной группах повышена по сравнению с нормальной концентрацией креатинина в крови (0,068–0,104 мкмоль/л). На фоне коррекции наноструктурированным доксорубином концентрация креатинина увеличилась в 2 раза, а при введении доксорубина — в 1,8 раза.

Значения активности амилазы свидетельствуют о состоянии функциональной активности поджелудочной железы. На фоне применения доксорубина и наноструктурированного доксорубина активность амилазы значительно увеличилась. При введении доксорубина активность амилазы увеличилась в 6,2 раза, а при применении наноструктурированного доксорубина — в 2 раза. Различия статистически достоверны (см. табл. 2).

## ВЫВОДЫ

1. Противоречивые показатели количества форменных элементов крови не позволяют дать сравнительную оценку действию на костный мозг наноструктурированного доксорубина и доксорубина.
2. Наноструктурированный доксорубин в сравнении с доксорубином достоверно вызывает менее выраженное токсичное воздействие на печень и поджелудочную железу, что подтверждается значительным снижением активностей АлТ, АсТ, амилазы и снижением концентрации билирубина.
2. Сравнительно одинаковые показатели креатинина и мочевины при исследовании действия наноструктурированного доксорубина и доксорубина на почки свидетельствуют об их одинаковой степени нефротоксичности.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Алексеев К.В., Аляутдин Р.Н., Блынская Е.В., Квинх Б.Т.* Наноразмерные системы доставки лекарственных веществ. Вестник новых медицинских технологий. 2009; 16(2): 17–20. [Alekseev K.V., Alyautdin R.N., Blynskaya E.V., Kvinkh B.T. Nanosized drug delivery systems. Vestnik novykh meditsinski-kh tekhnologii. 2009; 16(2):17–20 (in Russian).]
2. *Барышников А.Ю.* Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов. Вестник РАМН. 2012; 3: 23–30. [Baryshnikov A.Yu. Nanostructured liposomal systems as a means of antitumor drug delivery. Vestnik RAMN. 2012; 4: 23–30 (in Russian).]
3. *Дубровин Н.А., Бычков Д.В., Гордеев К.С., Жидков А.А.* Современные методы лечения рака. Портал научно-практических публикаций [Электронный ресурс]. URL: <http://portalnp.ru/2017/11/9896>. [Dubrovin N.A., Bychkov D.V., Gordeev K.S., Zhidkov A.A. Modern methods of cancer treatment. Portal nauchnoprakticheskikh publikatsiy [Electronic source]. URL: <http://portalnp.ru/2017/11/9896> (in Russian).]
4. *Пятаев Н.А., Щукин С.А., Корovina Е.Ю., Зыряева Н.Н.* Особенности тканевого распределения и противоопухолевой активности доксорубина при введении в форме конъюгата с ДНК у крыс с трансплантированной карциномой РС-1. Российский биотерапевтический журнал. 2011; 10(2): 55–61. [Pyataev N.A., Shchukin S.A., Korovina E.Yu., Zyryayeva N.N. Tissue distribution and antitumor activity features of doxorubicin when administered to rats with transplanted carcinoma PC-1 in the form of conjugated DNA. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal. 2011; 10(2): 55–61 (in Russian).]
5. *Решетарова Д.А.* Анализ онкологической заболеваемости населения ПФО. Современные проблемы территориального развития [Электронный ресурс]. 2018; 2: 2542–2103. [Reshetarova D.A. Oncological morbidity analysis in PFO. Sovremennyye problem territorialnogo razvitiya [Electronic source]. 2018; 2: 2542–2103 (in Russian).]
6. *Allen T.M., Cullis P.R.* Liposomal drug delivery system: From concept to clinical applications. Adv. Drug. Deliv. Rev. 2013, 65: 36–48.
7. *Bawarski W.E., Chidlow E., Bharali D.J. et al.* Emerging nanopharmaceuticals. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2008; 4: 273–282.
8. *Immordino M.L., Dosio F., Cattel L.* Stealth liposomes: review of the basic science, rationale and clinical applications, existing and potential. International Journal of Nanomedicine. 2006; 1(3): 297–315.
9. *Катаева Р.М., Аглетдинов Э.Ф., Иванова Н.А., Галимова Р.А., Булыгин К.В., Катаев В.В.* Изучение репродуктивной токсичности перспективного нового лекарственного средства «11-дезоксимизопропростол». Современные проблемы науки и образования. 2015; 1(57): 1284. [Kataeva R.M., Agletdinov E.F., Ivanova N.A., Galimova R.A., Bulygin K.V., Kataev V.V. Study of reproductive toxicity of promising medicinal product «11-deoxymisoprostol». Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2015; 1(57): 1284 (in Russian).]