

КЕЧЕМАЙКИНА М. И., СИПРОВ А. В., ШУБИН Д. Ю.

**ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ В ПОКАЗАТЕЛЯХ СПЕРМОГРАММЫ КРЫС
ПРИ СОВМЕЩНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ЦИТОСТАТИКОВ
И КСИМЕДОНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Аннотация. Применение антиоксидантов является одним из главных патогенетически обоснованных способов снижения гонадотоксичности при химиотерапии цитостатиками. В данной работе представлены динамические изменения показателей подвижности и жизнеспособности сперматозоидов крыс с карциномой Уокер-256 при использовании липосомальной комбинации доксорубина и циклофосфамида в сочетании с ксимедоном в свободной и липосомальной формах.

Ключевые слова: ксимедон, липосомы, цитостатик, доксорубин, циклофосфамид.

KECHEMAYKINA M. I., SIPROV A. V., SHUBIN D. YU.

**EVALUATION OF CHANGES IN RATS SPERMOGRAM INDICATORS
WITH THE COMBINED USE OF LIPOSOMAL CYTOSTATS AND XYMEDON
IN THE EXPERIMENT**

Abstract. Using of antioxidants is one of the main pathogenetically substantiated ways to reduce gonadotoxicity during chemotherapy with cytostatics. This article presents dynamic changes in the parameters of motility and viability of spermatozoa of rats with Walker-256 carcinoma with using a liposomal combination of doxorubicin and cyclophosphamide in combination with xymedon in free and liposomal forms.

Keywords: xymedon, liposomes, cytostatic, doxorubicin, cyclophosphamide.

Актуальность. В сложившейся в настоящее время демографической ситуации, когда имеются тенденции к снижению уровня рождаемости и естественного прироста населения, репродуктивное здоровье является фактором национальной безопасности. Проблема репродуктивного здоровья является актуальной и в онкологии ввиду негативного влияния противоопухолевой терапии на организм и репродуктивную систему, в частности [1]. В связи с этим остается открытым вопрос поиска эффективных методов гонадопротекции при использовании антибластных препаратов.

В литературе описывается метод заключения цитостатиков в липосомы с целью удлинения времени их циркуляции в кровотоке, снижения скорости их высвобождения, отсутствия времени пикового роста концентрации свободного препарата в крови, снижения их токсичности [2]. В связи с особенностями механизма кровоснабжения опухоли, называемого «enhanced permeability and retention», обеспечивается целевая доставка цитостатиков в

опухолевую ткань. В то же время заключенные в липосомы цитостатики поглощаются клетками ретикулоэндотелиальной системы (купферовские клетки печени, альвеолярные макрофаги, ретикулярные клетки селезенки и красного костного мозга и т.д.), где цитостатики оказывают токсический эффект на здоровые ткани [2].

Вместе с тем имеются сведения о повышении концентрации липосомального цитостатика в семенниках по сравнению со свободной формой препарата, что делает его более гонадотоксичным в связи с активацией здесь окислительного стресса [3; 4].

Главным патогенетически обоснованным способом решения данной проблемы является применение антиоксидантов. Одним из них является ксимедон – препарат пиримидинового ряда, активный участник системы антиоксидантной защиты, а также иммуномодулятор, стимулятор эндогенного дыхания, обменных процессов [5; 6]. При этом нет единого мнения об эффективности использования антиоксидантов, в частности – ксимедона, в качестве коррекции основного лечения.

Цель работы: оценить изменения параметров спермограммы крыс с карциномой Уокер-256 при использовании липосомальной комбинации доксорубина и циклофосфида в сочетании с ксимедоном в свободной и липосомальной формах.

Материал и методы исследования. Эксперимент проводился на 64 крысах-самцах «Wistar» с массой тела 120–230 г. Животные наблюдались в виварии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва». Клетки опухоли Уокер-256 (W-256) вводили в среднюю треть хвоста подкожно (1 млн клеток, разведенных в растворе Хэнкса). Комбинацию свободных и липосомальных доксорубина в дозе 4 мг/кг и циклофосфида в дозе 45 мг/кг вводили однократно внутривенно на 11-е сутки после введения опухолевых клеток (группы W+ДР+ЦФ и W+ДР+ЦФ л).

Для создания липосом использовали роторный испаритель Heidolph (Германия) и экструдер LIPEX (Канада). Очистку липосом от свободных фракций осуществляли с помощью диализа в атмосфере инертного газа.

Свободный и липосомальный ксимедон в дозах 50 и 100 мг/кг вводили внутривенно 5 суток, начиная со дня использования цитостатиков (группы W+ДР+ЦФ л + ксим 50, W+ДР+ЦФ л + ксим 50 л, W+ДР+ЦФ л + ксим 100, W+ДР+ЦФ л + ксим 100 л).

К исходу 3-х и 7-х суток после химиотерапии у 5–7 крыс из каждой группы, выведенных из эксперимента под общей анестезией тиопенталом натрия, изучали суспензию, получаемую после продольного разреза эпидидимиса в 2 мл изотонического хлорида натрия и последующего дозированного его перемешивания в течение 2 минут резиновой трубкой при комнатной температуре.

Количество сперматозоидов с оценкой их подвижности считали в камере Горяева. Подсчитывали прогрессивно-подвижные, непрогрессивно-подвижные и неподвижные сперматозоиды. Для оценки жизнеспособности сперматозоидов на предметное стекло наносили каплю суспензии, прибавляли 1%-й раствор эозина, перемешивали, накрывали покровным стеклом и через 30 сек оценивали результаты в микроскопе.

Статистическую обработку результатов проводили, используя Т-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными, если $p < 0,05$.

Результаты. На 3-и сутки после проведенной химиотерапии доксорубицином и циклофосфамидом их липосомальная форма показала больший гонадотоксический эффект по сравнению со свободной. Показатель прогрессивно-подвижных сперматозоидов здесь был в 3,4 раза меньше относительно группы с применением цитостатиков в свободной форме. Количество неподвижных спермиев в группе W+ДР+ЦФ л, наоборот, увеличивалось в 1,5 раза по отношению к группе W+ДР+ЦФ (рис. 1).

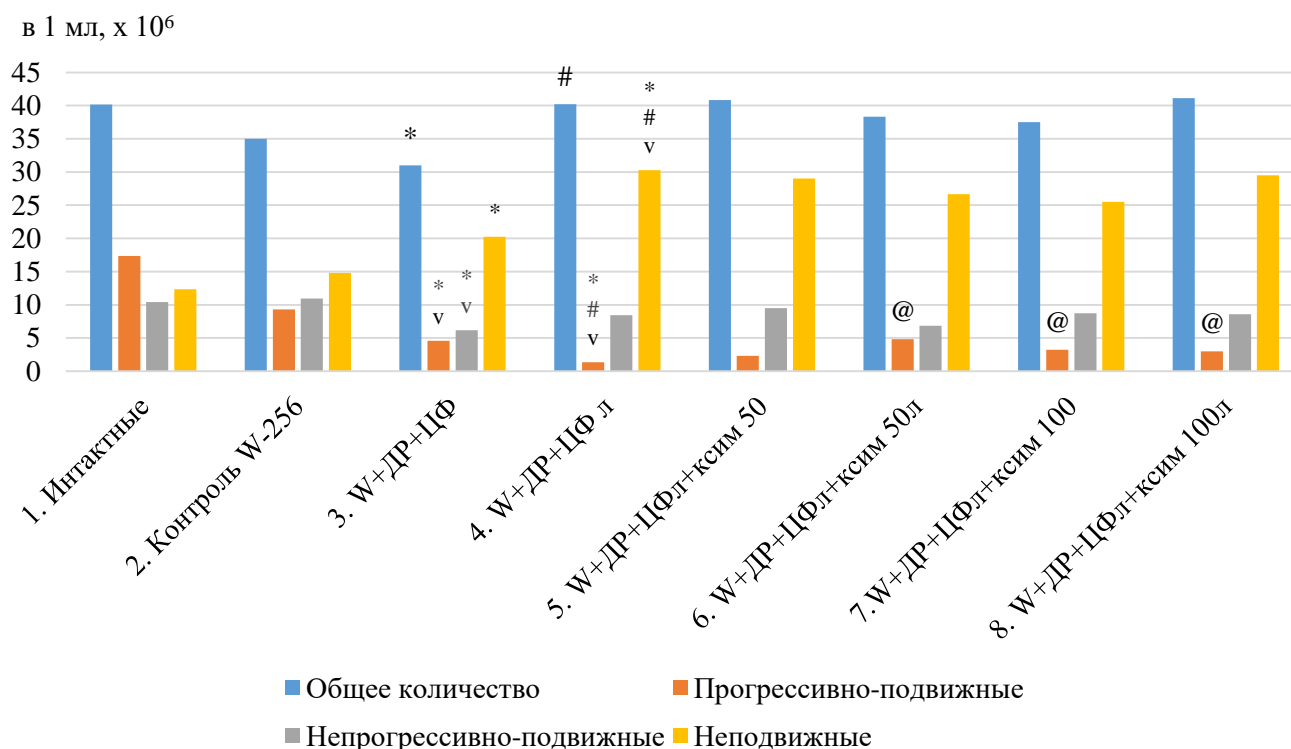


Рис. 1. Влияние свободной и липосомальной форм ксимедона на подвижность сперматозоидов крыс с карциномой Уокер-256 при применении липосомальных доксорубицина и циклофосфамида (3-и сутки после химиотерапии).

Относительно прогрессивно-подвижных сперматозоидов группы с использованием липосомального ксимедона имели достоверные различия с группой с применением липосомальных цитостатиков без коррекции. На фоне липосомального ксимедона в дозе 50 мг/кг содержание прогрессивно-подвижных сперматозоидов оказалось выше в 3,6 раза, а в

дозе 100 мг/кг – в 2,2 раза ($p < 0,05$). Также различия были зафиксированы в группах W+ДР+ЦФл+ксим 100 и W+ДР+ЦФл+ксим 100 л. Здесь количество прогрессивно-подвижных сперматозоидов было в 2,4 раза больше, чем у крыс с введением цитостатиков без коррекции. Число прогрессивно-подвижных клеток в группе с использованием свободного ксимедона в дозе 50 мг/кг не отличалось от такового в группе W+ДР+ЦФ л. Таким образом, липосомальная форма ксимедона в дозе 50 мг/кг, в отличие от его свободной формы, способствует увеличению числа прогрессивно-подвижных сперматозоидов и является более эффективной. Ксимедон в дозе 100 мг/кг в обеих формах одинаково эффективно способствует росту числа прогрессивно-подвижных спермиев.

Со стороны непрогрессивно-подвижных и неподвижных клеток достоверных различий у групп с применением ксимедона по отношению к группе с химиотерапией липосомальными цитостатиками без коррекции зафиксировано не было.

На 7-е сутки после химиотерапии, аналогично 3 суткам, большой гонадотоксический эффект показала группа с применением липосомальных форм цитостатиков. Показатели непрогрессивно-подвижных и неподвижных сперматозоидов здесь увеличивались в 1,7 и 1,4 раза соответственно по сравнению с группой W+ДР+ЦФ ($p < 0,05$, рис. 2).

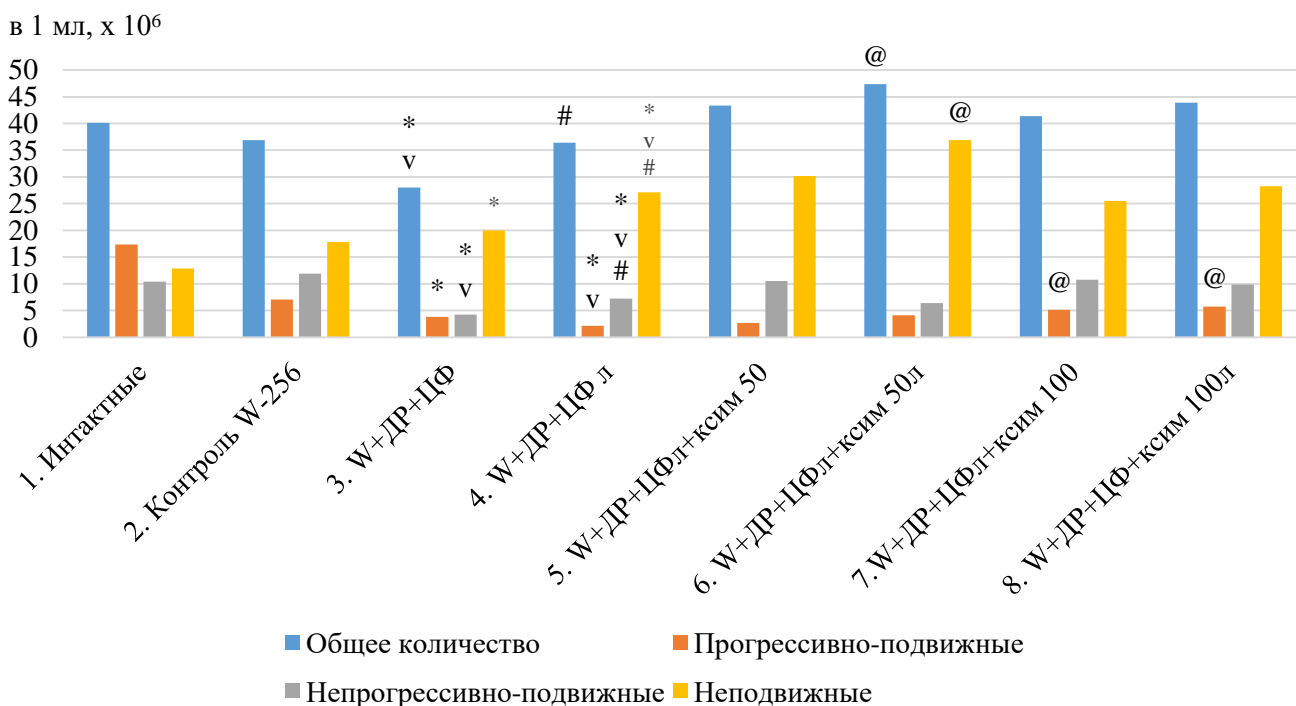


Рис. 2. Влияние свободной и липосомальной форм ксимедона на подвижность сперматозоидов крыс с карциномой Уокер-256 при применении липосомальных доксорубина и циклофосфамида (7-е сутки после химиотерапии).

Положительный результат в виде нарастания численности прогрессивно-подвижных сперматозоидов отмечался на фоне введения ксимедона в дозе 100 мг/кг в свободной и липосомальной форме. Эти изменения в обеих группах оказались сопоставимы. У крыс с коррекцией ксимедоном в липосомах количество прогрессивно-подвижных спермиев было в 2,7, а в свободной форме – в 2,5 раза больше, чем в группе без коррекции ($p < 0,05$). Коррекция ксимедоном в дозе 50 мг/кг в обеих формах оказалась неэффективной.

Коррекция липосомальным и свободным ксимедоном в дозах 50 и 100 мг/кг не приводила к достоверным различиям в числе непрогрессивно-подвижных сперматозоидов относительно группы W+ДР+ЦФ л.

Коррекция лечения ксимедоном положительно влияла на жизнеспособность сперматозоидов во всех группах (рис. 3).

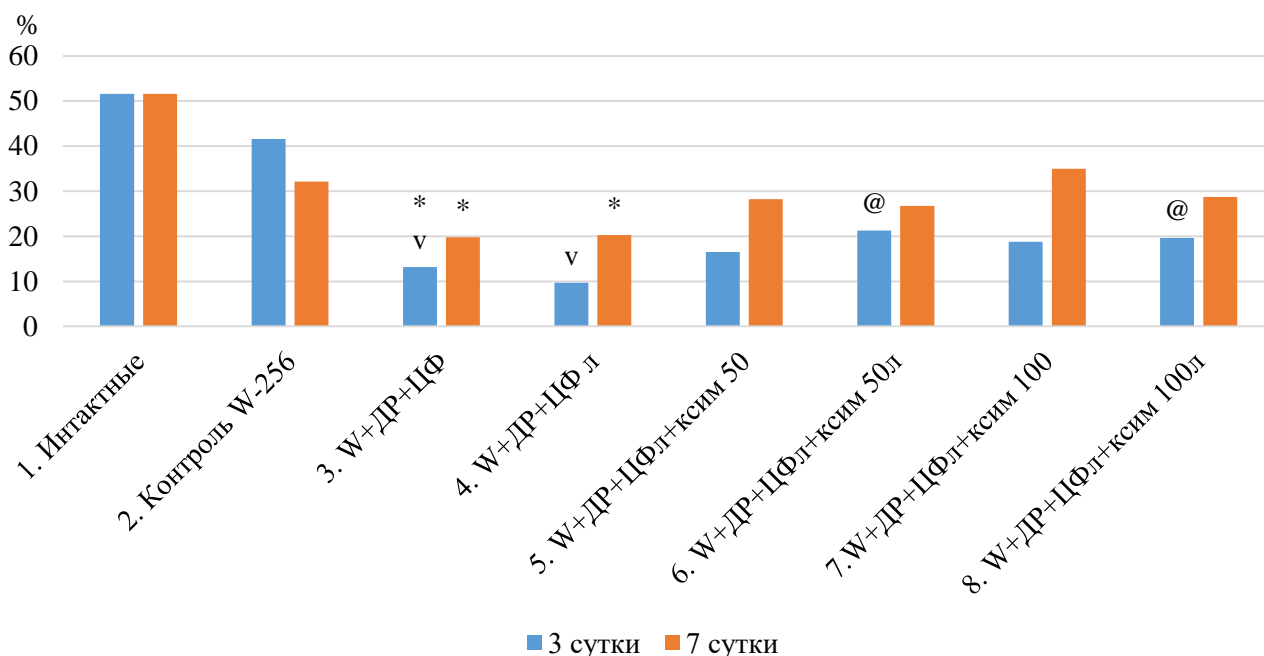


Рис. 3. Влияние свободной и липосомальной форм ксимедона на жизнеспособность сперматозоидов крыс с карциномой Уокер-256 при применении липосомальных доксорубина и циклофосфамида на 3-и и 7-е сутки после химиотерапии.

Примечания к рисункам: * – достоверные различия с интактными крысами; v – достоверные различия с W-256; # – достоверные различия с W+ДР+ЦФ; @ – достоверные различия с W+ДР+ЦФ л

На 3-и сутки жизнеспособность спермиев у крыс, получавших ксимедон в липосомах в дозе 50 мг/кг, была больше в 2,2 раза по сравнению с группой без коррекции, а в дозе 100 мг/кг – в 2 раза ($p < 0,05$).

На 7-е сутки достоверных различий касательно жизнеспособности сперматозоидов

между группами не было выявлено, однако, отмечалась тенденция к ее повышению, особенно в группе с коррекцией свободным ксимедоном в дозе 100 мг/кг.

Выводы.

1. Химиотерапия липосомальными доксорубицином и циклофосфамидом показала большее токсическое влияние на подвижность сперматозоидов по сравнению с их свободными формами.

2. На 3-и сутки после химиотерапии липосомальный ксимедон в дозе 50 мг/кг, в отличие от его свободной формы, достоверно увеличивал число прогрессивно-подвижных сперматозоидов. Ксимедон в дозе 100 мг/кг в обеих формах также одинаково эффективно способствовал росту числа этих клеток.

3. На 7-е сутки после химиотерапии доза ксимедон 100 мг/кг оказалась более эффективной, чем 50 мг/кг, причем липосомальная форма не показала своего преимущества перед свободной.

4. Липосомальный ксимедон в дозах 50 и 100 мг/кг в среднем в 2 раза увеличивал жизнеспособность сперматозоидов на 3-и сутки после химиотерапии, однако на 7-е сутки на фоне свободной формы ксимедона в дозе 100 мг/кг отмечалась лишь тенденция к ее увеличению.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Goldberg E. D., Borovskaya T. G. Gonadotoxic effects of antitumor preparations // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2003. – Vol. 135 (3). – P. 211–217.
2. Корецкова К., Eckschlager T., Sirc J., Hobzova R., Plch J., Hrabeta J., Michalek J. Nanodrugs used in cancer therapy // *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* – 2019. – Vol. 163 (2). – P. 122–131.
3. Кулик Г. И., Пивнюк В. М., Носко М. М., Тодор И. Н., Чехун В. Ф. Липосомальные препараты: путь к преодолению лекарственной устойчивости к цисплатину // *Онкология*. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 76–80.
4. Насырова Е. Ю., Долгова Д. Р., Абакумова Т. В., Генинг Т. П., Антонеева И. И., Тузеева А. Ю., Михеенко А. А. Влияние цитостатиков, вводимых по схеме CAP, на редокс-зависимые процессы в плазме крови крыс с экспериментальным раком яичников // *Ульяновский медико-биологический журнал*. – 2015. – № 1. – С. 119–123.
5. Хайбуллина З. Г. Антиокислительная активность производных пиримидина и бензимидазола в биохимическом механизме их антитоксического действия: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Уфа, 1994. – 22 с.

6. Малышев К. В. Экспериментально-клиническое обоснование использования ксимедона в качестве антиоксиданта в комплексном лечении больных хроническим остеомиелитом // Казанский медицинский журнал. – 2000. – Т. 81, № 1. – С. 13–17.