

# ВЛИЯНИЕ БИНАРНОЙ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ «ТЕРАФТАЛ + АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА» НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ

Н.П. Ермакова<sup>1</sup>, С.С. Трофимов<sup>2</sup>, Н.Ю. Кульбачевская<sup>1</sup>, О.И. Коняева<sup>1</sup>, В.М. Бухман<sup>1</sup>, Л.М. Михайлова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московский городской психолого-педагогический университет»;

Россия, 127051 Москва, ул. Сретенка, 29

**Контакты:** Надежда Павловна Ермакова ne518@yandex.ru

**Введение.** Нейротоксичность является одним из специфических системных осложнений противоопухолевой химиотерапии. Выявление в эксперименте на животных осложнений психотропного или нейротропного действия нового препарата является одной из наиболее сложных проблем предклинической токсикологии. Проведено доклиническое токсикологическое изучение влияния бинарной каталитической системы «терафтал + аскорбиновая кислота» на центральную нервную систему (ЦНС).

**Цель исследования** — прогноз токсических эффектов бинарной каталитической системы при ее клиническом применении.

**Материалы и методы.** Работа проведена на 300 мышах-самцах гибридах (CBA × C57 Bl/6J) F1. Терафтал — российский препарат. Бинарную каталитическую систему вводили внутривенно однократно в близкой к максимально переносимой дозе: терафтал 50 мг/кг + аскорбиновая кислота 100 мг/кг и в терапевтической дозе: терафтал 20 мг/кг + аскорбиновая кислота 44 мг/кг. Полученные данные сравнивали с данными контрольных животных, получавших 0,9 % раствор хлорида натрия, и с данными животных, получавших один терафтал и одну аскорбиновую кислоту в эквивалентных дозах. Для оценки нейротоксичности использовались тесты стандартного нейрофармакологического скрининга. Проводили оценку эмоционального статуса, мышечного тонуса. Поведение оценивали в тестах «открытое поле» и «агрессивность». Оценивали реакцию на болевое раздражение, изменение ректальной температуры тела. Высшие интегративные функции мозга исследовались на модели условного рефлекса пассивного избегания. Оценивали влияние на судорожную готовность ЦНС.

**Результаты.** Каталитическая система изменяла общее состояние животных. Это проявлялось, с одной стороны, в подавлении их общей активности (вялости, гиподинамии вплоть до адинамии, миорелаксации, заваливании на бок, урежении дыхания), с другой — в повышении их возбудимости (при нахождении в группе некоторые животные принимали характерные агрессивные стойки, в ряде случаев наблюдались судороги). У этих животных наблюдались экзофтальм, появление позы «лягушки», позы «молящейся мыши», стремления спрятаться. Угнетающее действие каталитической системы было дозозависимо. Наблюдали угнетение различных форм поведения, эмоционального статуса, снижение температуры тела и болевой чувствительности, в тесте на агрессивность — уменьшение количество схваток, в тесте «открытое поле» — подавление двигательной активности. Спонтанные судороги при провокации коразолом бинарная каталитическая система не усиливала.

**Заключение.** Полученные данные позволяют прогнозировать токсические эффекты со стороны ЦНС при клиническом применении бинарной каталитической системы «терафтал + аскорбиновая кислота»: общую заторможенность, вялость, гиподинамию, снижение температуры тела, повышение тревожности и агрессивности и, в очень редких случаях, возникновение судорог.

**Ключевые слова:** новое противоопухолевое средство, бинарная каталитическая система «терафтал + аскорбиновая кислота», центральная нервная система, нейротоксичность

DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-2-42-49

## THE IMPACT OF A BINARY CATALYST SYSTEM «TEREFTAL + ASCORBIC ACID» ON THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

N.P. Ermakova<sup>1</sup>, S.S. Trofimov<sup>2</sup>, N.Y. Kulbachevskaya<sup>1</sup>, O.I. Konyaeva<sup>1</sup>, V.M. Bukhman<sup>1</sup>, L.M. Michailova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe shosse, Moscow 115478, Russia;

<sup>2</sup>Moscow State University of Psychology and Education; 29 Sretenka Str., Moscow 127051, Russia

**Introduction.** Neurotoxicity is one of the specific systemic complications of anticancer chemotherapy. Detection in experimental animals complications of psychotropic or neurotropic action of the new drug is one of the most difficult challenges of preclinical toxicology. Pre-clinical toxicological study of the effect of a binary catalyst system «tereftal + ascorbic acid» on the central nervous system (CNS).

**Objective.** The prediction of toxic effects of binary catalytic system in clinical application in patients.

**Materials and methods.** The study was conducted on 300 male mice hybrids (CBA × C57 Bl/6J) F1. Have tereftal — russian drug. A binary catalyst system was injected intravenously once at close to the maximum tolerated dose — 50 mg/kg tereftal + 110 mg/kg

ascorbic acid and in therapeutic dose — 20 mg/kg tereftal + 44 mg/kg ascorbic acid. The obtained data were compared with a control animal treated with saline solution and with the data of animals treated with one tereftal and one ascorbic acid in equivalent doses. To assess neurotoxicity tests used standard neuropharmacological screening. An assessment of emotional status, muscle tone were undertaken. Behavior was evaluated in the tests «open field» and «aggression». We evaluated the response to pain stimulation, the change in rectal body temperature. Higher integrative brain functions were investigated on the model of the conditioned reflex of passive avoidance. Estimated effect on convulsive readiness of the CNS.

**Results.** The catalytic system changed the general condition of the animals. This was manifested, on the one hand, in the suppression of their overall activity (sluggishness, inactivity until weakness, muscle relaxation, the lowering side, the slowing of breathing), the other — to increase their excitability (when in group, some animals adopted a characteristic aggressive stands, in some cases seizures). These animals were observed exophthalmos, the appearance of the position «frog», posture «praying mouse», the desire to hide. The inhibitory effect of the catalytic system was dose-dependent. Observed inhibition of various forms of behavior, emotional status, decrease in body temperature and pain sensitivity, in the test for aggression — reducing the number of fights, in open field test — locomotor activity suppression. Spontaneous seizures in the provocation corazol binary catalytic system was not strengthened.

**Conclusion.** The obtained data allow to predict toxic effects from the CNS during clinical use of binary catalytic system «tereftal + ascorbic acid»: total confusion, lethargy, physical inactivity, decrease in body temperature, increased anxiety and aggression and, in very rare cases, the occurrence of seizures.

**Key words:** anticancer drug, a binary catalyst system «tereftal + asorbic acid», the central nervous system, neurotoxicity

## Введение

Нейротоксичность является одним из специфических системных осложнений противоопухолевой химиотерапии. Выявление в эксперименте на животных осложнений психотропного или нейротропного действия нового препарата является одной из наиболее сложных проблем предклинической токсикологии. Особенно трудно оценить отсроченное нейротоксическое действие препаратов. Сегодня влияние противоопухолевых препаратов на центральную нервную систему (ЦНС) определяется нередко лишь при их клиническом применении. Проявления нейротоксичности противоопухолевых препаратов (тошнота, рвота, диспепсия, дисфория, головокружение, адинамия, головная боль, нарушение слуха, зрения, сна, чувствительности, неврологическая боль, судороги и другие неврологические расстройства) не только снижают субъективное качество жизни онкологических больных, но иногда являются основной причиной отмены препарата. Для некоторых противоопухолевых препаратов нейротоксичность является лимитирующей. К таким препаратам относятся винкаалкалоиды, подофиллотоксины, препараты комплексных соединений платины, таксаны, метотрексат при интратекальном и интравентрикулярном введениях, БиКНУ при интракаротидном введении и другие препараты [1–3]. Предклиническая оценка характера нейротропного действия противоопухолевых препаратов, прогнозирование их нейротоксичности при применении в клинике решают конкретные вопросы безопасности применения таких лекарств, а также позволяют избежать неопределенностей в диагностике изменений со стороны ЦНС, возникших при фармакотерапии.

В последние годы в химиотерапии злокачественных новообразований интенсивно развивается новое перспективное направление, получившее название бинарной терапии опухолей [4–7], механизм действия которой связан с образованием свободнорадикальных частиц при взаимодействии 2 компонентов. Новая стратегия бинарной каталитической терапии была предложена академиком М.Е. Вольпиным (Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова РАН (ИНЭОС РАН)), в соответствии с этой стратегией для генерации активных форм кислорода (АФК) использовались биогенные восстановители (аскорбиновая кислота, тиолы и др.) [5, 8–10]. Была сформулирована идея о возможности подавления роста злокачественных опухолей каталитической системой, состоящей из металлокомплекса кобальта и биогенного восстановителя — аскорбиновой кислоты (АК) [4, 11]. Исследования в ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» (РОНЦ им. Н.Н. Блохина) Минздрава России цитотоксических свойств металлокомплексов кобальта и их сочетания с АК *in vitro* и *in vivo* позволили отобрать фталоцианиновый комплекс кобальта  $\text{CoPc}(\text{COONa})_8$  как вещество, обладающее в сочетании с АК наиболее сильным цитотоксическим эффектом [12–14]. Отобранный комплекс фталоцианина получил название «терафтал» (ТФ) и был рекомендован в качестве эффективного источника АФК — кислородосодержащих радикалов ( $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) для разработки на его основе лекарственного средства — бинарной каталитической системы «терафтал + аскорбиновая кислота» (БКС (ТФ + АК)) для терапии опухолей.

В данной работе представлено экспериментальное изучение влияния ТФ и БКС (ТФ + АК) на ЦНС

для оценки их нейротоксического действия и прогнозирования токсических эффектов при применении в клинике. Для этого оценивался характер поведенческих реакций мышей после применения вышеуказанных лекарственных средств.

Исследование проводили на стандартных сертифицированных животных в соответствии с российскими и международными требованиями по использованию животных моделей [15–18].

### Материалы и методы

Эксперименты выполнены в соответствии с методическими рекомендациями по изучению влияния противоопухолевых препаратов на функциональное состояние ЦНС [19, 20] на 300 мышах-самцах гибридах (СВА × С57 В1/6J) F1 с массой тела 20–25 г, полученных из питомника ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России (филиал «Столбовая»). Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище.

ТФ — российский препарат, создан в ФГУП ГНЦ «Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей» и ИНЭОС РАН совместно с ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и предложен в сочетании с АК как эффективное средство для бинарной каталитической терапии опухолей.

ТФ растворяли *ex tempore* в 0,9 % растворе хлорида натрия до 1 % концентрации ТФ. АК применяли в виде официального 5 % раствора для инъекций. При введении БКС (ТФ + АК) АК применяли с интервалом 1 ч после введения ТФ в фиксированном весовом соотношении 1 : 2,2. БКС (ТФ + АК) вводили внутривенно однократно в близкой к максимально переносимой дозе — 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК и в терапевтической дозе — 20 мг/кг ТФ + 44 мг/кг АК. Полученные данные сравнивали с данными контрольных животных, получавших 0,9 % раствор хлорида натрия, и с данными животных, получавших один ТФ и одну АК в эквивалентных дозах. Для оценки изменений характера поведенческих реакций при заведомо известном токсическом действии ТФ [21] препарат вводили в дозе, близкой к полуметальной, — 100 мг/кг. Опытные группы состояли из 15 мышей, контрольные группы — из 20 мышей. Поведенческие реакции животных оценивали через 1 и 24 ч после введения препаратов.

Для оценки нейротоксичности изучаемых препаратов использовались тесты стандартного нейрофармакологического скрининга. Оценка эмоционального статуса [22] проводилась в баллах по следующей шкале: 0 — отсутствие реакции, 3 — максимальная реакция. Мышечный тонус оценивали в тестах координации на горизонтальной проволоке [23]

и удерживания на перевернутой сетке [24]. Поведение мышей оценивали в тестах: «открытое поле» (фиксировали количество посещений отверстий в полу в течение 2 мин) [25] и «агрессивность» (фиксировали число схваток при слабом электроболевым раздражении через пол) [26]. Оценивали реакцию мышей на болевое раздражение в виде зажима основания хвоста по модифицированной методике [27] (оценка проводилась по следующей шкале: 0 — отсутствие реакции, 4 — максимальная реакция с вокализацией). Оценивали изменение ректальной температуры тела мышей. Высшие интегративные функции мозга исследовались на модели условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) [28], где мышь избегает перехода в ранее предпочитаемое затемненное отделение экспериментальной камеры, в котором она при обучении получила болевое раздражение. Для оценки влияния на судорожную готовность ЦНС мышам подкожно вводили коразол в дозе 50 мг/кг. Учитывали количество животных (в %) с клоническими судорогами, тоническими судорогами, количество погибших животных и латентный период появления первых судорог после введения коразола.

Статистическую значимость различий оценивали с помощью дисперсионного анализа Краскела—Уоллиса [29]. Если различия были достоверны ( $p < 0,05$ ), проводилось попарное сравнение по непараметрическому U-критерию Манна—Уитни [30]. Различия числа животных оценивали по критерию  $\chi^2$  [29].

### Результаты и их обсуждение

БКС (ТФ + АК) в исследованных дозах: 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК и 20 мг/кг ТФ + 44 мг/кг АК — изменяла общее состояние животных. Это проявлялось, с одной стороны, в подавлении их общей активности (вялости, гиподинамии вплоть до адинамии, миорелаксации, заваливании на бок, урежении дыхания), с другой — в повышении их возбудимости (при нахождении в группе некоторые животные принимали характерные агрессивные стойки, в ряде случаев наблюдались судороги). Кроме того, у этих животных наблюдались экзофтальм, появление позы «лягушки», позы «молящейся мыши», стремления спрятаться. Угнетающее действие БКС (ТФ + АК) было дозозависимо. Это же наблюдалось при воздействии одного ТФ в дозе 50 мг/кг и в меньшей степени в дозе 20 мг/кг. АК оказывала активирующее действие в дозах 110 и 44 мг/кг без общего подавляющего эффекта.

БКС (ТФ + АК) не изменяла эмоционального статуса животных, за исключением вокализаций при применении в дозе 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК. ТФ в дозах 50 и 20 мг/кг не влиял на эмоциональность животных, а АК в дозе 44 мг/кг усиливала ее

**Таблица 1.** Влияние терафтал, аскорбиновой кислоты и бинарной каталитической системы «терафтал + аскорбиновая кислота» на эмоциональное состояние подопытных мышей

Показатель	0,9 % раствор хлорида натрия	Терафтал, мг/кг			Аскорбиновая кислота, мг/кг		Терафтал + аскорбиновая кислота, мг/кг	
		20	50	100	44	110	20 + 44	50 + 110
Реакция на захват рукой (в баллах)	2,6 ± 0,2	2,6 ± 1,0	2,4 ± 0,3	2,1 ± 0,4	2,75 ± 0,1	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,3	1,7 ± 0,5
Реакция на приближение пинцета к носу (в баллах)	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,5	1,9 ± 0,1	1,7 ± 0,2	2,4 ± 0,3	2,1 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,3 ± 0,1
Реакция на подталкивание сзади (в баллах)	1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,2	2,3 ± 0,2*	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,1
Вокализация (число звуков)	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,8 ± 0,8	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0
Дефекация (число болюсов кала)	0	0	0,2 ± 0,2	0	0	0	0,7 ± 0,4	0
Уринация (число капель мочи)	0	0	0	0	0	0	0	0

**Примечание.** \* $p < 0,05$  статистически достоверно по сравнению с контролем (с мышами, получившими 0,9 % раствор хлорида натрия).

**Таблица 2.** Влияние терафтал, аскорбиновой кислоты и бинарной каталитической системы «терафтал + аскорбиновая кислота» на мышечный тонус подопытных мышей, оцененный по удерживанию на перевернутой сетке

Показатель	0,9 % раствор хлорида натрия	Терафтал, мг/кг			Аскорбиновая кислота, мг/кг		Терафтал + аскорбиновая кислота, мг/кг	
		20	50	100	44	110	20 + 44	50 + 110
Число мышей (%), удержавшихся на сетке	83,3	83,3	66,7	50	83,3	66,7	100	50,0
Время удерживания на сетке (с)	55,8 ± 4,2	60,0 ± 2,1	47,5 ± 8,1	43,8 ± 0,3	52,0 ± 8,0	50,3 ± 6,1	60,0 ± 0	45,5 ± 6,9

**Примечание.** \* $p < 0,05$  статистически достоверно по сравнению с контролем (с мышами, получившими 0,9 % раствор хлорида натрия).

по показателю реакции на подталкивание сзади (табл. 1). БКС (ТФ + АК), один ТФ и одна АК в изученных дозах не влияли на координацию движения на горизонтальной проволоке.

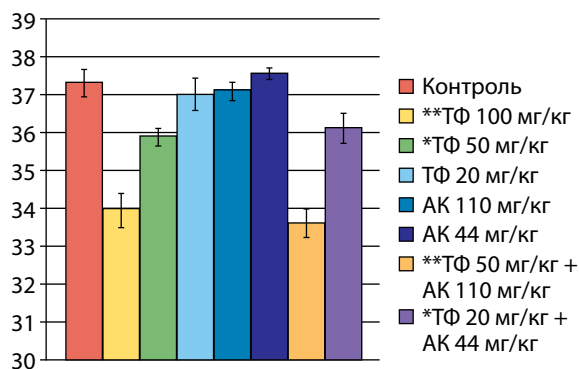
БКС (ТФ + АК) в дозе 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК и один ТФ в дозе 100 мг/кг проявляли лишь тенденцию к снижению мышечного тонуса по показателям числа мышей, удержавшихся в течение 1 мин на перевернутой сетке, и по сокращению среднего времени этого удерживания (табл. 2).

Подавляющее действие БКС (ТФ + АК) проявлялось и в ее гипотермическом действии (рис. 1): в дозе 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК БКС (ТФ + АК) снижала температуру тела животных почти на 4 °С, а в дозе 20 мг/кг ТФ + 44 мг/кг АК — проявляла тенденцию к снижению показателя на 1 °С. Один ТФ также дозозависимо снижал температуру тела мышей на 1,5–3,0 °С. Одна АК не оказывала влияния на температуру тела животных по сравнению с температурой тела контрольных мышей.

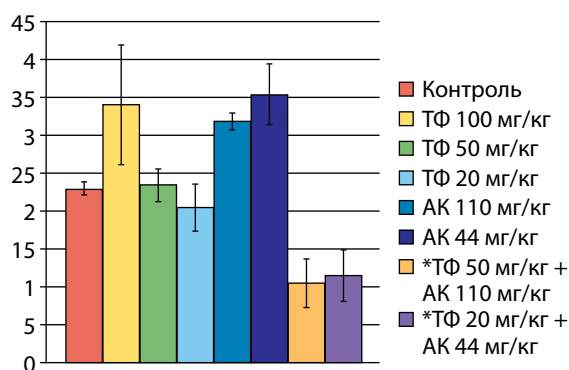
В тесте на агрессивность БКС (ТФ + АК) не только не увеличивала агрессивность, а статистически значимо уменьшала количество схваток в обеих исследованных дозах (рис. 2). При применении одного ТФ явного увеличения агрессивности выявлено не было. АК активировала животных по этому показателю: по сравнению с контрольными животными число схваток было увеличено при применении препарата в обеих исследованных дозах (44 мг/кг и 110 мг/кг) (рис. 2).

В тесте на болевую чувствительность подавляющее действие БКС (ТФ + АК) проявлялось только при применении БКС в дозе 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК. Применение животным одного ТФ, как и одной АК, в этом тесте не оказывало влияния на болевую чувствительность (рис. 3).

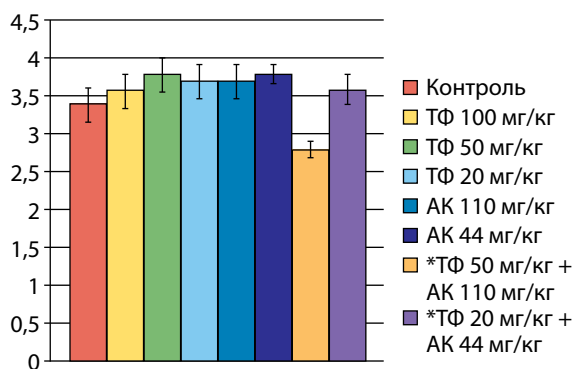
В тесте «открытое поле» БКС (ТФ + АК) показала дозозависимый эффект подавления двигательной активности. При воздействии БКС (ТФ + АК) в дозе 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК снижались все 3 показателя: горизонтальная (рис. 4), вертикальная (рис. 5)



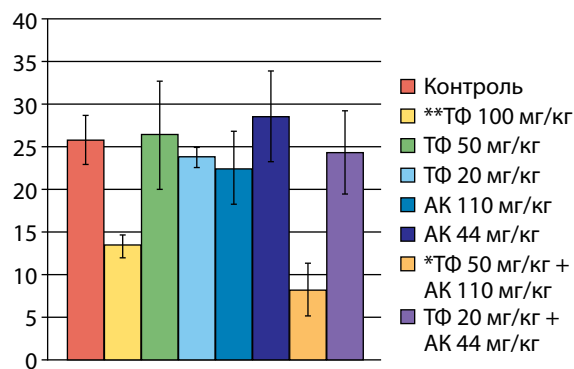
**Рис. 1.** Влияние терафала (ТФ), аскорбиновой кислоты (АК) и би-нарной каталитической системы «терафал + аскорбиновая кислота» на температуру тела подопытных мышей: по вертикали — температура тела в градусах по Цельсию; контроль — интактные мыши; ТФ — мыши, получавшие только ТФ; АК — мыши, получавшие только АК; ТФ + АК — мыши, получавшие ТФ + АК; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  статистически достоверно по сравнению с контролем



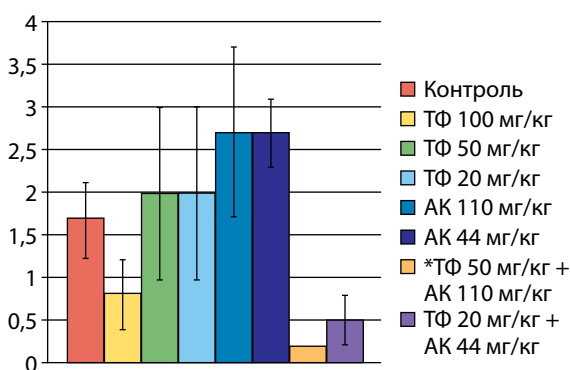
**Рис. 2.** Влияние терафала (ТФ), аскорбиновой кислоты (АК) и би-нарной каталитической системы «терафал + аскорбиновая кислота» на агрессивность подопытных мышей при слабом электролевым раздражении через пол: по вертикали — число схваток; контроль — интактные мыши; ТФ — мыши, получавшие только ТФ; АК — мыши, получавшие только АК; ТФ + АК — мыши, получавшие ТФ + АК; \* $p < 0,05$  статистически достоверно по сравнению с контролем



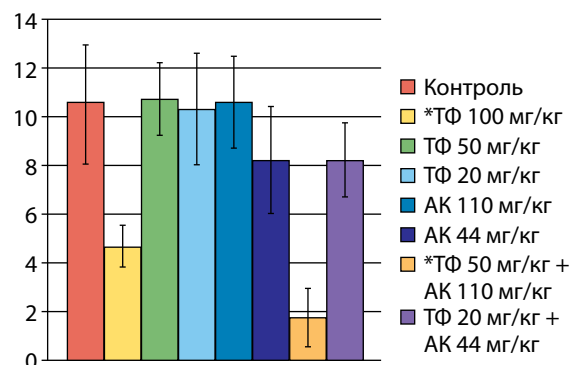
**Рис. 3.** Влияние терафала (ТФ), аскорбиновой кислоты (АК) и би-нарной каталитической системы «терафал + аскорбиновая кислота» на реакцию подопытных мышей на болевое раздражение в виде защемления корня хвоста: по вертикали — выраженность реакции в баллах; контроль — интактные мыши; ТФ — мыши, получавшие только ТФ; АК — мыши, получавшие только АК; ТФ + АК — мыши, получавшие ТФ + АК; \* $p < 0,05$  статистически достоверно по сравнению с контролем



**Рис. 4.** Влияние терафала (ТФ), аскорбиновой кислоты (АК) и би-нарной каталитической системы «терафал + аскорбиновая кислота» на горизонтальную активность подопытных мышей: по вертикали — число пересеченных квадратов пола; контроль — интактные мыши; ТФ — мыши, получавшие только ТФ; АК — мыши, получавшие только АК; ТФ + АК — мыши, получавшие ТФ + АК; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  статистически достоверно по сравнению с контролем



**Рис. 5.** Влияние терафала (ТФ), аскорбиновой кислоты (АК) и би-нарной каталитической системы «терафал + аскорбиновая кислота» на вертикальную активность подопытных мышей: по вертикали — число вертикальных стоек; контроль — интактные мыши; ТФ — мыши, получавшие только ТФ; АК — мыши, получавшие только АК; ТФ + АК — мыши, получавшие ТФ + АК; \* $p < 0,05$  статистически достоверно по сравнению с контролем



**Рис. 6.** Влияние терафала (ТФ), аскорбиновой кислоты (АК) и би-нарной каталитической системы «терафал + аскорбиновая кислота» на исследовательскую активность подопытных мышей: по вертикали — число заглядываний в отверстия в полу; контроль — интактные мыши; ТФ — мыши, получавшие только ТФ; АК — мыши, получавшие только АК; ТФ + АК — мыши, получавшие ТФ + АК; \* $p < 0,05$  статистически достоверно по сравнению с контролем



**Таблица 3.** Влияние терафтал, аскорбиновой кислоты и бинарной каталитической системы «терафтал + аскорбиновая кислота» на судороги подопытных мышей, вызванные коразолом

Показатель	0,9 % раствор хлорида натрия	Терафтал, мг/кг			Аскорбиновая кислота, мг/кг		Терафтал + аскорбиновая кислота, мг/кг	
		20	50	100	44	110	20 + 44	50 + 110
Число животных (%) с судорогами	50,0	16,7	33,3	33,3	50,0	16,7	16,7	33,3
Латентное время (с) первых судорог	18,0 ± 2,1	15,0 ± 0	9,0 ± 2,0	12,5 ± 3,5	11,7 ± 1,9	15,0 ± 0	14,0 ± 0	12,0 ± 0

**Примечание.** \* $p < 0,05$  статистически достоверно по сравнению с контролем (с мышами, получившими 0,9 % раствор хлорида натрия).

**Таблица 4.** Влияние терафтал, аскорбиновой кислоты и бинарной каталитической системы «терафтал + аскорбиновая кислота» на поведение подопытных мышей в тесте условного рефлекса пассивного избегания

Показатель	0,9 % раствор хлорида натрия	Терафтал, мг/кг			Аскорбиновая кислота, мг/кг		Терафтал + аскорбино- вая кислота, мг/кг	
		20	50	100	44	110	20 + 44	50 + 110
Число животных (%), зашедших в затемненное отделение:								
До обучения	100	0*	33,3	66,7	100	83,3	0*	33,3
После обучения	33,3	—	50,0	0	16,7	20,0	—	50,0
Латентный период (с) 1-го захода в затемненное отделение:								
До обучения	117,0 ± 22,4	180	93,5 ± 5,5	108,0 ± 27,4	75,2 ± 23,5	85,2 ± 14,4	180,0 ± 0	92,0 ± 3,0
После обучения	166,2 ± 8,8	—	100,5 ± 79,5	180,0 ± 0	179,3 ± 0,7	164,6 ± 15,4	—	143,5 ± 36,5
Время пребывания (с) в затемненном отделении:								
До обучения	17,5 ± 3,5	0	75,5 ± 3,5	68,5 ± 24,9	53,7 ± 14,1	70,8 ± 21,2	0	84,0 ± 7,0
После обучения	4,5 ± 4,1	—	58,0 ± 19,3	0	0,7 ± 0,2	15,40 ± 5,13	—	36,5 ± 12,2

**Примечание.** \* $p < 0,05$  статистически достоверно по сравнению с контролем (с мышами, получившими 0,9 % раствор хлорида натрия).

и исследовательская активность (рис. 6). При воздействии БКС (ТФ + АК) в дозе 20 мг/кг ТФ + 44 мг/кг АК наблюдалась лишь тенденция к уменьшению вертикальной активности (рис. 5). Один ТФ при применении в дозе 100 мг/кг уменьшал горизонтальную активность (рис. 4) и число заглядываний в отверстия пола (рис. 6), а также проявлял тенденцию к уменьшению вертикальной активности (рис. 5).

Несмотря на то, что БКС (ТФ + АК), как и один ТФ, в исследованных дозах вызывала у некоторых мышей спонтанные судороги, при провокации коразолом они не усиливались. АК также не усиливала судорожного действия коразола (табл. 3).

При изучении поведения мышей в камере Буреша для выработки УРПИ нейротоксические свойства БКС (ТФ + АК) проявлялись особенно ярко. На фоне действия БКС (ТФ + АК) животные, при их помещении в большее освещенное отделение камеры,

во многих случаях оставались неподвижными, не проявляя признаков активности, в том числе не пытались перейти в меньшее затемненное отделение (нарушение «норкового рефлекса»). При применении БКС (ТФ + АК) в дозе 20 мг/кг ТФ + 44 мг/кг АК ни одна из подопытных мышей не зашла в обычно предпочитаемое меньшее затемненное отделение. При применении БКС (ТФ + АК) в дозе 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК только 1/3 животных заходила в затемненное отделение. Те же нарушения были отмечены и при применении одного ТФ. При таком нарушении исходного поведения процесс выработки навыка был невозможен и оценить влияние каталитической системы на мнестические функции невозможно. АК не влияла на число мышей, зашедших в затемненное отделение камеры, проявляя тенденцию к сокращению латентного периода 1-го захода в это отделение и к увеличению времени пребывания

в нем, что, вероятно, связано с активирующим действием препарата. При воспроизведении УРПИ через 24 ч после обучения отличий от контрольных животных в действии АК не выявлено (табл. 4).

Как следует из приведенных данных, нейротоксический эффект ТФ проявляется в угнетении различных форм поведения, в снижении температуры и болевой чувствительности. БКС (ТФ + АК) в нетоксической дозе 50 мг/кг ТФ + 110 мг/кг АК во многих тестах оказывает такое же нейротоксическое действие, как и ТФ в токсической дозе 100 мг/кг. Такие результаты позволяют предположить, что АК, проявляющая противоположный активирующий эффект при изолированном применении, оказывает потенцирующее действие на ТФ.

Так как ТФ не проникает через гематоэнцефалический барьер [31], можно предположить, что подавляющий эффект БКС (ТФ + АК) и одного ТФ связан с угнетением симпатической активности периферической нервной системы и действием метаболитов ТФ. В пользу угнетения симпатической активности периферической нервной системы свидетельствует развитие у животных отдельных вегетативных изменений, наблюдавшихся нами ранее при оценке общетоксического действия: резкое падение артериального давления, урежение сердечных сокращений и дыхания, экзофтальм [32]. В пользу центрального действия метаболитов ТФ свидетельствуют наблюдавшиеся отдельные спонтанные клонико-тонические судороги, которые могут возникать вследствие действия низкомолекулярных соедине-

ний кобальта, образование которых возможно при биотрансформации ТФ [33, 34]. Однако эпилептогенный эффект БКС (ТФ + АК) и ТФ невелик, поскольку она не приводила к усилению коразоловых судорог.

Агрессивность и судорожная активность часто коррелируют с повышенной тревожностью [35]. Снижение активности в открытом поле и замирание в освещенном отделении камеры для выработки УРПИ можно было бы рассматривать как поведенческое проявление страха. В пользу этого свидетельствуют проявления спонтанной агрессивности, которая может наблюдаться в ситуации, вызывающей страх. Отсутствие уменьшения проявлений тревожности в виде вокализации на фоне применения БКС (ТФ + АК) противоречит поведенческим проявлениям тревожности. Тем не менее, это не исключает общего снижения активности, вызванного БКС (ТФ + АК) и одним ТФ, в различных тестах за счет угнетения симпатической активности в экстремальной ситуации и проявления преимущественно парасимпатического эффекта.

### Заключение

Полученные данные по нейротоксическому действию БКС (ТФ + АК) позволяют прогнозировать ее дозозависимые токсические эффекты со стороны ЦНС при клиническом применении: общую заторможенность, вялость, гиподинамию, снижение температуры тела, повышение тревожности и агрессивности и, в очень редких случаях, возникновение судорог.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гершанович Л.Л. В кн.: Осложнения при химио- и гормонотерапии злокачественных опухолей. М.: Медицина, 1982. С. 69–73.
2. Михайлова Л.М., Трофимов С.С. Сравнительное изучение влияния циклоплатина и платидиама на центральную нервную систему. В сб.: Терапия, диагностика опухолей в эксперименте. М., 1990. С. 42–45.
3. Шакирова И.Н. Нейротоксичность современных противоопухолевых цитостатиков. В кн.: Энциклопедия клинической онкологии. Руководство для практикующих врачей. Под общ. ред. М.И. Давыдова, Г.Л. Вышковского. М.: РЛС, 2004. С. 914–923.
4. Вольпин М.Е., Кнорре Д.Г., Новодорова Г.Н. и др. Хелатные комплексы кобальта как катализаторы расщепления цепей ДНК. Докл. АН СССР 1989;298(2):363–6.
5. Вольпин М.Е., Крайнов Н.Ю., Москалев И.В. и др. Комплексы переходных металлов как катализаторы образования активных форм кислорода в реакциях автоокисления. Сообщение 1. Фталоцианиновые комплексы кобальта и железа. Известия РАН, серия химическая 1996;(8):2105–10.
6. Сыркин А.Б. О возможной роли свободных радикалов в канцерогенезе. Успехи современной биологии 1960;49(3):473–88.
7. Чиссов В.И., Соколов В.В., Филоненко Е.В. Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей. Краткий очерк развития и клинического применения в России. Российский химический журнал 1998;42(5):5–9.
8. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах. Итоги науки и техники, серия Биофизика 1991;29:1–5.
9. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах. Успехи современной биологии 1993;113(3):286–93.
10. Кузнецова Н.А., Каляя О.Л. Фотокаталитическая генерация активных форм кислорода в биологических средах в методе фотодинамической терапии. Российский химический журнал 1998;42(5):36–41.
11. Борисенкова С.А., Гиренко Е.К., Каляя О.Л. Механизмы окисления аскорбиновой кислоты и проблемы каталитической терапии рака. Российский химический журнал 1998;42(5):111–6.
12. Сыркин А.Б., Жукова О.С., Кикоть Б.С. и др. Терафтал – новый препарат для бинарной каталитической терапии

- злокачественных опухолей. Российский химический журнал 1998;42(5):1406.
13. Якубовская Р.И., Казачкина Н.И., Кармакова Т.А. Скрининг и медико-биологическое изучение отечественных фотосенсибилизаторов. Российский химический журнал 1998;42(5):17–23.
  14. Volpin M.E., Vorozhtsov G.N., Gerasimova G.K. et al. Patent «Agent for suppressing tumor growth». PCI Int. Appl. WO 97 03, 666 (Cl. A61K31/40), 6 Feb. 1997, RU. Appl. 95, 112, 240, 17 Jul. 1995, P. 16 (Russ).
  15. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, изложенные в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», ЕЭС, Страсбург, 1985. Ламнология 1993;1:29.
  16. Приказ Минздравсоцразвития России № 708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики».
  17. Рекомендации, содержащиеся в Директивах Европейского сообщества (86/609 ЕС), Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12.08.1977 и приказу Минсельхоза РФ № 490 от 05.11.2008 «Об утверждении правил проведения лабораторных исследований в области ветеринарии».
  18. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабаханян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных. Качественная клиническая практика 2002;1:58–61.
  19. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон П.Д. В кн.: Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Пер. с англ. М.: Высшая школа, 1991. С. 399–412.
  20. Михайлова Л.М., Сыркин А.Б., Гарин А.М., Барышников А.Ю. Методические указания по изучению общетоксического действия противоопухолевых фармакологических веществ. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд. перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. С. 13–23, 170–204.
  21. Михайлова Л.М., Коняева О.И., Членова Е.Л. и др. Доклиническая токсикология терафтал-лио и бинарной каталитической системы «терафтал-лио + аскорбиновая кислота». Вопросы онкологии 2001;46(6):695–700.
  22. Brady J.V., Nauta W.J. Subcortical mechanism in emotional behavioral: affective changes following septal forebrain lesions in the albino rat. J Comp Physiol Psychol 1953;46(3):339–41. PMID: 13109048.
  23. Boissier J.R., Simon P. L'utilisation du test de la traction test de Julon—Courvoisier pour l'étude de psycoleptiques. Therapie 1960;15(6):1170–4.
  24. Воронина Т.А., Вихляев Ю.И., Неробкова Л.Н. и др. Характеристики фармакологических свойств феназепама. В кн.: Феназепам. Киев: Наукова Думка, 1982. С. 87–151.
  25. Walsh R.N., Cummins R.A. The open-field test: a critical review. Psychol Bull 1976;83(3):482–504. PMID: 17582919.
  26. Tedeschi R., Tedeschi D., Mucha A. et al. Effects of various centrally acting drugs on fighting behavior of mice. J Pharmacol Exp Ther 1959;125(1):28–34.
  27. Haffner F. Experimentelle prüfung schmerzstillender mittel. Dtsch Med Wschr 1929;55:731–3.
  28. Bures J., Buresova O. Cortical spreading depression as a memory disturbing factor. J Comp Physiol Psychol 1963;56(2):268–72. PMID: 14016941.
  29. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. С. 141–147, 346–348.
  30. Mann H.B., Whitney D.R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. Ann Math Stat 1947;18:50–60.
  31. Зимакова Н.И. Фармакокинетические исследования нового препарата Терафтал для бинарной каталитической терапии злокачественных опухолей. Российский биотерапевтический журнал 2002;1(2):46–8.
  32. Ермакова Н.П., Михайлова Л.М., Трифонов А.И. и др. Влияние терафтал-лио на артериальное давление. Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции «Отечественные противоопухолевые препараты». Российский биотерапевтический журнал 2006;5(1):14.
  33. Лазарев Н.В. Вредные вещества в промышленности. Том 2. М.: Госхимиздат, 1954. С. 460–462.
  34. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. М.: Медицина, 1982. С. 150–157.
  35. Калув А.В. Стресс, тревожность и поведение (актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных). Киев: CSF, 1998. С. 98–102.