

Противоопухолевые эффекты сочетанного применения витаминов В₁, В₆ и В₁₂

О.А.Громова^{✉1,2}, И.Ю.Торшин¹, Д.Е.Фролова², М.В.Филимонова³

¹ФИЦ «Информатика и управление» РАН. 119333, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 44, корп. 2;

²ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России. 153462, Россия, Иваново, пр. Шереметевский, д. 8;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России. 249036, Россия, Обнинск, ул. Королева, д. 4

[✉]unesco.gromova@gmail.com

Цель – исследовать эффекты препарата Нейробион на рост и метастазирование злокачественных новообразований у мышей.

Методы. Исследования проведены на 25 самцах мышей-гибридов F₁ (возраст 2,5–3 мес, масса тела 23–26 г). В качестве опухолевой модели использована перевиваемая эпидермоидная карцинома легких Льюис (КЛЛ).

Результаты. Подопытные животные легко переносили препарат, не было отмечено каких-либо симптомов интоксикации. Воздействие препарата до 21-х суток развития КЛЛ сопровождалось нарастающей тенденцией торможения роста опухоли на 10–20% ($p=0,059$).

Выводы. При субхроническом внутривидовом введении препарата В₁₂ животным-опухоленосителям в ежедневной дозе 110 мг/кг наблюдается устойчивая тенденция к торможению роста КЛЛ. Антиметастатического действия при этом не отмечается.

Ключевые слова: карцинома легких, тиамин дисульфид, пиридоксин гидрохлорид, цианкобаламины.

Для цитирования: Громова О.А., Торшин И.Ю., Фролова Д.Е., Филимонова М.В. Противоопухолевые эффекты сочетанного применения витаминов В₁, В₆ и В₁₂. Неврология и Ревматология (Прил. к журн. Consilium Medicum). 2018; 1: 62–66. DOI: 10.26442/2414-357X_2018.1.62-66

ORIGINAL ARTICLE

Antitumor effects of combined use of vitamins В₁, В₆ and В₁₂

О.А.Gromova^{✉1,2}, I.Yu.Torshin¹, D.E.Frolova², M.V.Filimonova³

¹Federal Research Center Informatics and Management of the Russian Academy of Sciences. 119333, Russian Federation, Moscow, ul. Vavilova, d. 44, corp. 2;

²Ivanovo State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation. 153462, Russian Federation, Ivanovo, pr. Sheremetevskii, d. 8;

³National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation. 249036, Russian Federation, Obninsk, ul. Koroleva, d. 4

[✉]unesco.gromova@gmail.com

The aim is to investigate the effects of Neurobion on the growth and metastasis of malignant neoplasms in mice.

Methods. Studies were performed on 25 male F₁ mice (2.5–3 months old, body weight 23–26 g). As a tumor model, intermittent epidermoid Lewis lung carcinoma (LLC) was used.

Results. Experimental animals easily tolerated the drug with no symptoms of intoxication. The effect of the drug before the 21st day of the development of LLC was accompanied by the growing tendency of inhibition of tumor growth by 10–20% ($p=0.059$).

Conclusions. With subchronic intragastric administration of the В₁₂ preparations, tumor carriers in a daily dose of 110 mg/kg there is a stable tendency to inhibition of LLC growth. Antimetastatic action is not observed.

Key words: lung carcinoma, thiamine disulfide, pyridoxine hydrochloride, cyanocobalamines.

For citation: Gromova O.A., Torshin I.Yu., Frolova D.E., Filimonova M.V. Antitumor effects of combined use of vitamins В₁, В₆ and В₁₂. Neurology and Rheumatology (Suppl. Consilium Medicum). 2018; 1: 62–66. DOI: 10.26442/2414-357X_2018.1.62-66

Введение

Витамины группы В традиционно используются для лечения пациентов неврологического профиля в лечебных и профилактических целях, иногда длительно (недели и месяцы). Врач, назначающий витамины, оценивает целесообразность и безопасность применения их (особенно в повышенных лечебных дозах) с разных точек зрения. К примеру, интерес к теме «витамины и канцерогенез» возник в фокусе их потенциальной антиканцерогенности. Витамины играют важную роль в обмене ксенобиотиков, снижении воспаления, формировании антиоксидантной защиты организма. В конце 1980-х годов были получены данные об антиканцерогенном действии всех известных витаминов в физиологических дозах [1–4]. Противоопухолевое действие физиологических доз витаминов начинает осуществляться еще внутриутробно: употребление беременными витаминных комплексов снижает риск опухолей мозга у детей [5]. Важными витаминами, которые следует использовать для лечения опухолевых заболеваний, являются С, Е, D и витамины группы В [6].

Показано, что тиамин улучшает соматическое состояние при раке и не промотирует развитие опухоли или метастазирование [7]. Дефицит витаминов В₁₂, В₆ и фолатов не только способствует гипергомоцистеинемии (доказанному фактору риска опухолевых заболеваний) [8], но и приводит к снижению Т-клеточной антионкологической за-

щиты. Многолетнее применение комплексов витаминов группы В (В₁₂, В₆ и фолатов) полностью безопасно [9]. Регулярное потребление фолатов, витаминов В₆ и В₁₂ снижает риск развития рака молочной железы [10].

Опухолевые заболевания (в частности, опухоли желудка и кишечника) сопровождаются дефицитом витамина В₁₂. При этом, с одной стороны, было показано, что некоторые виды опухолей являются своего рода «ловушками» витамина В₁₂, захватывая витамин из организма пациента и создавая недостаточность витамина В₁₂ в организме. При распаде клеток таких опухолей у пациентов отмечаются кратковременные периоды повышения концентрации витамина В₁₂ в плазме крови. С другой стороны, результаты многочисленных экспериментальных исследований указали на то, что витамин В₁₂ может ингибировать рост опухолевых клеток. Данных о стимулирующем действии витамина В₁₂ на рост опухолей не имеется [11].

Противоопухолевое действие витаминов В₆ и В₁₂ обусловлено тем, что они принципиально необходимы для фолатного метаболизма, обезвреживания гомоцистеина, метилирования ДНК, биосинтеза нуклеотидов, профилактики анемических состояний. Нарушение протекания этих процессов, происходящее на фоне дефицита витаминов В₆, В₁₂ и других витаминов группы В, способствует канцерогенезу. Результаты клинических исследований показывают, что взаимосвязь между витамином В₁₂ и риском опухоле-

вых заболеваний опосредуется такими факторами, как потребление красного мяса, алкоголя и дефицитом витаминов группы В [11].

В настоящей работе исследованы эффекты воздействия водного раствора препарата Нейробион на рост и метастазирование злокачественных новообразований у мышей. Исследования проведены на 25 самцах мышей-гибридов F₁ (возраст 2,5–3 мес, масса тела 23–26 г). В качестве опухолевой модели использована перевиваемая эпидермоидная карцинома легких Льюис (КЛЛ).

Материалы и методы

Лабораторные животные. Исследования проведены на 25 самцах мышей-гибридов F₁ (СВА×С₅₇BL_{6j}) в возрасте 2,5–3 мес с массой тела 23–26 г. Животные были получены из питомника ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, имели ветеринарный сертификат и прошли 20-суточный карантин в виварии. Содержались в соответствии с требованиями Приказа Минздрава России №708н [12]: в клетках Т-3 в условиях естественного освещения и с принудительной 16-кратной вентиляцией, при температуре 18–20°C и относительной влажности воздуха 40–70%, на подстилке из простерилизованных древесных стружек, со свободным доступом к питьевой воде и корму. Животные получали стандартный брикетированный корм ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб», Россия). Все работы с лабораторными животными выполнены в соответствии с общепринятыми этическими нормами, на основе стандартных операционных процедур, принятых в МРНЦ им. А.Ф.Цыба, которые соответствуют правилам Европейской конвенции по защите животных, используемых для научных целей (ETS 123) [13].

Опухолевая модель

Исследования проведены на перевиваемой КЛЛ. Штамм КЛЛ получен из банка опухолевых материалов ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» и поддерживался на самцах мышей С₅₇BL_{6j}. Трансплантацию КЛЛ самцам мышей F₁ (СВА×С₅₇BL_{6j}) проводили подкожным введением 1,9×10⁶ опухолевых клеток в 0,1 мл суспензии в область латеральной поверхности правого бедра [14–16].

Экспериментальные группы, способ введения и дозировка препарата

Животных включали в опыт на 7-е сутки после перевивки КЛЛ, когда опухолевый узел уже сформировался и достигал измеряемого размера у всех мышей. Методом рандомизации животных распределили в 2 группы: контрольную (10 мышей) и подопытную (15 мышей). Животные контрольной группы в дальнейшем не получали никаких воздействий. Животным подопытной группы с 7 по 20-е сутки после трансплантации КЛЛ ежедневно внутривенно вводили препарат Нейробион.

Препарат Нейробион рекомендуется принимать по 1–3 таблетки в сутки курсом в 4–6 нед. Каждая таблетка весит 700 мг и содержит 100 мг тиамин дисульфида, 200 мг пиридоксина гидрохлорида и 200 мкг цианокобаламина. В соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств [17] коэффициент пересчета для мышей составляет 11,8. Поэтому препарат у подопытных животных применялся в дозе 110 мг/кг (в пересчете на витамин: тиамин дисульфида – 15,6 мг/кг, пиридоксина гидрохлорида – 31,2 мг/кг, цианокобаламина – 31,2 мкг/кг). Таблетка препарата измельчалась и давалась в 1% крахмаль-



IV Международный КОНГРЕСС и ВЫСТАВКА ФИЗИОТЕРАПИЯ. ЛЕЧЕБНАЯ ФИЗКУЛЬТУРА. РЕАБИЛИТАЦИЯ. СПОРТИВНАЯ МЕДИЦИНА

30–31 октября 2018. Москва, Крокус Экспо, Павильон №2



В рамках двухдневной программы конгресса запланировано проведение симпозиумов, лекций и мастер-классов. В числе вопросов, поднимаемых на конгрессе — традиционные и современные методы реабилитации, физиотерапии и ЛФК, методические вопросы организации физиотерапевтической помощи, а также обсуждение возможностей комплексного использования фармацевтических медицинских технологий и нелекарственных методик.



Организаторы конгресса



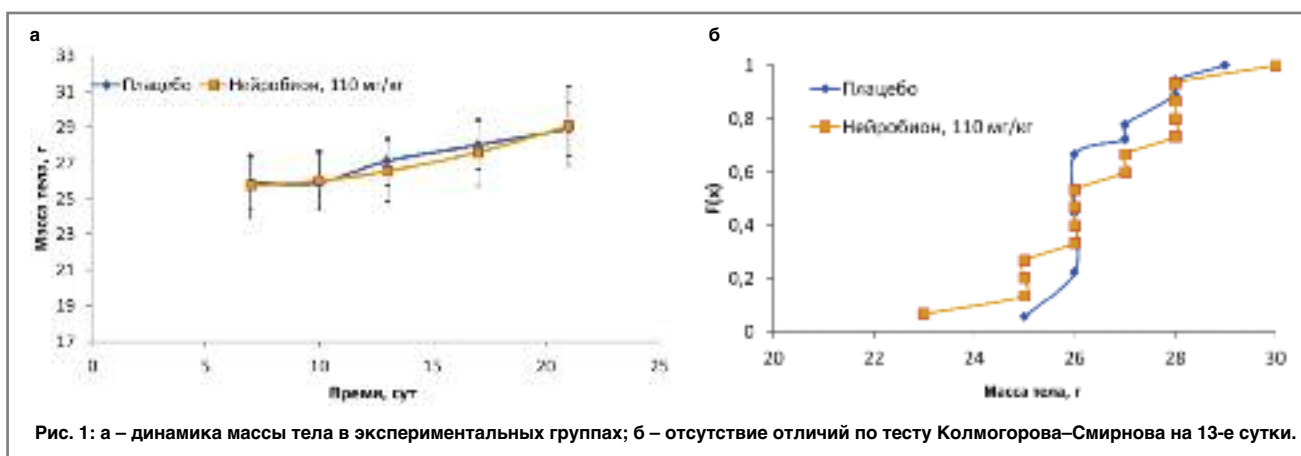
По вопросам участия, пожалуйста, обращайтесь в оргкомитет Конгресса:

Наталья Ломоносова event@mb-solutions.ru
8 499 500 93 96 / 8 926 696 88 60



Агентство MBS
event@mb-solutions.ru
8 499 500 9396
www.event-mbs.ru

Группа	Средняя масса тела животных, г (M±SD)				
	7-е сутки	10-е сутки	13-е сутки	17-е сутки	21-е сутки
Плацебо (n=10)	25,9±1,4	25,9±1,6	27,1±1,4	28,0±1,3	28,9±1,5
Нейробион (n=15)	25,7±1,9	26,0±1,7	26,5±1,7	27,6±1,9	29,1±2,2



Группа	Средний объем опухоли, мм³ (M±SD)				
	7-е сутки	10-е сутки	13-е сутки	17-е сутки	21-е сутки
Плацебо (n=10)	30±14	243±99	547±128	1091±298	2612±804
Нейробион (n=15)	38±24	193±61	455±147	986±239	1999±409

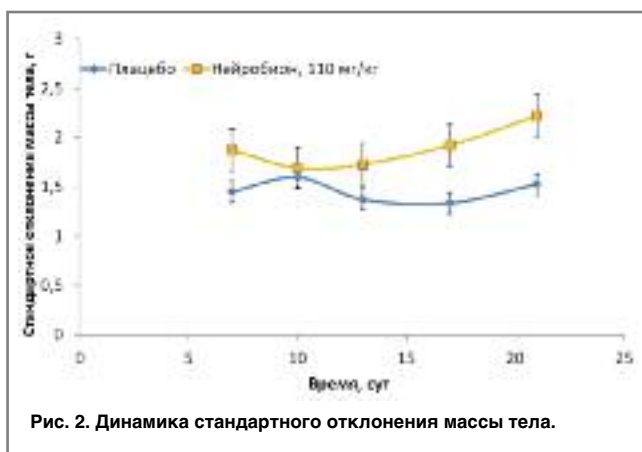
ном теле, который изготавливали ex tempore. В качестве плацебо использовалось соответствующее количество 1% крахмального геля без добавления препарата Нейробион.

Оценка эффектов

Переносимость препарата Нейробион оценивали путем ежедневного наблюдения за животными, в котором изучался неврологический статус по характеру спонтанной двигательной активности, общей возбудимости и реакции на тактильные и звуковые раздражители, а также по пищевой активности животных и динамике прироста их массы тела.

Влияние препарата Нейробион на опухолевый процесс изучали по динамике роста и активности метастазирования КЛЛ. Для этого каждые 3–4 сут у всех животных проводили измерение калипером двух диаметров опухолевых узлов: L – максимальный диаметр узла; W – диаметр, ортогональный к L. Расчет объемов узлов проводили в приближении:

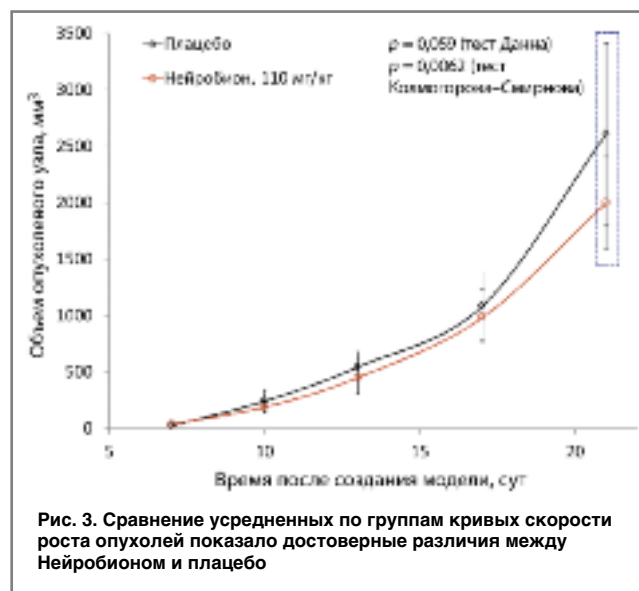
$$V = L \times W^2 \times \frac{\pi}{6},$$



которое надежно коррелирует с данными магнитно-резонансной томографии [14]. Влияние препарата на рост КЛЛ оценивали путем статистического сравнения объема опухолевых узлов в контрольной и подопытной группах на различных сроках наблюдения и индекса торможения роста (ТРО):

$$ТРО = \frac{V_k - V_0}{V_k} \times 100\%,$$

где V_k и V_0 – средние объемы узлов в контрольной и опытной группе [15]. На 21-е сутки роста карциномы животных выводили из опыта путем цервикальной дислокации под эфирным наркозом, выделяли легкие, фиксировали их 24 ч в жидкости Буэна и далее проводили подсчет числа крупных и мелких легочных метастазов.



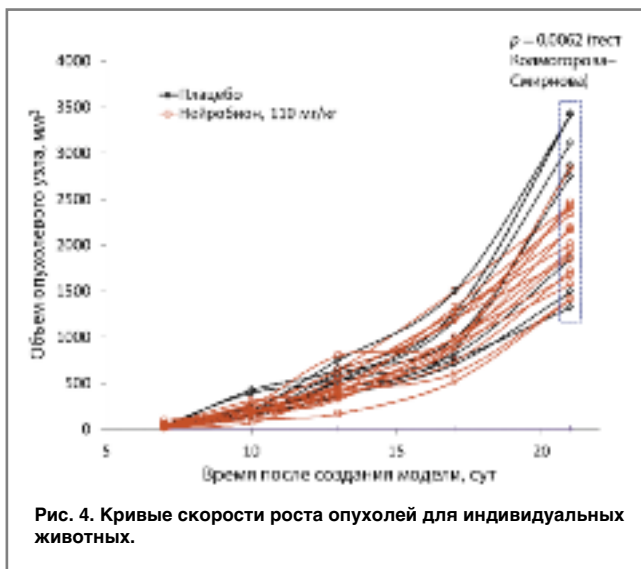


Рис. 4. Кривые скорости роста опухолей для индивидуальных животных.

Влияние препарата Нейробион на процессы метастазирования и рост метастазов оценивали путем статистического сравнения числа метастазов в контрольной и опытной группах.

Статистическая обработка

Статистическую оценку значимости межгрупповых различий приводили с помощью U-критерия Манна–Уитни. Различия полагали достоверными на 0,05-м уровне значимости. Расчеты выполнены с помощью программного пакета Statistica 7.0, MS Excel.

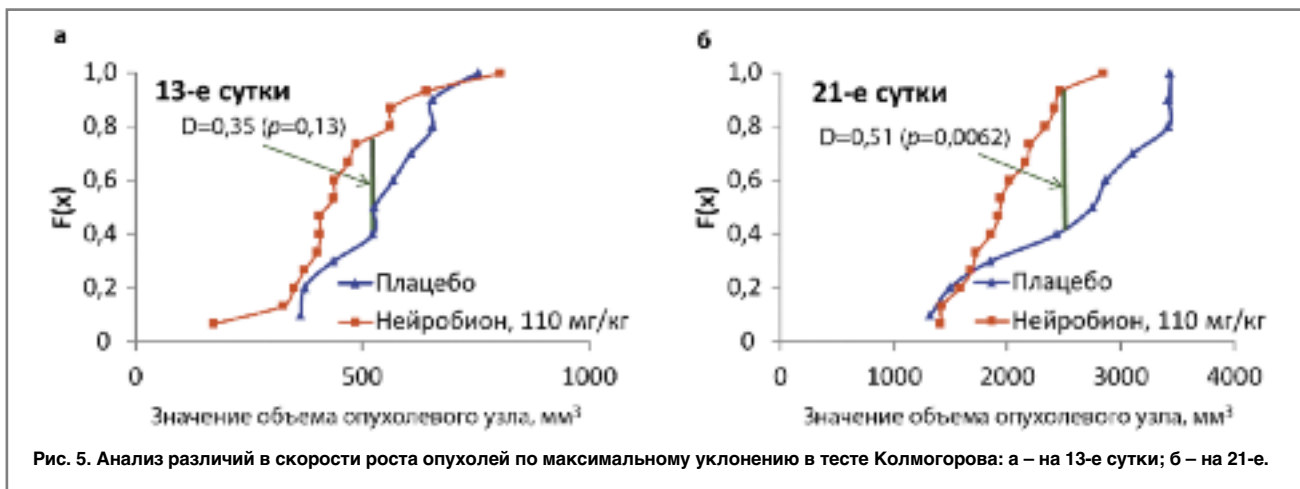


Рис. 5. Анализ различий в скорости роста опухолей по максимальному уклону в тесте Колмогорова: а – на 13-е сутки; б – на 21-е.

Результаты

Субхроническое внутрижелудочное введение препарата Нейробион в дозе 110 мг/кг переносилось подопытными животными легко и не вызывало у них каких-либо изменений в неврологическом статусе, двигательной и пищевой активности. Не наблюдалось также и статистически значимых различий в динамике прироста массы тела животных в различных экспериментальных группах (табл. 1, рис. 1).

Интересно отметить, что, несмотря на отсутствие различий в динамике роста массы тела (см. рис. 1), были установлены достоверные отличия в динамике стандартного отклонения массы тела (рис. 2). В то время как в группе плацебо стандартное отклонение массы тела сохранялось в диапазоне 1,2–1,5 г, в группе животных, получавших Нейробион, отмечалось достоверное возрастание стандартного отклонения, т.е. разброса значений массы тела. Это указывает на возникающее в ходе применения препарата Нейробион «расслоение» опытной груп-

Таблица 3. Число легочных метастазов в экспериментальных группах на 21-е сутки роста КЛЛ

Группа	Среднее число легочных метастазов (M±SD)		
	крупные	малые	общее
Плацебо (n=10)	10,9±6,9	53,9±35,6	64,5±39,6
Нейробион (n=15)	12,2±11,0	45,6±21,7	58,4±24,2

пы животных на животных с более интенсивным и с менее интенсивным нарастанием массы тела. Существование такого расслоения является косвенным признаком того, что действие препарата Нейробион отличается от действия плацебо.

Анализ динамики роста КЛЛ в разных группах показал, что уже через 3 дня от начала эксперимента препарат Нейробион вызывал у животных-опухоленосителей умеренное торможение роста КЛЛ – на 10–20% (табл. 2, рис. 3). Причем этот эффект был не только стабильным, но и усиливался на поздних сроках эксперимента – на 21-е сутки различие объемов опухолей в группах становилось достоверным ($p=0,059$ по тесту Данна).

Анализ пучков индивидуальных кривых скорости роста опухолей подтвердил достоверные различия между опытной и контрольной группами до 13 сут (рис. 4). К 13-м суткам эксперимента отмечался тренд в снижении скорости роста опухоли ($p=0,07$ по тесту χ^2), а к 13-м – достоверное снижение интенсивности роста опухолей ($p=0,045$).

Достоверность различий была подтверждена и другим статистическим тестом – непараметрическим тестом А.Н.Колмогорова. Значение максимального уклонения (D) между распределениями, построенными для групп Нейро-

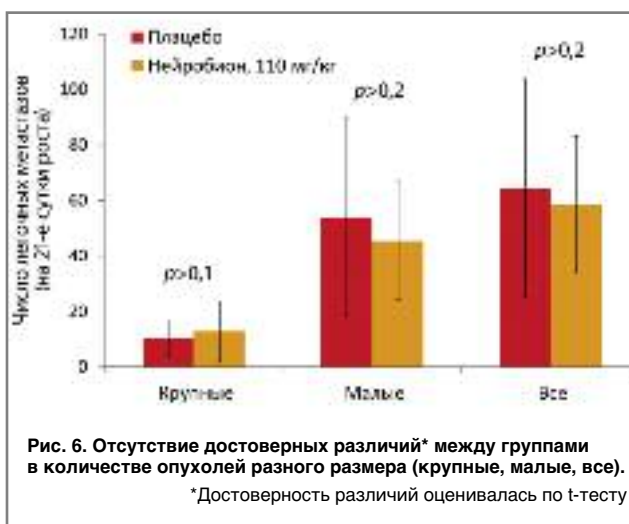


Рис. 6. Отсутствие достоверных различий* между группами в количестве опухолей разного размера (крупные, малые, все).

*Достоверность различий оценивалась по t-тесту

бион и плацебо на 13-е сутки, составило $D=0,35$; $p=0,133$ (рис. 5), а на 21-е – $D=0,51$ (что соответствовало достоверным различиям; $p=0,0062$).

Сколько-нибудь значимого влияния на процессы метастазирования КЛЛ и рост легочных метастазов препарат Нейробион не оказывал (табл. 3, рис. 6).

Выводы

При достаточно длительном субхроническом внутривенном введении животным-опухоленосителям тиамин-дисульфида, пиридоксина гидрохлорида и цианкобаламина (препарат Нейробион 110 мг/кг в сутки) наблюдается устойчивая тенденция к торможению роста КЛЛ (в среднем на 10–20%). Препарат Нейробион не влиял на метастазирование опухолей. Результаты исследования указывают на то, что препарат Нейробион не стимулирует развитие карциномы, а, напротив, проявляет слабовыраженный, но достоверный противоопухолевый эффект ($p=0,0062$ по тесту Колмогорова–Смирнова).

Литература/References

1. Geissler C, Powers H. Human Nutrition. Edinburgh, 2006.
2. Chang SC, Lin PC, Lin JK et al. Role of MTHFR polymorphisms and folate levels in different phenotypes of sporadic colorectal cancers. *Int J Colorectal Dis* 2006.
3. Bosetti C, Scotti L, Maso LD et al. Micronutrients and the risk of renal cell cancer: A case-control study from Italy. *Int J Cancer* 2007; 120 (4): 892–6.
4. Stadler R, Kremer A. Therapeutic advances in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL): from retinoids to retinoids. *Semin Oncol* 2006; 33 (1 Suppl. 3): 7–10.
5. Preston-Martin S, Pogoda JM, Mueller BA et al. Prenatal vitamin supplementation and risk of childhood brain tumors. *Int J Cancer (Suppl.)* 1998; 11: 17–22.
6. Swami S, Krishnan AV, Moreno J et al. Calcitriol and genistein actions to inhibit the prostaglandin pathway: potential combination therapy to treat prostate cancer. *J Nutr* 2007; 137 (1): 205S–210S.
7. Perumal SS, Shanthi P, Sachdanandam P. Energy-modulating vitamins – a new combinatorial therapy prevents cancer cachexia in rat mammary carcinoma. *Br J Nutr* 2005; 93 (6): 901–9.
8. Araki A. Homocysteine and diabetic microangiopathy. *Nippon Rinsho* 2006; 64 (11): 2153–8.
9. Bley J, Miller ER, Pastor-Barriuso R et al. Vitamin-mineral supplementation and the progression of atherosclerosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2006; 84 (4): 680–1.
10. Lapointe A, Couillard C, Lemieux S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. *J Nutr Biochem* 2006; 17 (10): 645–58.
11. Volkov I. The master key effect of vitamin B₁₂ in treatment of malignancy – a potential therapy? *Med Hypotheses* 2008; 70 (2): 324–8.
12. Приказ Минздрава России от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики». / Prikaz Minzdravsocrazvitiya Rossii ot 23.08.2010 № 708n «Ob utverzhdenii pravil laboratornoj praktiki». [in Russian]
13. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.
14. Kawano K, Hattori Y, Iwakura H et al. Adrenal tumor volume in genetically engineered mouse model of neuroblastoma determined by magnetic resonance imaging. *Exp Ther Med* 2012; 4 (1): 61–4.
15. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общ. ред. Р.У.Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. / Habriev R.U. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyh farmakologicheskikh veshchestv. Pod obshch. red. R.U.Habrieva. 2-izd., pererab. i dop. M.: Medicina, 2005. [in Russian]
16. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. / Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ch. 1. M.: Grif i K, 2012. [in Russian]
17. Гуськова Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований. *Токсикологич. вестн.* 2010; 5: 2–5. / Gus'kova T.A. Doklinicheskoe toksikologicheskoe izuchenie lekarstvennykh sredstv kak garantiya bezopasnosti provedeniya ih klinicheskikh issledovaniy. *Toksikologich. vestn.* 2010; 5: 2–5. [in Russian]

Сведения об авторах

Громова Ольга Алексеевна – д-р мед. наук, проф. каф. фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА, вед. науч. сотр., науч. рук. Института фармакоинформатики при ФИЦ ИУ РАН. E-mail: unesco.gromova@gmail.com, сайт: pharmacoinformatics.ru

Торшин Иван Юрьевич – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. Института фармакоинформатики при ФИЦ ИУ РАН. E-mail: pharmacoinformatics.ru

Фролова Дарья Евгеньевна – ассистент каф. онкологии ФГБОУ ВО ИвГМА

Филимонова Марина Владимировна – д-р мед. наук, д-р биол. наук, проф. ФГБУ «НМИЦ радиологии»