

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ БИВ-30 НА МОДЕЛИ ЦИКЛОФОСФАНОВОЙ МИЕЛОСУПРЕССИИ

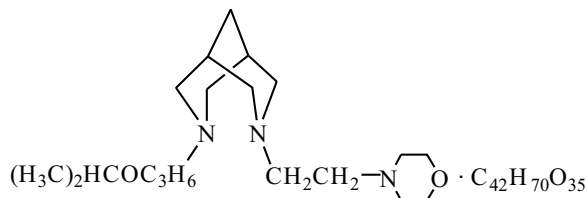
Л. К. Бактыбаева¹

Изучено действие соединения БИВ-30 на костно-мозговое кроветворение у лабораторных мышей на фоне миелосупрессии, вызванной внутрибрюшинным однократным введением циклофосфана в дозе 160 мг/кг. БИВ-30 значительно ускорял регенерацию лимфоцитарного, моноцитарного и гранулоцитарного ростков костно-мозгового кроветворения.

Ключевые слова: ядродержащие клетки, миелосупрессия, циклофосфан, БИВ-30, гемостимулирующая активность

ВВЕДЕНИЕ

Ранее проведенные исследования показали иммуностимулирующую активность соединения БИВ-30 на фагоцитарную активность и восстановление субпопуляционного состава Т-клеток [1]. Целью настоящего исследования явилось изучение гемостимулирующей активности соединения БИВ-30 на процессы костно-мозгового кроветворения после введения циклофосфана. Соединение синтезировано в Дочернем государственном предприятии “НИИ химических наук им. А. Б. Бектурова” Республиканского государственного предприятия “Центра науки о земле, металлургии и обогащения” Министерства образования и науки Республики Казахстан. Соединение является комплексом 3-(2-морфолиноэтил)-7-(3-изопропоксипропил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином, обугливающегося при температуре свыше 240 °С. Индивидуальность и строение заявляемого соединения подтверждены данными элементного анализа, тонкослойной хроматографии и спектроскопии ЯМР ¹³С.



МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

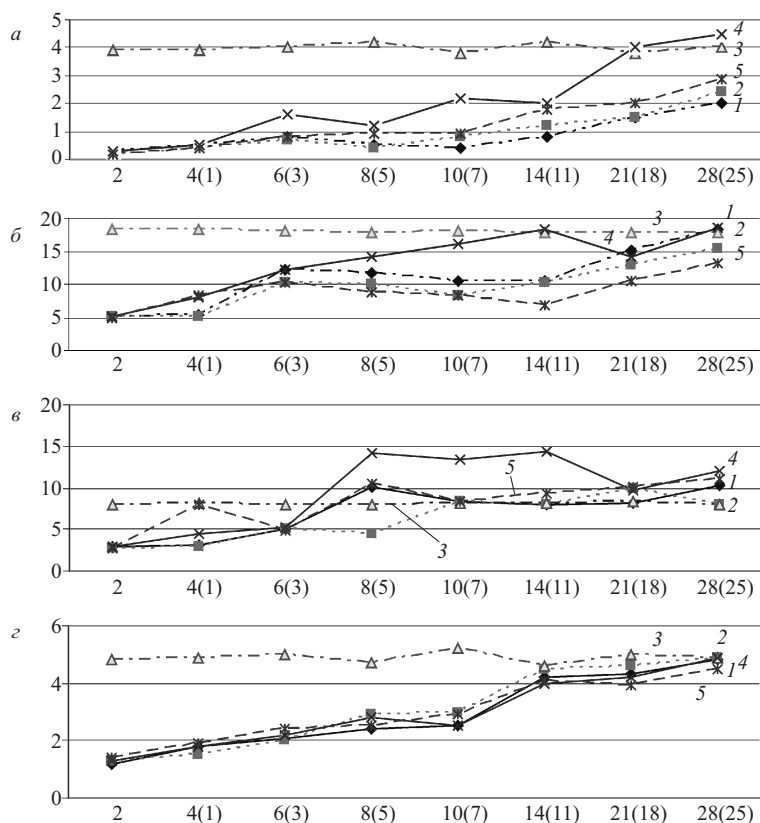
Эксперименты проводились на белых беспородных половозрелых мышах обоего пола массой 20 – 26 г (320 особей). Животных содержали в стандартных ус-

ловиях вивария с одинаковым пищевым рационом. Исследования проводили в соответствии с “Правилами проведения работ с использованием лабораторных животных”. Животных разделили на 5 групп по 64 мыши. Всем группам, исключая интактную, вводили однократно внутрибрюшинно циклофосфан в дозе 160 мг/кг (растворитель физиологический раствор) в объеме 0,5 мл. Далее на 3, 4, 5-е сутки наблюдения один раз в сутки внутримышечно вводили: 1-й группе (контроль) после введения циклофосфана не вводили соединения, 2-й группе вводили плацебо (физиологический раствор) в объеме 0,2 мл; 3-я группа являлась интактной (не вводили циклофосфан и исследуемые соединения), 4-й группе вводили соединение БИВ-30 в дозе 10 мг/кг в объеме 0,2 мл; 5-й группе — левамизол в дозе 0,4 мг/кг в объеме 0,2 мл. Все соединения разводили физиологическим раствором. Забой животных осуществляли путем цервикальной дислокации спинного мозга в шейном отделе на 2, 4, 6, 8, 10, 14, 21, 28-е сутки наблюдения. Костный мозг из бедренных костей использовали для приготовления мазков и определения количества кариоцитов (ядродержащих клеток-ЯСК) на 1 бедренную кость. Мазки костного мозга окрашивали по Романовскому, подсчитывали миелограмму на микроскопе марки SA3300С для проведения микроскопии в проходящем свете (BF) под иммерсией (увеличение 7 × 100) по 500 клеток на каждом мазке, затем относительное количество каждого типа клеток костного мозга пересчитывали в абсолютное на 1 бедренную кость [4]. Статистическую обработку данных проводили с помощью критерия t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Однократное внутрибрюшинное введение циклофосфана в дозе 160 мг/кг привело к развитию супрессии костно-мозгового кроветворения. Отмечалось рез-

¹ Лаборатория экологической физиологии (зав. – проф. С. Т. Тулеуханов) НИИ “Проблем биологии и биотехнологии” при КазНУ имени аль-Фараби МОН РК, Республика Казахстан, Алматы, 050038, пр. аль-Фараби, 71, к. 6.



Миелограмма лимфоцитов (*a*), моноцитов (*б*), нейтрофильных лейкоцитов (*в*) и эритроидных клеток (*г*) в костном мозге мышей после введения циклофосфана (1), плацебо на фоне циклофосфана (2), интактные животные (3), после введения соединения БИВ-30 на фоне циклофосфана (4), после введения левамизола на фоне циклофосфана (5).

По осям абсцисс — время, сут, в скобках — сутки после введения соединений; по осям ординат — число клеток ($\cdot 10^6$) на 1 бедро.

кое снижение эритроцитарного (до 14 суток наблюдения), моноцитарного (до 28 суток наблюдения) и лимфоцитарного пула. Ярко выраженное цитостатическое действие проявил циклофосфан на лимфоцитарные клетки. Показатели контрольной группы не достигли показателя интактных животных до конца проведения эксперимента и на 28-е сутки наблюдения составили $(2,0 \pm 0,002) \cdot 10^6$, что в 2 раза меньше показателя интактных животных. Нестимулированная митотическая активность моноцитарного роста была несколько активнее и на 6-е сутки наблюдения показатель контрольной группы составил $(12,2 \pm 0,02) \cdot 10^6$ против $(5,2 \pm 0,06) \cdot 10^6$ показателя 2-х суток наблюдения. Значительно быстрее восстанавливался нейтрофильный показатель и уже на 4-е сутки наблюдения показатели контрольной группы приблизились к показателю интактных животных. Эритроцитарный пул контрольной группы достиг показателя интактных животных лишь на 28-е сутки наблюдения.

Трехдневное введение соединения БИВ-30 в дозе 10 мг/кг вызвало достоверное увеличение (по сравнению с контрольной группой) количества ЯСК, начиная с 1-го дня введения. Наблюдалось сравнительно длительное восстановление митотического пула лимфоцитарных клеток, которое лишь на 21-е сутки наблю-

дения достигло показателя интактных животных. Лимфоцитарный показатель после введения соединения БИВ-30 на 1 сутки введения составил $(0,5 \pm 0,001) \cdot 10^6$, в 7, 8 раза ниже показателя интактных животных $(3,9 \pm 0,02) \cdot 10^6$ (рисунок, *a*). Но на 21-е сутки наблюдения (18-е сутки после введения соединения) лимфоцитарный показатель составил $(4,0 \pm 0,03) \cdot 10^6$ и приблизился к показателю интактных животных $(3,8 \pm 0,01) \cdot 10^6$, превышая контрольный показатель $(1,5 \pm 0,002) \cdot 10^6$ в 2,67 и левамизол в 1,55 раза. Количество лимфоцитарных клеток на 28-е сутки наблюдения (25-е сутки после введения соединения) составило $(4,47 \pm 0,03) \cdot 10^6$, что превышало показатель интактных животных $(4,0 \pm 0,02) \cdot 10^6$ в 1,12 раза и контрольных животных $(2,0 \pm 0,002) \cdot 10^6$ в 2,24 раза. Стимулированная соединением БИВ-30 митотическая активность лимфоцитарного роста на фоне циклофосфановой миелосупрессии достоверно превышала митотическую активность лимфоцитарного роста контрольных животных.

Процесс восстановления моноцитарных клеток проходил последовательно и несколько интенсивнее. Стимулированный соединением БИВ-30 монопоэз уже на 14-е сутки наблюдения (11 сутки после введения

соединения) стал сопоставим с показателем интактных животных и составил $(18,4 \pm 0,06) \cdot 10^6$ против $(10,5 \pm 0,04) \cdot 10^6$ в контроле ($p < 0,05$) и $(6,8 \pm 0,02) \cdot 10^6$ в группе введения левамизола (рисунок, б).

Наиболее чувствительными к действию соединения БИВ-30 были нейтрофильные клетки. На 5-е сутки после введения БИВ-30 митотический пул нейтрофилов составил $(14,2 \pm 0,01) \cdot 10^6$ и превышал не только контроль $(10,1 \pm 0,05) \cdot 10^6$ ($p < 0,05$), но и показатель интактных животных $(8,01 \pm 0,01) \cdot 10^6$ ($p < 0,05$). Стимулированная митотическая активность гранулоцитов отличалась устойчивостью и на 14-е сутки наблюдения в группе введения БИВ-30 составила $(14,4 \pm 0,04) \cdot 10^6$, превышая контроль $(7,9 \pm 0,01) \cdot 10^6$ в 1,82 раза и показатель интактных животных $(8,2 \pm 0,02) \cdot 10^6$ в 1,76 раза (рисунок, в).

На пролиферацию эритроцитарных клеток циклофосфан оказал выраженное цитосупрессорное действие. Во всех группах наблюдения шло медленное восстановление эритропоэза и до 10-го дня наблюдения разница в показателях с 2-дневным интервалом составляла $(0,3 - 0,5) \cdot 10^6$. Лишь на 16-е сутки наблюдения разница в показателях составила $(1,5 - 1,7) \cdot 10^6$. В группе введения соединения БИВ-30 в течение всего периода наблюдения значений, отличимых от контроля, плацебо, левамизола не наблюдалось. Аналогично с показателями других экспериментальных групп митотический пул эритроцитарного ростка приблизился к показателю интактных животных лишь на 28-е сутки наблюдения. По-видимому, соединение БИВ-30 не стимулировало эритропоэз и не отменяло супрессорного действия циклофосфана (рисунок, г).

Таким образом, посредством циклофосфанового угнетения митотической активности клеток-предшест-

венников мы получили миелосупрессорный эффект [4]. В процессе не стимулированного восстановления костно-мозгового кроветворения происходило самопроизвольное ускорение созревания гемопоэтических предшественников нейтрофильного пула, что согласно литературным данным, происходит из-за быстрого восстановления способности стромальных клеток к взаимодействию с КОЕ-ГМ [3, 4]. Благодаря этому не стимулированный гранулоцитопоз регенерирует интенсивнее, чем агранулоцитопоз. Наиболее медленно восстанавливается эритропоэз.

Стимуляция соединением БИВ-30 пролиферативной активности костно-мозгового кроветворения значительно ускоряла регенерацию лимфоцитарного, моноцитарного и гранулоцитарного ростков костно-мозгового пула.

ВЫВОД

Соединение БИВ-30 проявляет выраженную гемостимулирующую активность на модели циклофосфановой миелосупрессии костно-мозгового кроветворения: происходит быстрое восстановление митотической активности пула лимфоцитов, моноцитов и нейтрофилов. На эритропоэз соединение практически не влияет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. К. Бактыбаева, К. Д. Пралиев, В. К. Ю и др., *Хим. журн. Казахстана*, № 2, 180 – 187 (2007).
2. А. М. Дыгай, В. В. Жданов, И. А. Хлусов и др., *Гематол. и трансфузиол.*, **40**(5), 11 – 15 (1995).
3. А. М. Дыгай, В. В. Жданов, М. Ю. Минакова и др., *Бюл. экпер. биол.*, **124**(8), 161 – 165 (1997).
4. О. Н. Стеценко, Н. В. Борзова, Д. П. Линднер и др., *Иммунол.*, **26**(6), 365 – 367 (2005).

Поступила 15.02.10

STUDYING HEMOSTIMULATING ACTIVITY OF NEW COMPOUND BIV-30 UNDER CONDITIONS OF CYCLOPHOSPHAN-INDUCED MYELOSUPPRESSION

L. K. Baktybaeva

Institute for Biology and Biotechnology Problems. Al-Farabi Kazakh National University, Ministry of Education and Science of Kazakhstan Republic, Almaty, 050038, Kazakhstan

The effects of the new chemical substance BIV-30 on bone marrow hemopoiesis has been studied in laboratory mice on the background of myelosuppression induced by a single intraperitoneal injection of cyclophosphan in a dose 160 mg/kg. The injection of BIV-30 significantly accelerated lymphocyte, monocyte, granulocyte regeneration branches of bone-marrow hemopoiesis. These results showed evidence of the hemostimulating activity of BIV-30 on the model of bone-marrow hemopoiesis deficiency.

Key words: Nucleated cells, myelosuppression, cyclophosphan, BIV-30, hemostimulating activity