

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

ЭРИТРОПОЭЗСТИМУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА АНТИСЕРОТОНИНОВОГО ПРЕПАРАТА ПРИ ЦИТОСТАТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Е. Г. Скурихин, О. В. Першина, Н. Н. Ермакова, Т. В. Андреева,
Е. С. Хмелевская, О. С. Борсук, А. М. Дыгай¹

Изучено действие антисеротонинового препарата ципрогептадина на эритропоэз в условиях введения цитостатиков с различным механизмом действия (фторпиримидиновый антиметаболит 5-фторурацил, алкилирующий агент циклофосфан). Установлено, что ципрогептадин существенно ускоряет процессы регенерации эритроидного ростка кроветворения преимущественно при назначении фторпиримидинового антиметаболита. В условиях введения алкилирующего агента депрессия эритроноса сохраняется. В основе эритропоэзстимулирующего действия ципрогептадина лежит восстановление структурно-функциональной организации костного мозга (формирование эритроидных гемопозитических островков).

Ключевые слова: ципрогептадин, эритропоэз, эритроидный гемопозитический островок, цитостатики

ВВЕДЕНИЕ

Известна высокая чувствительность эритроноса к токсическому действию цитостатиков [9]. Формирование анемического синдрома при действии на организм различных цитостатических препаратов обусловлено их токсическим влиянием на эритроидные клетки-предшественники и нарушением функций системы локальной регуляции кроветворения [1, 11]. Коррекцию анемического синдрома проводят за счет трансфузии донорской эритроцитарной массы или введения лекарственных средств, стимулирующих деление и созревание прекурсоров эритропоэза (рекомбинантный эритропоэтин, полипептиды и т.д.) [8, 11]. При этом остается не изученной роль клеточных элементов гемопозиндуцирующего микроокружения (ГИМ) в реализации активирующего влияния указанных препаратов на эритропоэз.

Ряд нейротропных средств (симпатолитик, адреноблокаторы, нейролептик) восстанавливают активность гранулоцитарного ростка кроветворения при цитостатических воздействиях [4 – 6, 10]. Антисеротониновый препарат ципрогептадин избирательно препятствует развитию анемии при экспериментальных невротических воздействиях [2]. Причем, в основе эритропоэзстимулирующего действия ципрогептадина лежит способность увеличивать число и функциональную активность клеточных элементов ГИМ.

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явилось изучение влияния ципрогептадина

на эритроидный росток кроветворения при цитостатических воздействиях.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 550 2 – 2,5-месячных мышцах-самцах линии СВА/СаЛас. Животные 1-й категории, конвенциональные линейные мыши, получены из питомника НИИ фармакологии СО РАМН (сертификат имеется).

Цитостатическую миелосупрессию моделировали однократным внутрибрюшинным введением в 1/3 МПД алкилирующего агента циклофосфана (ЦФ) (83 мг/кг) и фторпиримидинового антиметаболита 5-фторурацила (ФУ) (76 мг/кг). За 30 мин до цитостатического воздействия животным опытных групп однократно внутрибрюшинно вводили ципрогептадин (“Serwa”) в дозе 30 мг/кг. Контрольным животным в аналогичных условиях вводили эквивалентный объем (0,2 мл) физиологического раствора. На 2 – 7-е и 12-е сутки после введения цитостатиков у мышей подсчитывали число ретикулоцитов в периферической крови, после умерщвления методом кранио-цервикальной дислокации под эфирным наркозом определяли количество эритрокариоцитов в костном мозге. Содержание эритроидных колоние- и кластерообразующих единиц (КОЕ-Э и КлОЕ-Э) в кроветворной ткани изучали *in vitro* методом клонирования неприлипающих миелокариоцитов в метилцеллюлозной культуральной среде [3]. При этом конечная концентрация эритропоэтина в тест-системе составляла 0,5 Ед/мл, серотонина — 10^{-8} М. Пролиферативную активность прекурсоров гемопоза оценивали методом “клеточного самоубийства” с использованием оксимочевина [3]. Струк-

¹ Лаборатория патологической физиологии и экспериментальной терапии (руководитель — акад. РАМН А. М. Дыгай) НИИ фармакологии СО РАМН, Томск, 634028, пр. Ленина, 3.

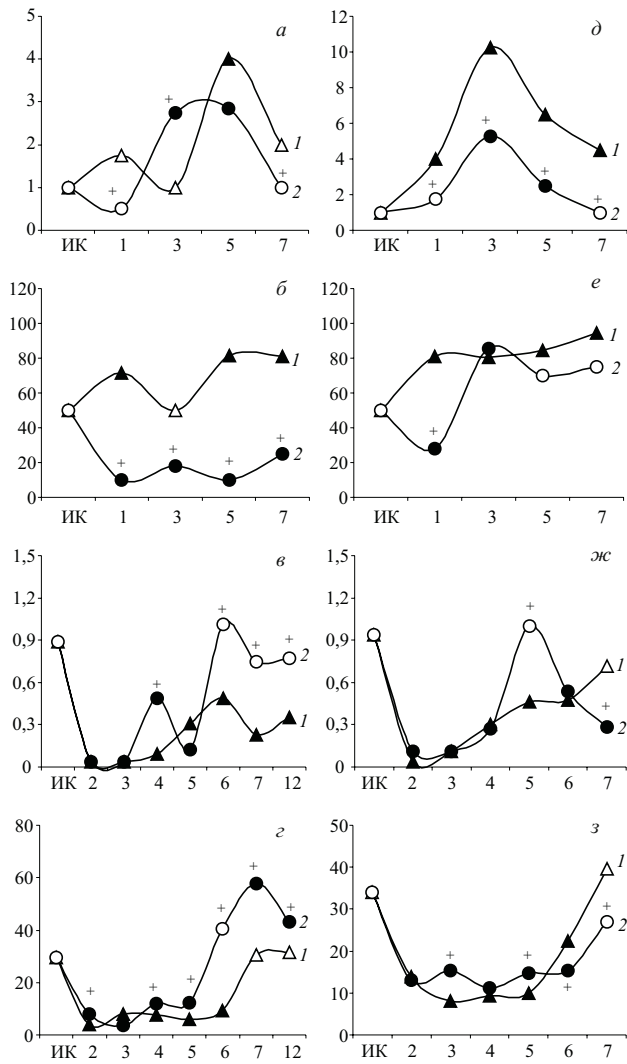


Рис. 1. Динамика содержания эритроидных прекурсоров (а, д) и эритрокариоцитов (в, ж) в костном мозге, ретикулоцитов в периферической крови (з, з), пролиферативная активность эритроидных прекурсоров (б, е) у мышей линии СВА/СаLас, перенесших введение 5-фторурацила (а–з) или циклофосфана (д–з).

По оси абсцисс — сроки исследования, сут, по оси ординат — содержание эритроидных прекурсоров ($\cdot 10^5$ клеток) и эритрокариоцитов ($\cdot 10^6$ клеток) в костном мозге, ретикулоцитов в периферической крови (%), пролиферативная активность эритроидных прекурсоров в % от интактного контроля (ИК). Здесь и на рис. 2: окрашенный символ — достоверность различия показателя от его значений в интактном контроле при $p < 0,05$; "+" — достоверность различия показателя после цитостатического воздействия на фоне введения ципрогептадина (2) с таковым в той же модели с физиологическим раствором (1) при $p < 0,05$.

турно-функциональную организацию костного мозга изучали путем ферментативного выделения гемопоэтических островков (ГО) и последующей оценки их количественного и качественного состава. Тестирование уровня эритропоэтической активности (ЭПА) в кондиционных средах от прилипающих и неприлипающих элементов ГИМ и в сыворотке крови осуществляли на интактных мышинных миелокариоцитах [3].

Статистическую обработку результатов экспериментов *in vivo* и *in vitro* проводили методом вариаци-

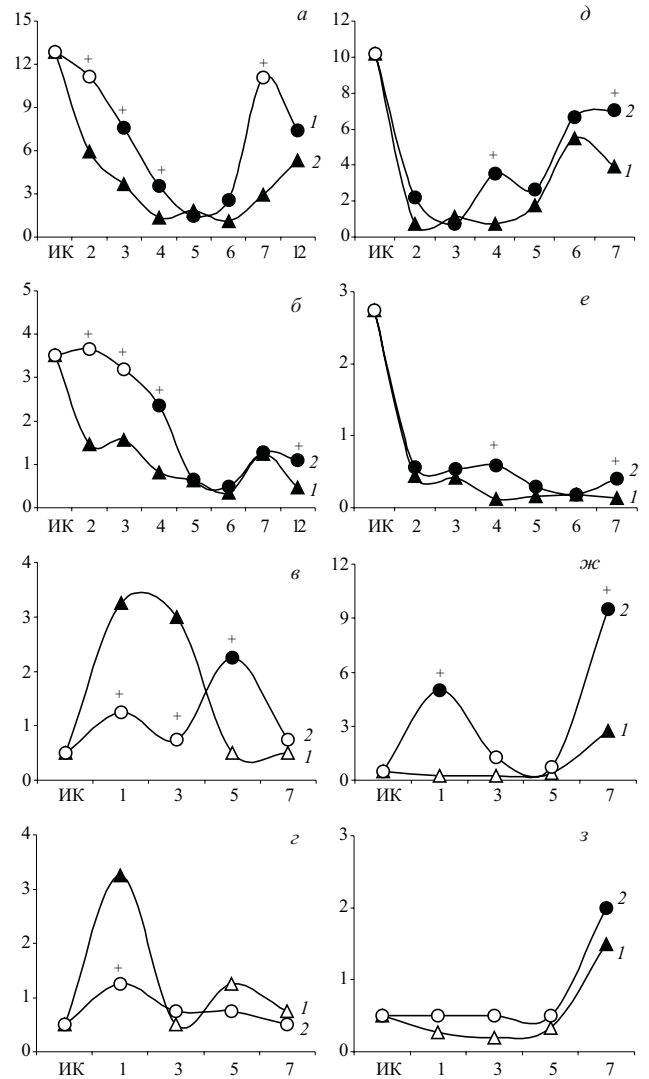


Рис. 2. Динамика содержания макрофагпозитивных (а, д) и эритроидных (б, е) гемопоэтических островков в костном мозге, продукция адгезирующими (в, ж) и неадгезирующими (з, з) миелокариоцитами эритропоэтической активности у мышей линии СВА/СаLас при введении 5-фторурацила (а–з) или циклофосфана (д–з).

По оси абсцисс — сроки исследования, сут, по оси ординат — содержание гемопоэтических островков ($\cdot 10^3$ клеток) в костном мозге (а, б, д, е) и эритропоэтическая активность ($\cdot 10^5$ клеток) миелокариоцитов (в, з, ж, з).

Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

онной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Для сравнения результатов экспериментов, где показатели выражены в долях, использовали точный метод Фишера для сравнения долей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных экспериментов показано, что цитостатики вызывают депрессию костномозгового эритропоэза. Так, 5-фторурацил уменьшал содержание эритрокариоцитов в костном мозге на 1–7-е, 12-е сутки исследования, при этом ретикулоцитопения в периферической крови регистрировалась на 1–6-е сутки

(рис. 1). В условиях назначения циклофосфана снижение клеточности эритроидного ростка кроветворения имело место на 1 – 6-е сутки.

В обеих моделях цитостатического воздействия содержание эритроидных прекурсоров и их пролиферативная активность возрастали: при введении алкилирующего агента на 1, 3, 5, 7-е сутки, антимаболита — на 5, 7-е сутки (рис. 1). Одновременно нарушались формирование клеточных комплексов, содержащих макрофаг, и эритроидных ГО в костномозговой ткани, продукция ЭПА неадгезирующими клеточными элементами ГИМ, снижалась концентрация эритропоэтической активности в сыворотке крови (рис. 2). Примечательно, что под влиянием циклофосфана (1-е, 3-и сутки) и 5-фторурацила (7-е сутки) уровень ЭПА в супернатантах прилипающих миелокариоцитов возрастал.

Как видно из представленных данных, основной причиной угнетения эритроидного роста при назначении цитостатиков в 1/3 МПД явилось повреждение структурно-функциональной организации кроветворной ткани, угнетение секреторной активности неадгезирующих нуклеаров ГИМ и дефицит сывороточных гемопоэтических факторов роста. Более глубокое и продолжительное угнетение эритроидного роста у животных, получавших ФУ, обусловлено значительным токсическим действием цитостатика на клетки кроветворного микроокружения.

Ципрогептадин увеличивал количество эритрокариоцитов в костном мозге (4, 6, 7, 12-е сутки) и ретикулоцитов в периферической крови (2, 4 – 7, 12-е сутки) в условиях введения антимаболита (рис. 1). Это приводило к нормализации клеточности эритроидного ростка кроветворения уже на 6-е сутки (6, 7, 12-е сутки). На 7-е сутки в крови наблюдалось развитие ретикулоцитоза. Вместе с тем активность роста КОЕ-Э падала (1, 5, 7-е сутки), что было связано с уменьшением темпов деления и скорости созревания предшественников эритропоэза (рис. 1). Реакция клеточных элементов ГИМ на снижение активности серотонинергической системы была неоднозначна. С одной стороны, отмечалось возрастание числа макрофагопозитивных (2 – 4, 7, 12-е сутки) и эритроидных (2 – 4, 12-е сутки) ГО в кроветворной ткани, с другой — снижалась продукция ЭПА миелокариocyтами адгезирующей (1, 3-е сутки) и неадгезирующей (1-е сутки) фракций (рис. 2).

При назначении циклофосфана ципрогептадин прерывал развитие депрессии костномозгового эритропоэза на 5-е сутки, но к концу эксперимента (7-е сутки) число эритрокариоцитов вновь снижалось и составило 30,5 % ($p < 0,05$) от интактного контроля (рис. 1). Ретикулоцитопения в периферической крови сохранялась. Препарат статистически достоверно увеличивал содержание ГО на 4, 7-е сутки, однако их содержание, как и в контроле (циклофосфан без препарата), значительно уступало таковому у интактных животных. Уровень ЭПА в кондиционных средах от адгезирую-

щих миелокариоцитов возрастал (1, 7-е сутки). Как и в случае назначения ФУ, ципрогептадин снижал темпы роста КОЕ-Э (1, 3, 5, 7-е сутки) и их пролиферативную активность (1-е сутки) (рис. 1).

Таким образом, ципрогептадин увеличивает темпы регенерации эритроидного ростка при введении 5-фторурацила. Эритропоэзстимулирующее действие антисеротонинового препарата сопряжено с восстановлением структурно-функциональной организации костного мозга. В условиях введения циклофосфана кратковременная стимуляция ципрогептадином процессов регенерации эритроидного ростка сменялась на их ингибирование, что было связано с соответствующими изменениями в активности процессов формирования ГО и сокращением пула прекурсоров эритропоэза и темпов их деления.

Исходя из полученных результатов и механизма действия ципрогептадина (блокада постсинаптических серотониновых С₂ рецепторов в ЦНС [7]) можно заключить, что при цитостатических воздействиях (преимущественно в условиях введения 5-фторурацила) центральные серотонинергические структуры оказывают “деструктивное” действие на ГИМ. По нашим данным, серотонин *in vitro* (10^{-8} М) способен сокращать пул митотически активных эритроидных предшественников на 3-и, 5, 7-е сутки после назначения ФУ. В этих условиях содержание КОЕ-Э, находящихся в S-фазе митотического цикла, составила 13 – 44 % ($p < 0,05$) от интактного контроля. Вероятно, существует “серотониновый” механизм развития анемии при назначении цитостатиков из группы антимаболитов, реализация которого осуществляется на уровне коммитированных кроветворных предшественников и системы локальной регуляции (формирование ГО, уровень ЭПА в сыворотке крови и супернатантах миелокариоцитов). В этой связи представляется целесообразным использование в терапии цитостатических анемий препаратов, снижающих активность серотонинергической системы. Однако механизмы регуляторного влияния центральных серотонинергических структур на прекурсоры эритропоэза более сложные. Тот факт, что при цитостатических воздействиях ципрогептадин снижает активность выхода КОЕ-Э в тест-системе с эритропоэтином, указывает на возможность стимулирующего действия серотонина ЦНС на систему эритропоэтина (рис. 1).

ВЫВОДЫ

1. Ципрогептадин ускоряет темпы регенерации эритроидного ростка кроветворения при назначении 5-фторурацила, но не циклофосфана.

2. В основе эритропоэзстимулирующего действия антисеротонинового препарата в условиях введения антимаболита лежит его способность восстанавливать структурно-функциональную организацию костномозговой ткани (формирование эритроидных гемопоэтических островков).

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. В. Жданов, *Роль гемоэ-
зиндуцирующего микроокружения в регуляции крове-
творения при цитостатических миелосупрессиях*, STT, Томск
(1999).
2. Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. В. Жданов и др., *Фармако-
логическая регуляция системы крови при эксперименталь-
ных невротических воздействиях*, Изд-во ТГУ, Томск
(2007).
3. Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. П. Шахов, *Методы куль-
туры ткани в гематологии*, Изд-во ТГУ, Томск (1992).
4. Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, И. А. Хлусов, *Роль вегета-
тивной нервной системы в регуляции гемопоэза*, Изд-во
ТГУ, Томск (1997).
5. Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. В. Жданов и др., *Фармако-
логическая регуляция кроветворения при эксперименталь-
ных невротических воздействиях*, Изд-во Том. ун-та, Томск
(2007).
6. А. М. Дыгай, Е. Г. Скурихин, О. В. Першина и др., *Бюл. экс-
пер. биол.*, **145**(4), 383 – 388 (2008).
7. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, 15-е изд.,
испр. и доп., “Новая волна”, Москва (2006), с. 293.
8. С. В. Миненко, В. В. Птушкин, *Вместе против рака. Новое
в химиотерапии злокачественных новообразований*, Спец.
выпуск № 2 (2005).
9. В. В. Новицкий, Е. А. Степовая, В. Е. Гольдберг и др.,
Эритроциты и злокачественные новообразования, STT,
Томск (2000).
10. Е. Г. Скурихин, М. Ю. Минакова, О. В. Першина и др., *Бюл.
экспер. биол.*, **144**(9), 253 – 259 (2007).
11. Е. В. Удут, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Томск (2008).

Поступила 12.05.09

ERYTHROPOIESIS-STIMULATING PROPERTIES OF ANTISEROTONIN-BASED DRUG UNDER CYTOSTATIC TREATMENT CONDITIONS

E. G. Skurikhin, O. V. Pershina, N. N. Ermakova, T. V. Andreeva, E. S. Khmelevskaya,
O. S. Borsuk, and A. M. Dygai

State Research Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Center, Siberian Branch of the, Russian Academy of Medi-
cal Sciences, ul. Lenina 3, Tomsk, 634028, Russia

Effect of the antiserotonin drug cyproheptadine on the erythropoiesis has been studied under conditions of the administration of cytostatics (fluoropyrimidine antimetabolite 5-fluorouracil (5-FU), alkylating agent cyclophosphane) with different mechanisms of action. It is established that the antiserotonin drug significantly accelerates regeneration of the erythroid hemopoietic branch, especially in the case of 5-FU. The depression of erythron under the conditions of cyclophosphane injections was retained. The erythropoiesis-stimulating effect of cyproheptadine is based on the restoration of the structural and functional organization of the bone marrow (formation of erythroid hemopoietic islets).

Key words: Cyproheptadine, erythropoiesis, erythroid hemopoietic branch, cytostatics