

*И. Я. Моисеева, Л. В. Ионичева,
С. А. Никишин, А. И. Зиновьев, В. Е. Небольсин*

ГЕМАТОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ДИКАРБАМИНА ПРИ КУРСОВОМ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РАДИОГЕННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

Аннотация. Изучено влияние дикарбамина в дозе 4 мг/кг при лечебно-профилактическом пероральном введении в течение 15 суток на лейкоцитарный состав периферической крови кроликов в условиях экспериментального костно-мозгового синдрома. Исследуемый препарат статистически значительно уменьшал выраженность послелучевой тромбоцитопении, глубину и продолжительность лейкоцитопении за счет сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов.

Ключевые слова: дикарбамин, облучение, лейкоцитарный состав периферической крови.

Abstract. The authors have studied the influence of dicarbamin in dose 4 mg/kg by medical-prophylactic oral injection during 15 days on a leukocytic formula of peripheral rabbit blood in conditions of the experimental bone-marrow syndrome. The observable drug statistically significantly decreases intensity of postirradiation thrombocytopenia, depth and duration of leukocytopenia at the expense of segmented neutrophils and lymphocytes.

Key words: dicarbamin, irradiation, leukocytic formula of peripheral blood.

Применение интенсивных программ высокодозной химио- и радиотерапии ограничивается серьезными побочными эффектами, среди которых важное значение имеет поражение кроветворной системы, что может оказаться критическим в плане невозможности продолжения лечения [1–3]. Весьма перспективными для клинической медицины можно считать гемато- и миелопротекторы, созданные на основе эндогенных регуляторов гемопоэза (колониестимулирующие факторы, интерлейкины, эритропоэтин), однако их широкое терапевтическое применение ограничено высокой частотой развития побочных эффектов и невозможностью профилактического назначения [4–7].

Реальным кандидатом на роль гематомиелопротектора в условиях лучевой супрессии гемопоэза является новый отечественный препарат дикарбамин (ОАО «ВалентаФарм, Россия, МНН – имидазоллэтанамид пентандиовой кислоты из ряда аминокислотных производных биогенных аминов). Дикарбамин малотоксичен и не проявляет каких-либо побочных эффектов, что является несомненным преимуществом при выборе препарата сопровождения химио- и радиотерапии [8]. Ранее было показано, что препарат оказывает защитное влияние на ряд показателей системы крови при действии миелоингибирующих факторов в эксперименте и в клинике [8–14].

Цель работы – изучение гематопротекторных свойств дикарбамина при курсовом лечебно-профилактическом введении путем исследования пострadiационной динамики клеточного состава крови кроликов.

1. Методика исследования

Исследование проведено в лаборатории кафедры общей и клинической фармакологии Медицинского института Пензенского государственного университета. Эксперименты были выполнены на 30 половозрелых кроликах-самцах породы «шиншилла» массой 2,5–3,0 кг. Животных содержали на стандартном пищевом рационе вивария со свободным доступом к воде. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.) и были одобрены локальным этическим комитетом.

С учетом цели исследования были сформированы три группы животных. Группа 1 ($n = 10$) являлась интактной. Животные групп 2 ($n = 10$) и 3 ($n = 10$) подвергались однократному воздействию ионизирующей радиации. Для моделирования лучевого повреждения проводилось облучение с помощью аппарата АГАТ-«С» разовой очаговой дозой 5 Гр, расстояние от источника ионизации до ионизируемой поверхности – 90 см, процентная доза – 94 %, а максимальная доза облучения составила 5,31 Гр.

Животным группы 3 вводили препарат дикарбамин производства ОАО «ВалентаФарм» внутрь в дозе 4 мг/кг ежедневно 5 дней до облучения и 10 дней после облучения.

Периферическую кровь забирали из краевой вены уха животных до начала эксперимента на 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28-е сутки. Определяли: клеточный состав (абсолютное число лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов в 1 л крови), лейкоцитарную формулу венозной крови.

Статистическую обработку результатов экспериментального исследования проводили с помощью пакета статистических программ: русифицированная версия программы STATISTICA 6.0 (StatSoft – Russia, 1999), BIOSTAT (S. A. Glantz, McGrawHill, перевод на русский язык – М. : Практика, 1998). Проверка нормальности распределения проводилась по критерию Шапиро–Уилка. Оценка равенства дисперсий производилась с помощью критерия Левена. Определялись основные статистические характеристики: среднее, стандартное квадратическое отклонение. Достоверность различий рассчитана с помощью t -критерия Стьюдента в случае равенства дисперсий, его модификации (t -критерий с отдельными оценками дисперсий) в случае неравенства дисперсий и с поправкой Бонферрони для множественных сравнений.

2. Результаты исследования

Содержание эритроцитов в периферической крови животных опытной группы на фоне облучения и введения дикарбамина к концу периода наблюдения снизилось от $5,35 \pm 0,20 \cdot 10^{12}/л$ до $4,23 \pm 0,35 \cdot 10^{12}/л$, однако статистически значимые различия со значением показателя в группе интактных животных отмечались лишь на 21-е и 28-е сутки ($p_1 < 0,05$). У контрольных животных относительно опытной группы регистрировались статистически значимо большие потери эритроцитов на всех этапах наблюдения ($p_2 < 0,05$) за исключением 21-х суток.

Концентрация гемоглобина у животных на фоне облучения и курсового применения дикарбамина умеренно уменьшалась на каждом этапе экспери-

мента и на 21-е сутки достигла наименьшего значения – $75,60 \pm 12,75$ г/л ($p_1 < 0,01$, $p_2 = 0,104$). В контрольной группе животных показатель был статистически меньше такового в опытной группе ($p_2 < 0,05$) на протяжении всего опыта, за исключением 21-х суток, достиг минимального значения на 28-е сутки, составив $72,00 \pm 12,30$ г/л ($p_{1,2} < 0,01$).

Содержание тромбоцитов в периферической крови животных на фоне облучения и применения дикарбамина оставалось на достаточно высоком уровне, статистически значимое снижение показателя до $255,57 \pm 39,14 \cdot 10^9$ /л ($p_1 = 0,003$, $p_2 = 0,983$) было зафиксировано лишь на 5-е сутки (рис. 1). В контрольной группе радиоактивное воздействие статистически значимо снижало количество тромбоцитов во всех контрольных точках ($p_{1,2} < 0,05$), тяжелая тромбоцитопения наблюдалась до окончания опыта.

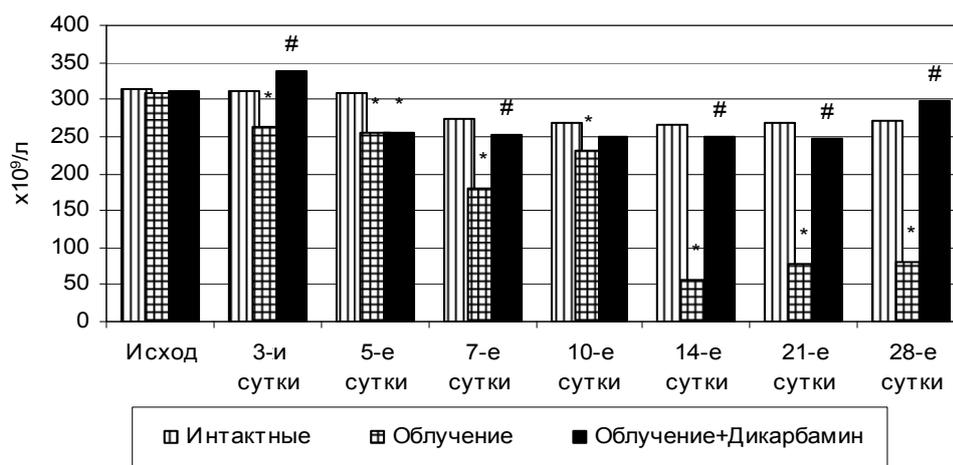


Рис. 1. Содержание тромбоцитов в периферической крови кроликов при радиационном воздействии

Примечание. Различия статистически значимы относительно: * – $p < 0,05$ интактной группы; # – $p < 0,05$ контрольной группы.

Дикарбамин проявил гематопротекторные свойства, выразившиеся в значительном уменьшении глубины и продолжительности послелучевой лейкоцитопении. Общее количество лейкоцитов у облученных кроликов, получавших дикарбамин, на третий день опыта сократилось с $5,73 \pm 0,83 \cdot 10^9$ /л до $2,23 \pm 0,85 \cdot 10^9$ /л (рис. 2).

В дальнейшем наблюдалось интенсивное увеличение содержания лейкоцитов, значение показателя во всех контрольных точках (за исключением последней) статистически значимо превышало таковое в контрольной группе, где развивалась глубокая алейкия (менее $1,00 \cdot 10^9$ /л), и только к концу наблюдения количество лейкоцитов в контрольной группе увеличилось до $3,98 \pm 0,68 \cdot 10^9$ /л ($p_1 = 0,018$, $p_2 = 0,516$) (см. рис. 2).

Абсолютное количество сегментоядерных нейтрофилов у животных опытной группы на третий день наблюдения статистически значимо сократилось: от $1,99 \pm 0,03 \cdot 10^9$ /л до $0,88 \pm 0,030 \cdot 10^9$ /л, однако было выше показателя в контрольной группе ($p_{1,2} < 0,01$) (рис. 2). Исследуемый показатель уже на 5-е сутки не отличался от такового в группе интактных животных, в дальнейшем до конца наблюдения был статистически значимо выше значений в

контрольной группе ($p_2 < 0,01$), удерживаясь в пределах $1,65 \pm 0,29 \cdot 10^9/\text{л}$ – $3,15 \pm 0,71 \cdot 10^9/\text{л}$.

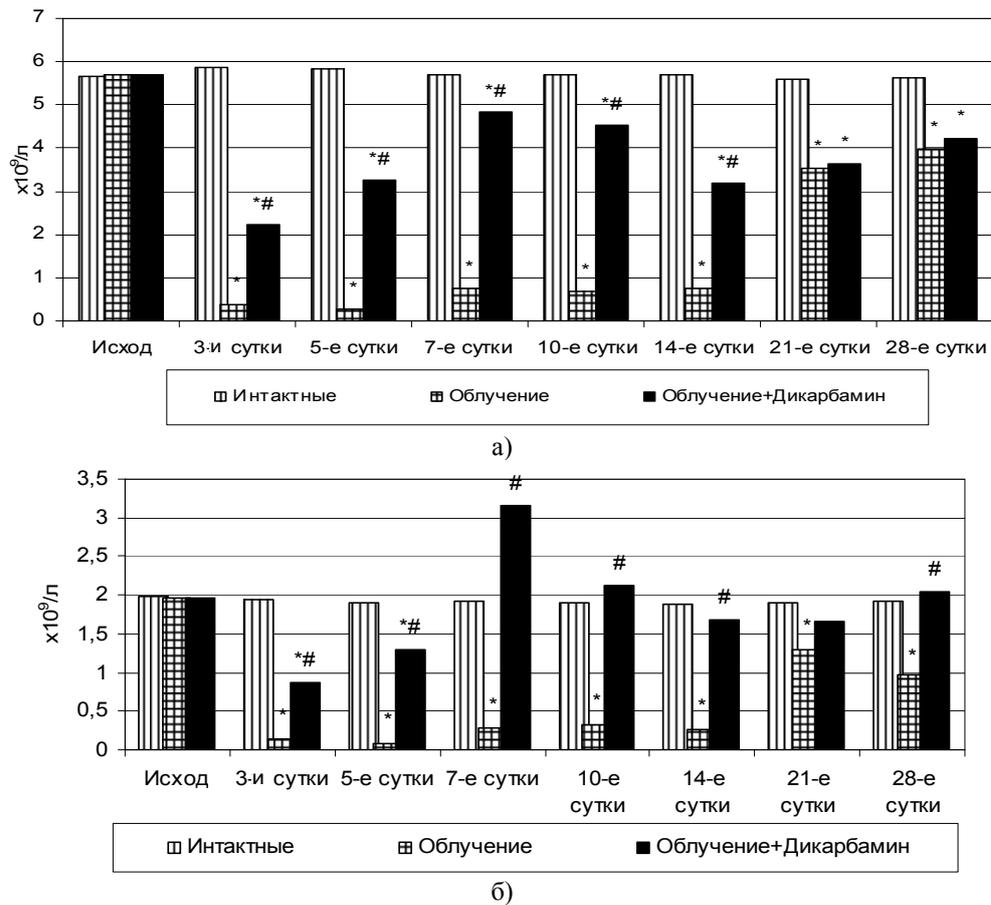


Рис. 2. Содержание лейкоцитов (а) и сегментоядерных нейтрофилов (б) в периферической крови кроликов при радиационном воздействии

Примечание. Различия статистически значимы относительно: * – $p < 0,05$ интактной группы; # – $p < 0,05$ контрольной группы.

Палочкоядерные нейтрофилы после воздействия ионизирующего излучения и применения дикарбамина не были обнаружены в течение эксперимента (за исключением 7-х суток), что подтверждает дифференцировочный эффект дикарбамина, обнаруженный ранее [15], а в контрольной группе животных определялись в большинстве контрольных точек.

Абсолютное содержание моноцитов в периферической крови кроликов опытной и контрольной групп на 3-и сутки после лучевого поражения сократилось в 6–7 раз ($p_1 < 0,01$), в дальнейшем наблюдалась волнообразная динамика показателя с нормализацией в опытной группе в конце периода наблюдения ($p_1 = 0,103$).

На 3-и сутки после лучевого поражения на фоне дикарбамина было отмечено уменьшение содержания лимфоцитов в периферической крови животных: от $2,85 \pm 0,41 \cdot 10^9/\text{л}$ до $1,21 \pm 0,05 \cdot 10^9/\text{л}$; в дальнейшем регистриро-

валось их интенсивное накопление (рис. 3). Содержание лимфоцитов во всех контрольных точках животных опытной группы было статистически значимо выше, чем в контрольной группе. В контрольной группе дефицит лимфоцитов был глубоким на протяжении всего эксперимента, значение показателя не достигло уровня интактных животных даже в конце опыта (рис. 3).

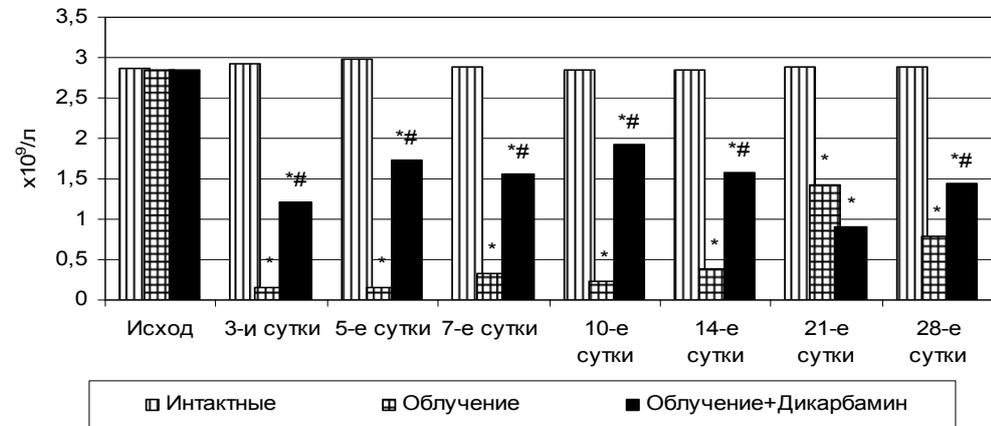


Рис. 3. Содержание лимфоцитов в периферической крови кроликов при радиационном воздействии

Примечание. Различия статистически значимы относительно: * – $p < 0,05$ интактной группы; # – $p < 0,05$ контрольной группы.

Выводы

1. В условиях экспериментального костно-мозгового синдрома дикарбамин в дозе 4,0 мг/кг перорально ежедневно, один раз в сутки в течение 15 дней (5 дней до облучения и 10 дней после облучения) статистически значимо обеспечивал сохранность на достаточно высоком уровне количества циркулирующих эритроцитов, а также предупреждал развитие тяжелой послелучевой тромбоцитопении.

2. Дикарбамин в дозе 4,0 мг/кг при лечебно-профилактическом пероральном введении уменьшал глубину пострadiационной лейкоцитопении, ускорял процессы восстановления лейкоцитарного состава периферической крови до исходного уровня за счет накопления сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов.

Список литературы

1. Гершанович, М. А. Осложнения при химио- и гормонотерапии злокачественных опухолей / М. А. Гершанович. – М. : Медицина, 1982. – 224 с.
2. Противоопухолевая терапия / под ред. Н. И. Переводчиковой. – М., 1996. – 223 с.
3. Сипров, А. В. Антиоксиданты как средства снижения гематотоксичности химио- и лучевой терапии злокачественных опухолей : моногр. / А. В. Сипров, Н. И. Микуляк, Ю. А. Кинзирская ; под общ. ред. засл. деятеля науки РФ, проф. А. С. Кинзирского. – Пенза : Изд-во ПГУ, 2012. – 298 с.
4. Легеза, В. И. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор лейкоцим – средство патогенетической терапии постлучевого костно-мозгового синдрома / В. И. Легеза, А. В. Попов, В. В. Салухов, Ю. С. Турлаков // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2010. – № 2. – Прил. 3. – С. 135–139.

5. **Mittelman, M.** Clinical application of recombinant erythropoietin in myelodysplasia / M. Mittelman, L. S. Lessin // *HematolOncolClin North Am.* – 1994. – V. 8, № 5. – P. 993–1009.
6. Biological activities of recombinant granulocyte colony stimulating factor and tumour necrosis factor in vivo and in vitro analysis / M. A. Moore, K. Welte, S. Gabrilove et al. // *HamatolBluttransfus.* – 1987. – V. 31. – P. 210–220.
7. **Nguyen, Y. K.** Granulocyte colony stimulating factor / Y. K. Nguyen // *J. Fla. Med. Assoc.* – 1994. – V. 81, № 7. – P. 467–469.
8. Окончательные результаты кооперативных исследований препарата «Дикарбамин» в качестве гемепротектора при комбинированной химиотерапии у онкологических больных / М. Б. Бычков, Н. С. Бесова, С. В. Топчиева и др. // *Вопросы онкологии.* – 2009. – Т. 55, № 5. – С. 627–633.
9. **Моисеева, И. Я.** Влияние препарата «Дикарбамин» на лейкоцитарный состав периферической крови в условиях экспериментального костно-мозгового синдрома / И. Я. Моисеева, А. И. Зиновьев, И. Н. Кустикова, С. А. Филимонов // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки.* – 2008. – Т. 8, № 4. – С. 17–24.
10. **Моисеева, И. Я.** Влияние дикарбамина на пострадиационную динамику лейкоцитарного состава периферической крови мышей / И. Я. Моисеева, А. И. Зиновьев, И. В. Мозерова, С. А. Филимонов // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 2010. – Т. 73, № 1. – С. 20–23.
11. **Моисеева, И. Я.** Изучение гематопротекторной эффективности дикарбамина в условиях экспериментального пострадиационного костно-мозгового синдрома / И. Я. Моисеева, А. И. Зиновьев, С. А. Никишин, В. Е. Небольсин // *Вопросы онкологии.* – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 81–84.
12. **Небольсин, В. Е.** Механизмы протективного действия «Дикарбамина» в отношении системы крови при цитостатическом воздействии / В. Е. Небольсин, В. В. Жданов, Г. Н. Зюзьков и др. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2010. – Т. 150, № 9. – С. 312–316.
13. **Трещалин, И. Д.** Модификация миелосупрессивного действия противоопухолевых цитостатиков с помощью перорального гематокорректора дикарбамина (экспериментальное исследование) / И. Д. Трещалин, Д. А. Бодягин, Э. Р. Переверзева и др. // *Вопросы онкологии.* – 2009. – Т. 5, № 6. – С. 769–744.
14. Патент РФ № 2217196, МПК⁷ кл. А61 Р 35/00, А 61 К 31/325, 31/205 / В. Е. Небольсин, В. А. Горбунова, И. Д. Трещалин и др. // *БИ.* – № 33 от 27.11.2003.
15. Защита препаратом «Дикарбамин» гемопоэтических клеток костного мозга от апоптоза, развивающегося в экспериментальных условиях под воздействием циклофосфана (морфологическое исследование) / Н. Т. Райхлин, И. Д. Трещалин, Д. А. Бодягин и др. // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2003. – Т. 2, № 1. – С. 36–37.

Моисеева Инесса Яковлевна

доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой общей
и клинической фармакологии,
Медицинский институт, Пензенский
государственный университет

E-mail: moiseeva_pharm@mail.ru

Moiseeva Inessa Yakovlevna

Doctor of medical sciences, professor,
head of sub-department of general
and clinical pharmacology,
Medical Institute, Penza State University

Ионичева Любовь Владимировна
кандидат медицинских наук, доцент,
кафедра физиологии человека,
Пензенский государственный
университет

E-mail: dvilv@mail.ru

Ionicheva Lyubov Vladimirovna
Candidat of medical sciences, associate
professor, sub-department of human
physiology, Penza State University

Никишин Сергей Александрович
врач Областного онкологического
диспансера (г. Пенза)

E-mail: nikishins@rambler.ru

Nikishin Sergey Alexandrovich
Practitioner, Regional oncologic dispensary

Зиновьев Александр Иванович
врач радиологического отделения
Областного онкологического диспансера
(г. Пенза)

E-mail: alivzi@yandex.ru

Zinovyev Alexander Ivanovich
Practitioner, radiological department,
Regional oncologic dispensary

Небольсин Владимир Евгеньевич
генеральный директор
ООО «Фарминтерпрайсез» (г. Москва)

E-mail: nve1970@mail.ru

Nebolsin Vladimir Evgenyevich
CEO, "Farminterprises" Ltd.

УДК 615.273.3+614.84

Гематопротекторные эффекты дикарбамина при курсовом лечебно-профилактическом введении в условиях экспериментального радиогенного повреждения системы крови / И. Я. Моисеева, Л. В. Ионичева, С. А. Никишин, А. И. Зиновьев, В. Е. Небольсин // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2012. – № 3 (23). – С. 36–42.