

*И.Я. Мусеева¹, Л.В. Ионичева¹, С.А. Никишин², А.И. Зиновьев²,
В.Е. Небольсин³*

МОДИФИКАЦИЯ ГЕМАТОСУПРЕССИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДИКАРБАМИНОМ

¹ Пензенский государственный университет
² Областной онкологический диспансер, г. Пенза
³ ООО «Фарминтерпрайсез», Россия

Изучено влияние дикарбамина в разных дозах при пероральном лечебно-профилактическом и лечебном введении на состав периферической крови кроликов в условиях экспериментального радиационного повреждения системы крови. Препарат обеспечивал сохранность на достаточно высоком уровне циркулирующих эритроцитов, предупреждал развитие тяжелой послелучевой тромбоцитопении, уменьшал глубину пострадиационной лейкоцитопении, ускорял процессы восстановления лейкоцитарного состава периферической крови до исходного уровня за счет сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов.

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

Применение в онкологии программ высокодозной химио- и радиотерапии значительно ограничивается тяжелыми побочными эффектами [2, 6]. В связи с этим актуальна разработка новых гематомиелопротекторов, обладающих низкой токсичностью, возможностью длительного применения, способных уменьшать повреждение клеток крови, стволовых мультитипотентных клеток костного мозга и ускорять восстановление гемопоэза [3, 4, 5, 9]. Рациональным путем профилактики и терапии миелосупрессивных состояний является не стимуляция подавленного кроветворения, а защита кроветворной ткани от действия миелоингибирующих факторов [5]. С этих позиций реальным кандидатом на роль гематомиелопротектора в условиях лучевой супрессии гемопоэза является новый отечественный препарат дикарбамин (ОАО «ВалентаФарм, Россия, МНН — имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты). Ранее было показано защитное влияние препарата на показатели системы крови при действии миелоингибирующих факторов в эксперименте и в клинике [1, 3, 4, 5, 6, 8]. Целью работы явилось изучение гематопротекторных свойств дикарбамина при лечебном и лечебно-профилактическом пероральном введении путем исследования пострадиационной динамики клеточного состава крови кроликов.

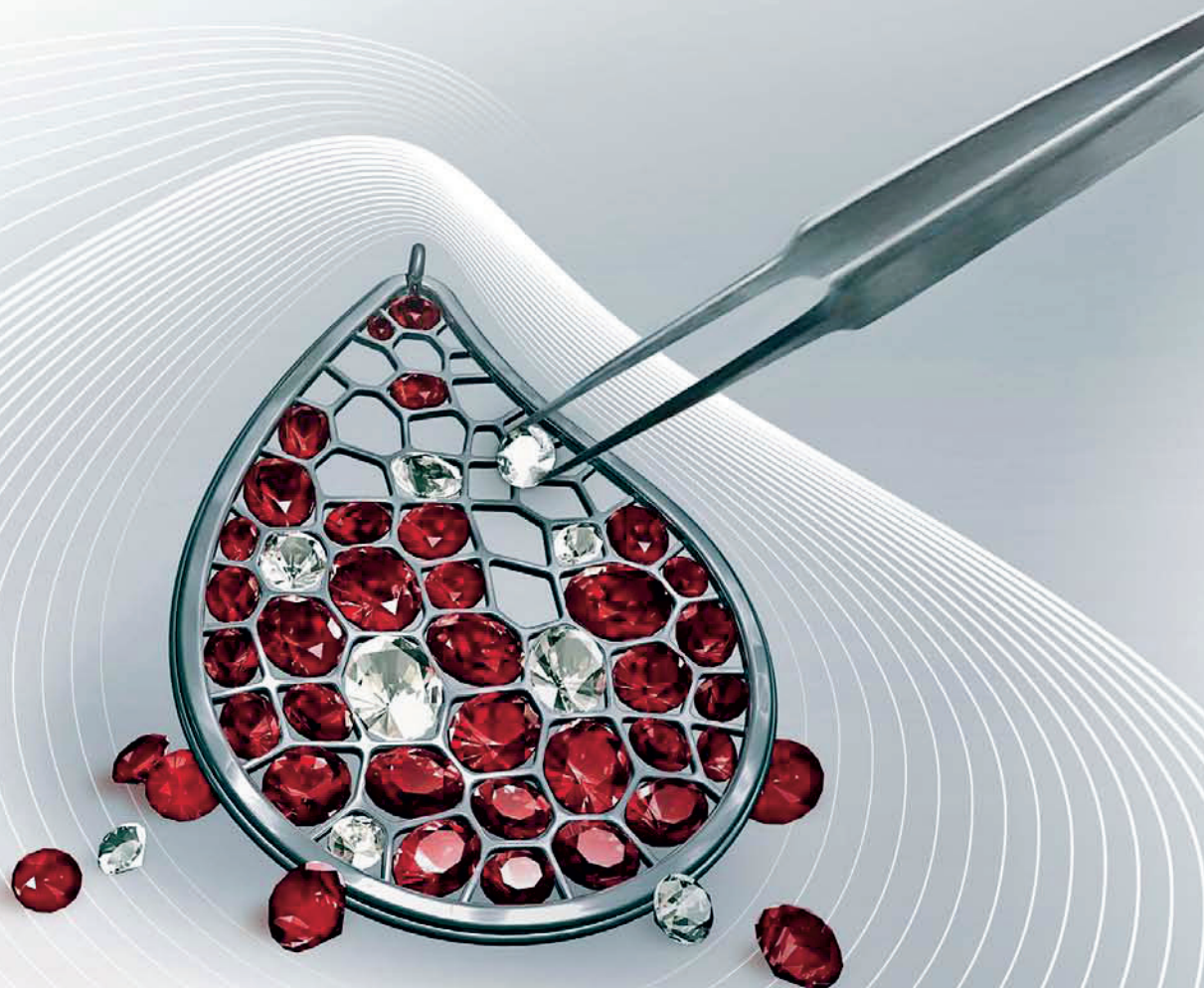
Методика

Исследование проведено в лаборатории кафедры общей и клинической фармакологии Медицинского института Пензенского государственного университета. Эксперименты были выполнены на 50 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 было сформировано 5 групп животных. Группа № 1 (n=10) являлась интактной. Животные групп №2 (n=10), №3 (n=10), № 4 (n=10) и №5 (n=10) подвергались однократному воздействию ионизирующей радиации с помощью аппарата АГАТ-«С» в разовой очаговой дозе 5 Гр. Расстояние от источника ионизации до ионизируемой поверхности составляло 90 см, процентная доза равнялась 94 %, а максимальная доза облучения составила 5,31 Гр. Дикарбамин (ОАО «ВалентаФарм», Россия) вводили перорально животным группы № 3 в дозе 4 мг/кг дважды — через 1 ч и 24 ч после облучения, группы № 4 в дозе 15 мг/кг дважды — через 1 ч и 24 ч после облучения, группы № 5 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 сутки. Определяли клеточный состав (абсолютное число лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов в 1 л крови) и лейкоцитарную формулу венозной крови. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета статистических программ — русифицированной версии программы STATISTICA 6.0 и программы BIOSTAT (S.A. Glantz, McGrawHill, перевод на русский язык — «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 Т-критерия Стьюдента в случае равенства дисперсий, его модификации (Т-критерий с отдельными оценками дисперсий) в случае неравенства дисперсий и с поправкой Бонферрони для множественных сравнений.

Результаты и обсуждение

Количество эритроцитов в периферической крови облученных животных контрольной группы постоянно уменьшалось от $5,35 \pm 0,20 \times 10^{12}/л$ в начале опыта до $3,48 \pm 0,29 \times 10^{12}/л$



**Дикарбамин® — единственный миелопротектор
для пациентов получающих химиотерапию**



- Уменьшение риска развития фебрильной нейтропении у пациентов, получающих химиотерапию
- Повышение эффективности химиотерапии (в запланированном объеме) в установленные сроки
- Высокий профиль безопасности препарата



ОАО «Валента Фарм». 119530, Москва, ул. Генерала Дорохова, д. 18, к. 2
Тел.: (495) 933-60-80, 933-12-68. Факс: (495) 933-60-81
e-mail: moscowoffice@valentapharm.com, www.valentapharm.com

www.dikarbamin.ru

($p < 0,01$) в конце наблюдения. На фоне дикарбамина в лечебно-профилактическом режиме введения в дозе 4 мг/кг и лечебном режиме в дозе 15 мг/кг содержание эритроцитов в периферической крови животных опытных групп незначительно снижалось, однако в большинстве контрольных точек было статистически значимо выше значений показателя в группе облученных животных, не получавших дикарбамин ($p_2 < 0,05$). На фоне дикарбамина в лечебном режиме введения в дозе 4 мг/кг в большинстве контрольных точек данный показатель был статистически значимо ниже такового в группе интактных животных ($p_1 < 0,05$), вместе с тем, в части контрольных точек (3-и, 21-е и 28-е сутки наблюдения)—выше значения показателя у животных контрольной группы ($p_2 < 0,05$).

Уровень гемоглобина у интактных животных был равен в среднем $122,53 \pm 17,30$ г/л, после лучевого воздействия на 7-е сутки $102,86 \pm 20,30$ г/л, на 14-е— $94,85 \pm 10,60$ г/л, на 21-е— $85,208 \pm 12,30$ г/л, на 28-е— $71,00 \pm 12,30$ г/л; в большинстве контрольных точек данный показатель был статистически значимо ниже такового в группе интактных животных ($p_1 < 0,05$). Концентрация гемоглобина у животных опытных групп на фоне дикарбамина уменьшалась статистически значимо относительно значений показателя у интактных животных преимущественно во второй половине эксперимента ($p_1 < 0,05$), однако у животных опытных групп № 4 и № 5 в большинстве точек она была выше значения показателя в группе контрольных животных ($p_2 < 0,05$). На фоне дикарбамина в лечебном режиме введения в дозе 4 мг/кг (группа № 3) значения этого показателя статистически значимо превышали контрольные цифры лишь на 21-е и 28-е сутки наблюдения.

Количество тромбоцитов после воздействия радиации постепенно статистически значимо уменьшалось от $312,5 \pm 34,60 \times 10^9$ /л до $55,60 \pm 14,11 \times 10^9$ /л ($p_1 < 0,05$) на 14-е сутки наблюдения. Тяжелая тромбоцитопения наблюдалась до окончания опыта: значение показателя варьировало в пределах $76,67 \pm 11,56 \times 10^9$ /л— $80,75 \pm 10,42 \times 10^9$ /л ($p_1 < 0,05$) (рис. 1). Содержание тромбоцитов в периферической крови животных на фоне облучения и применения дикарбамина оставалось на достаточно высоком уровне, динамика показателя была наилучшей на фоне лечебно-профилактического введения дикарбамина, когда значения показателя на протяжении всего эксперимента (за исключением 5-х суток) удерживались на уровне таковых в группе интактных животных ($p_1 > 0,05$) (рис. 1).

Дикарбамин в лечебном режиме введения в дозе 15 мг/кг также препятствовал развитию тромбоцитопении, однако, количество тромбо-

цитов в периферической крови животных данной группы на 5-е, 10-е, 14-е, и 21-е сутки наблюдения было статистически значимо ниже значения показателя в группе интактных животных ($p_1 < 0,05$). С одной стороны, содержание тромбоцитов на фоне лечебного введения дикарбамина в дозе 4 мг/кг во всех контрольных точках было более низким, чем у интактных животных ($p_1 < 0,05$) (рис. 1).

Облучение вызывало тяжелую алейкию с максимальной глубиной $0,29 \pm 0,10 \times 10^9$ /л ($p_1 < 0,05$) на 5-е сутки после облучения, которая сохранялась до 14-го дня опыта. В последующие 2 нед содержание лейкоцитов в крови постепенно увеличивалось до $3,98 \pm 0,68 \times 10^9$ /л ($p_1 = 0,003$) в конце опыта (рис. 2). В ранний период после облучения на фоне дикарбамина степень лейкопении была менее выражена, чем в контрольной группе, затем наблюдалось ускоренное восстановление количества лейкоцитов до исходного уровня (рис. 2).

В течение первых 2-х нед после лучевого повреждения в периферической крови животных отмечалась абсолютная нейтропения до $0,13 \pm 0,03 \times 10^9$ /л— $0,27 \pm 0,05 \times 10^9$ /л (до облучения $2,29 \pm 0,34 \times 10^9$ /л). Омоложение нейтрофильного состава периферической крови сохранялось на 14-е и 21-е сутки опыта. В конце наблюдения было отмечено некоторое накопление в крови зрелых сегментоядерных нейтрофилов и уменьшение количества миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных нейтрофилов (рис. 2).

Уровень сегментоядерных нейтрофилов на фоне дикарбамина на протяжении большей части эксперимента был выше контрольных цифр ($p_2 < 0,05$) (рис. 3). Наибольший гематопротекторный эффект наблюдался при лечебно-профилактическом режиме введения исследуемого препарата, при котором значения показателя уже с 7-х суток наблюдения были не ниже, чем таковые у интактных животных. Дикарбамин в лечебном режиме введения в дозе 15 мг/кг вызывал аналогичную динамику показателя за исключением его снижения на 14-е сутки эксперимента ($p_1 < 0,05$). На фоне исследуемого препарата в наименьшей курсовой дозе 8 мг/кг (опытная группа № 3) значения показателя были значимо ниже таковых у интактных животных с 7-ых по 14-е сутки наблюдения, но, вместе с тем,—выше уровня данных клеток в контрольной группе животных в первую неделю после облучения ($p_2 < 0,05$).

Палочкоядерные нейтрофилы после воздействия ионизирующего излучения и применения дикарбамина не были обнаружены в течение эксперимента (за исключением одной контрольной точки), что подтверждает дифференцировочный эффект дикарбамина, обнаруженный ранее [6], а

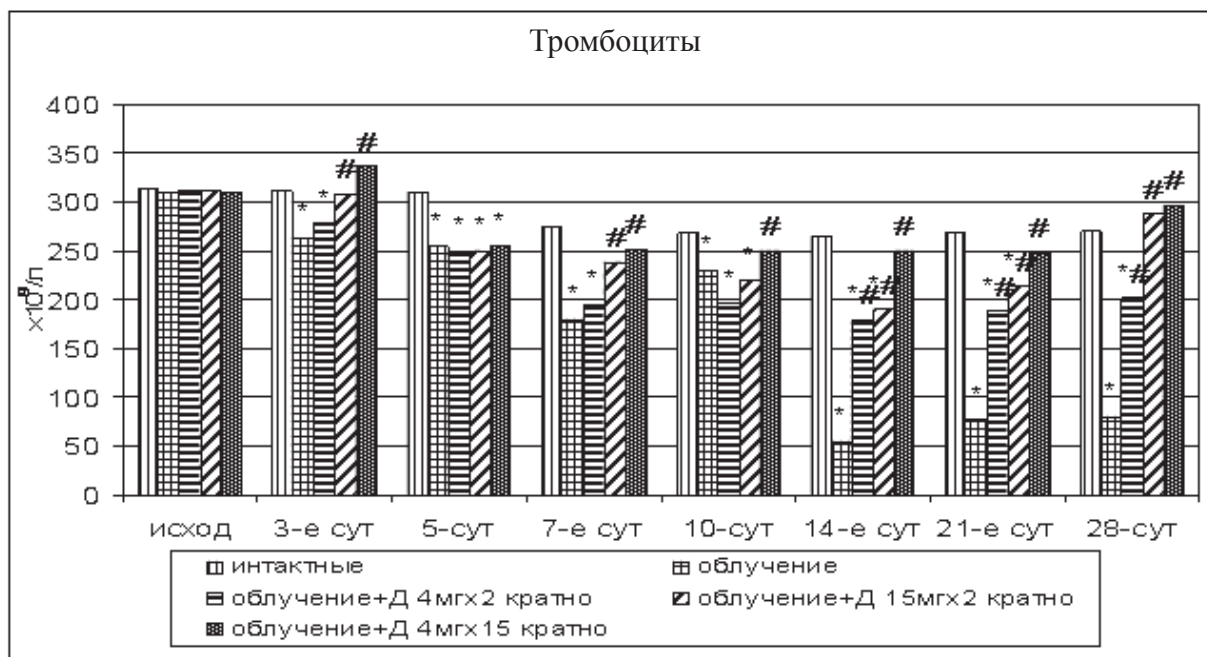


Рис. 1. Влияние дикарбамина на содержание тромбоцитов в периферической крови кроликов при радиационном воздействии. Различия статистически значимы * — интактной группы $p_1 < 0,05$; # — контрольной группы — $p_2 < 0,05$.

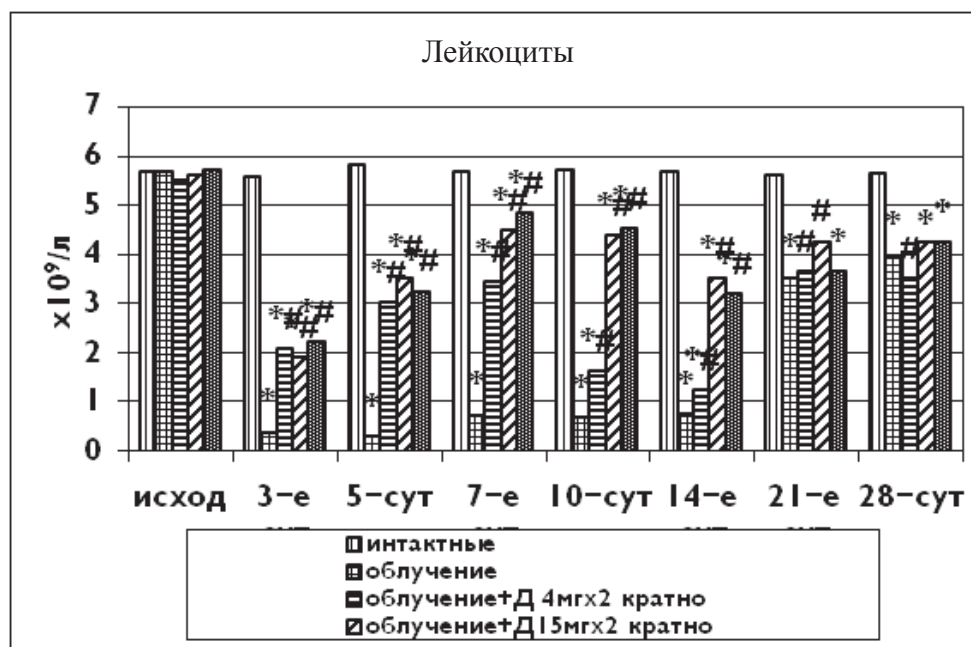


Рис. 2. Влияние дикарбамина на содержание лейкоцитов в периферической крови кроликов при радиационном воздействии. Различия статистически значимы относительно * интактной группы — $p_1 < 0,05$; # контрольной группы — $p_2 < 0,05$.

в группе облученных животных без фармакологической коррекции эти клетки определялись в большинстве контрольных точек, однако их уровень был статистически значимо ниже, чем у интактных животных ($p_1 < 0,05$).

В контрольной группе животных дефицит лимфоцитов был глубоким на протяжении всего эксперимента; значения показателя не достигали уровня интактных животных даже в конце эксперимента (рис.4). Абсолютное содержание

лимфоцитов на фоне дикарбамина на протяжении исследования было статистически значимо выше, чем в группе облученных животных без фармакологической коррекции. Так, на фоне курсового лечебно-профилактического введения дикарбамина на 3-и сутки после лучевого поражения было отмечено уменьшение содержания лимфоцитов в периферической крови от $2,85 \pm 0,41 \times 10^9/\text{л}$ до $1,21 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$; в дальнейшем — их интенсивное накопление. Значение

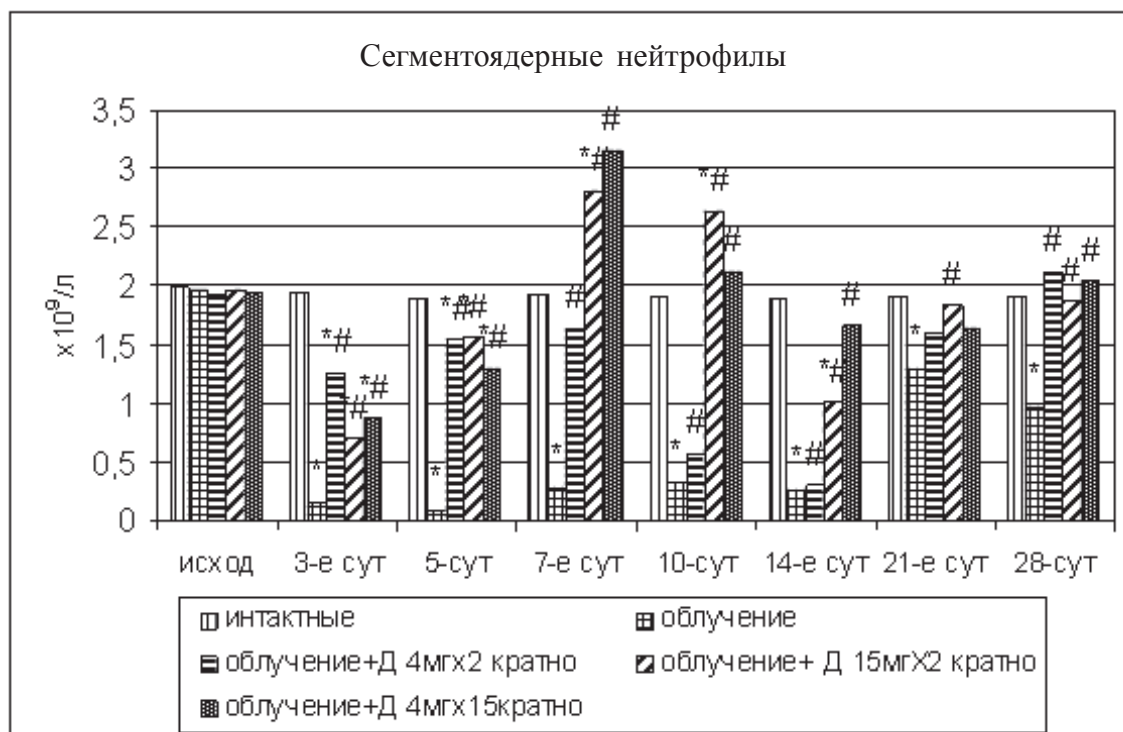


Рис.3. Влияние дикарбамина на содержание тромбоцитов в периферической крови кроликов при радиационном воздействии. Различия статистически значимы относительно * — интактной группы — $p_1 < 0,05$; # — контрольной группы — $p_2 < 0,05$.

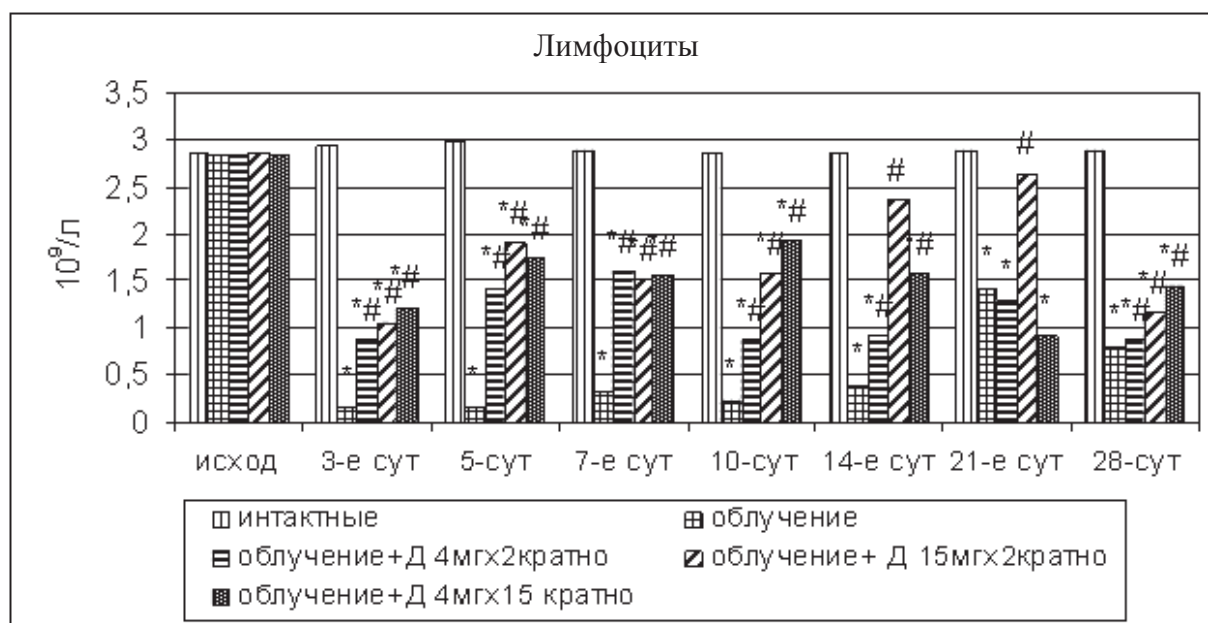


Рис.4. Влияние дикарбамина на содержание тромбоцитов в периферической крови кроликов при радиационном воздействии. Различия статистически значимы относительно* интактной группы — $p_1 < 0,05$; # — контрольной группы — $p_2 < 0,05$.

показателя во всех контрольных точках было статистически значимо ниже такового в интактной группе и выше, чем в контрольной группе (за исключением 21-ых суток наблюдения).

Дикарбамин в лечебном режиме введения в дозе 4 мг/кг вызывал аналогичную динамику показателя за исключением его снижения на 28-е сутки эксперимента ($p_1 < 0,05$) (рис. 3). Дикарбамин в лечебном режиме введения в дозе 15 мг/кг на 14-е и 21-е сутки опыта удерживал показатель на уровне такового у интактных животных ($p_1 > 0,05$) (рис. 4).

Таким образом, подводя итоги, можно прийти к следующим выводам:

Дикарбамин в различных режимах введения и дозах вызывал у экспериментальных животных гематопротекторный эффект по целому ряду исследуемых показателей состава периферической крови.

Дикарбамин как при лечебном, так и лечебно-профилактическом режимах введения, в условиях экспериментального костномозгового синдрома у кроликов обеспечивал сохранность на достаточно высоком уровне циркулирующих эритроцитов в периферической крови, предупреждал развитие тяжелой послелучевой тромбоцитопении, снижение числа лейкоцитов за счет сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов и ускорял процесс восстановления количества лейкоцитарных клеток до исходного уровня.

3. Дикарбамин в лечебно-профилактическом режиме в дозе 4 мг/кг и лечебном режиме в дозе 15 мг/кг проявлял более выраженный гематопротекторный эффект, чем в лечебном режиме в дозе 4 мг/кг, что обусловлено, вероятно, более низкой курсовой дозой последней схемы введения.

4. Лечебный режим введения дикарбамина в дозе 15 мг/кг может быть использован для реализации гемато- и миелопротекторного эффекта препарата в случае невозможности применения лечебно-профилактического режима.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бычков М.Б., Бесова Н.С., Топчиева СВ. и др. Окончательные результаты кооперативных исследований препарата дикарбамин в качестве гематопротектора при комбинированной химиотерапии у онкологических больных // *Вопр. Онкол.* — 2009. — Т. 55. — С. 627-633.
2. Гершанович М.А. Осложнения при химио- и гормонотерапии злокачественных опухолей // *М.: Медицина.* — 1982. — 224 с.

3. Моисеева И. Я, Зиновьев А.И., Мозерова И.В., Филимонов С.А. Влияние дикарбамина на пострadiационную динамику лейкоцитарного состава периферической крови мышей // *Эксперимент. и клин. Фармакол.* — 2010. — Т. 3. — № 1. — С. 20-23.
4. Моисеева И.Я, Зиновьев А.И., Никишин С.А., Небольсин В.Е. Изучение гематопротекторной эффективности дикарбамина в условиях экспериментального посттрадиционного костномозгового синдрома // *Вопр. Онкол.* — 2012. — Т. 58. — С. 81-84.
5. Небольсин В.Е., Жданов В.В., Зюзьков Г.Н. и др. Механизмы протективного действия «Дикарбамина» в отношении системы крови при цитостатическом воздействии // *Бюлл. Эксперимент. Биол. и мед.* — 2010. — Т. 150. — № 9. — С. 312-316.
6. Райхлин Н.Т., Трещалин И.Д., Бодягин Д.А. и др. Защита препаратом дикарбамин гемопоэтических клеток костного мозга от апоптоза, развивающегося в экспериментальных условиях под воздействием циклофосфана (морфологическое исследование) // *Росс. Биотерап. журнал.* -2003. — Т. 2. — № 1. — С. 36-37.
7. Сипров А.В., Микуляк Н.И., Кинзирская Ю.А. Антиоксиданты как средства снижения гематотоксичности химио- и лучевой терапии злокачественных опухолей: моногр. под общ. ред. засл. деятеля науки РФ, проф. А.С. Кинзирского. — Пенза: Изд-во ПГУ. — 2012. — 298 с.
8. Трещалин И.Д., Бодягин Д. А., Переверзев Э.Р. и др. Модификация миелосупрессивного действия противоопухолевых цитостатиков с помощью перорального гематокорректора дикарбамина (экспериментальное исследование) // *Вопр. Онкол.* — 2009. Т. 5. — С. 769-744.
9. Ярмоненко С.П. Радиобиология — ответы на запросы времени // *Мед. Радиол. и радиационн. безопасн.* — 2006. — Т. 51. — № 1. — С. 8-14.

*I.Ya. Moiseeva¹, L.V. Ionicheva¹, S.A. Nikishin²,
A.I. Zinoviev², V.E. Nebolsin³*

MODIFICATION OF HEMATOSUPPRESSIVE ACTION OF IONIZING RADIATION BY DICARBAMINE

¹ State University, Penza

² Regional Oncological Dispensary, Penza

³ LLC «Farminterprices», Russia

There was studied the effect of different doses of Dicarbamine by means of oral medical-prophylactic and medical administration on the peripheral blood of rabbits in conditions of experimental radiation damage to the blood system. The drug provided the safety of circulating red blood cells at rather high level, prevented the development of severe post-radiation thrombocytopenia, reduced post-radiation leukocytopenia, accelerated processes of recovery of peripheral blood leukocytes to the initial level by segmented neutrophils and lymphocytes.