

Г.С. Григор'єва¹, Н.Ф. Канахович¹,
С.О. Шаповалов², М.М. Долгая², Н.Є. Узленкова³
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ¹, КИЇВ
ІНСТИТУТ ТВАРИННИЦТВА НААН УКРАЇНИ², ХАРКІВ
ІНСТИТУТ МЕДИЧНОЇ РАДІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ³, ХАРКІВ

КОРЕКЦІЯ ШТУЧНОЇ БЕНЗОЛЬНОЇ ГІПОПЛАСТИЧНОЇ АНЕМІЇ ПРИ ВИКОРИСТАННІ КОМПЛЕКСНИХ МІКРОЕЛЕМЕНТНИХ КОМПОЗИЦІЙ

Дана стаття присвячена питанням етіології та патогенезу в терапії гіпопластичної анемії. Наведено результати порівняльного дослідження впливу мікроелементної композиції "Есмін" та імуностимулювального препарату "Краплі Береша" на організм мишей, штучно анемізованих бензолом. Встановлено, що введення есміну тваринам з гіпопластичною бензольною анемією не тільки швидко відновлює кількість і морфологічний склад клітин крові й кісткового мозку, але і проявляє певний гемостимулювальний ефект.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпопластична анемія, есенційні мікроелементи, гемопоез, кістковий мозок, гемостимулювальний ефект.

ВСТУП. Гіпопластична анемія – захворювання кровотворної системи, що належить до категорії мієлодисплазій та проявляється різким пригніченням або припиненням росту і дозрівання усіх трьох клітинних ліній в кістковому мозку, або так званому панмієлофтизі. Захворювання у людей зустрічається у будь-якому віці, частіше після 50 років (65 % випадків). У середині ХХ сторіччя захворювання системи крові стали причиною смерті 1,54 % хворих, у т.ч. внаслідок гіпопластичних анемії – 0,13 %. Летальність при цій анемії досягає 60 % і більше, її частота складає 5–10 випадків на 100 тис. населення на рік [1].

Гіпопластична анемія може розвинути за дії ряду мієлотоксичних факторів: іонізуючого випромінювання, хімічних речовин – бензолу, солей золота, миш'яку; лікарських засобів – хлорамфеніколу (левоміцетин), фенілбутазону (бутадіон), хлорпромазину (аміназин), мепробамату, дилантину, антиметаболітів (6-меркаптопурин, метотрексат), алкуючих цитостатиків (циклофосфан, хлорбутин) тощо. Мієлотоксичний ефект від впливу одних факторів (іонізуюче випромінювання, антиметаболіти) виникає завжди при досить великій дозі, інших – проявляється індивідуально. Причина індивідуальної чутливості, зокрема до деяких лікарських засобів, не завжди зрозуміла, але може

бути пов'язана з генетичними дефектами некроцитарних клітин. Це стосується, наприклад, хлорамфеніколу і фенілбутазону, які викликають супресію еритропоезу залежно від дози [8]. Спадковий характер індивідуальної чутливості еритропоетичних клітин до даних лікарських речовин підтверджується розвитком аплазії кісткового мозку в різних членів однієї родини й однояйцевих близнят. В інших випадках імовірний зв'язок індукованого лікарськими речовинами пригнічення кровотворення з імунними механізмами появи антитіл до еритроцитарних попередників [3]. Описані випадки виникнення гіпопластичної анемії після гострого вірусного гепатиту (можливо, внаслідок здатності вірусу гепатиту змінювати каріотип клітин, що було простежено на культурі лейкоцитів). Існує і спадкова форма гіпопластичної анемії – анемія Фанконі. Механізм зупинення проліферації поліпотентних стовбурових клітин залишається невідомим. Передбачається первинне порушення функції стромального мікрооточення, що забезпечує стовбурові клітини ростовими факторами. Проте більш ймовірно є активація факторів позаклітинної імунної супресії, спрямованих на поліпотентні стовбурові клітини. На користь останнього механізму свідчать сприятливі результати, отримані при застосуванні антиімуносупресивних препаратів у значній кількості хворих. На можливість генетичної схильності до розвитку апластичної

© Г.С. Григор'єва, Н.Ф. Канахович, С.О. Шаповалов, М.М. Долгая, Н.Є. Узленкова, 2011.

анемії вказує висока частота виявлених при АА антигенів 11 класу системи DR-2 і DPw3. Однак суть цих клітинних дефектів залишається незрозумілою, так само, як і їх первинність. Можливо, при різних формах гіпопластичної анемії патогенетичні механізми неоднакові [2].

Клінічна картина депресії кровотворення складається з анемічного, геморагічного синдрому, а також синдрому інфекційних ускладнень. Перші прояви зазвичай зумовлені анемією і тромбоцитопенією та включають стомлюваність, що наростає, загальну слабкість, запаморочення, шум у вухах, погану переносимість задушливих приміщень, кровоточивість ясен, геморагічні висипання, носові, маткові й шлунково-кишкові кровотечі [4]. До того як стали застосовувати імунодепресанти й алотрансплантації кісткового мозку, понад 25 % хворих на тяжку гіпопластичну анемію вмирили протягом 4 місяців після встановлення діагнозу, а кожен другий хворий помирав упродовж 1 року. Дослідження щодо вивчення впливу препаратів, які б могли нівелювати розвиток патологій різного генезу при гіпопластичній анемії, доцільно проводити на моделі штучної бензолної гіпопластичної анемії.

Бензол – ароматичний вуглеводень, який за своєю токсичною дією належить до отрут, що пригнічують переважно процеси кровотворення та призводять до гіпопластичних станів кісткового мозку [7].

Патогенез порушень кровотворення при інтоксикації бензолом слід розглядати з позицій безпосереднього токсичного впливу бензолу на стовбурові клітини кісткового мозку, процеси мітозу та хромосомний апарат кровотворних клітин. Дія бензолу на кровотворення, можливо, пов'язана з утворенням з нього фенолів, хінонів та інших отрут, які пригнічують ділення клітин. У кістковому мозку уражаються всі три типи: лейко-, тромбо- та еритропоетичний. Особливо страждають клітини мієлоїдного ряду. Порушення, що виникають у ЦНС за дії бензолу, у свою чергу, можуть рефлекторно впливати на регуляцію кровотворення [10, 11].

Сьогодні суттєво переглядається ставлення до застосування препаратів феруму при гіпопластичних анеміях [5, 6]. З огляду на вищенаведене, актуальними були дослідження за умов уведення поліядерної комплексної композиції есенційних мікроелементів на тлі гіпопластичної анемії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті були використані статевозрілі білі миші масою 24–28 г, яких утримували на стандартному харчовому раціоні. Їх поділили на 4 групи: 1-ша – група тварин негативного контролю, яким

щоденно підшкірно раз на добу протягом 10 днів вводили бензол у дозі 1,0 мл/кг; 2-га – дослідна група тварин, яким після останнього введення бензолу щоденно внутрішньошлунково вводили композицію “Есмін” у вигляді записи в крохмальному клейстері в дозі 25 мг/кг маси тіла (умовно-терапевтична доза, встановлена для статевозрілих мишей) протягом двох тижнів; 3-тя – друга дослідна група тварин, які одержували препарат порівняння “Краплі Береша” (що має близький мікроелементний склад) за тією ж схемою, що і есмін, – щоденно внутрішньошлунково в дозі, еквімолярній дозі есміну, що вводиться, по залізу (0,2 мл/кг); 4-та (контроль) – інтактні тварини, які щоденно внутрішньошлунково отримували крохмальний клейстер в однакових об'єм-дозах.

Усі групи були поділені на дві підгрупи, кожна залежно від терміну досліджень – на 15 та 25 доби від початку введення бензолу або на 5 та 15 доби після першого введення есміну і крапель Береша. Контрольних тварин поділили на три підгрупи, в яких дослідження проводили ще на 10 добу експерименту перед початком введення препаратів. У відповідні терміни мишей декапітували, брали кров, кістковий мозок із стегнової кістки, робили мазки та визначали їх морфологічний склад стандартними методами [9]. Кількість лейкоцитів, еритроцитів підраховували в камері Горяєва, вміст гемоглобіну визначали гемометром за Салі, рівень ШОЕ – в апараті Панченко. Кількість тромбоцитів, морфологічний склад клітин лейкограми і мієлограми підраховували на пофарбованих за Гімза-Романовським мазках крові й кісткового мозку.

Результати досліджень оброблено загальноприйнятими статистичними методами. Достовірність відмінностей між групами спостережень оцінювали за критерієм Стюдента і непараметричним критерієм Вілкоксона-Манна-Уїтні. Відмінності між групами спостережень вважали статистично значимими при $p < 0,05$, $p < 0,01$ або $p < 0,005$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Про стан гемопоезу в експерименті судили за такими показниками кісткового мозку, як лейкоеритроїдне співвідношення, індекси дозрівання гранулоцитів і еритробластів.

Одержані дані, наведені в таблиці 1, свідчать про те, що у тварин на 10 добу введення бензолу достовірно знижувались рівень гемоглобіну – із (145 ± 8) до (100 ± 7) г/л, кількість еритроцитів – з $(7 \pm 0,3)$ до $(6 \pm 0,25)$ Г/л, тромбоцитів – з (385 ± 8) до (290 ± 9) Т/л. У цей строк спостереження в крові відсутні палич-

коядерні нейтрофіли й еозинофіли, зменшувалась кількість сегментоядерних нейтрофілів – з (4,2±0,2) до (2,4±0,1) і моноцитів – з (0,4±0,01) до (0,2±0,01) Т/л, що приводило до зниження загальної кількості лейкоцитів у крові – з (10±0,3) до (8±0,2) Т/л (табл. 1).

Таблиця 1 – Вплив есміну і крапель Береша на морфологічний склад периферичної крові мишей при гіпопластичній бензолній анемії (n=6)

Показники крові	Група тварин	Вихідні дані	Час дослідження після початку введення бензолу, доба		
			10	15	25
Гемоглобін, г/л	1-ша	145,0±8,0	100,0±7,0*	110,0±6,0*	130,0±6,0*
	2-га		100,0±7,0*	120,0±5,0*	145,0±7,0
	3-тя		100,0±7,0*	140,0±8,0**, ***	155,0±8,0 **
Еритроцити, Г/л	1-ша	7±0,3	6,0±0,25*	5,5±0,2*	6,0±0,25*
	2-га		6,0±0,25*	6,5±0,3**	7,0±0,3**
	3-тя		6,0±0,25*	7,0±0,25**	7,6±0,25**
Лейкоцити, Т/л	1-ша	10±0,3	8,0±0,2*	7,0±0,2*	8,0±0,25*
	2-га		8,0±0,2*	8,5±0,3**	9,5±0,4**
	3-тя		8,0±0,2*	10,0±0,25**	11,0±0,3**
Паличкоядерні нейтрофіли, Т/л	1-ша	0,1±0,005	0	0	0,1±0,01
	2-га		0	0,10±0,005**	0,2±0,01 *, **
	3-тя		0	0,17**±0,01***	0,3±0,01 *, **, ***
Сегментоядерні нейтрофіли, Т/л	1-ша	4,2±0,2	0	2,5±0,2*	3,6±0,2*
	2-га		2,4±0,1	3,5 ±0,2*, **	4,0±0,2
	3-тя		2,4±0,1	4,3±0,1**	5,5±0,3*, **, ***
Еозинофіли, Т/л	1-ша	0,2±0,01	0	0	0,1±0,007*
	2-га		0	0,1±0,006**	0,14±0,001*
	3-тя		0	0,2±0,001***	0,24±0,01**, ***
Моноцити, Т/л	1-ша	0,4±0,01	0,2±0,01*	0,2±0,01*	0,3±0,01*
	2-га		0,2±0,01*	0,3±0,01*, **	0,4±0,01
	3-тя		0,2±0,01*	0,4±0,02**, ***	0,5±0,02*, **, ***
Лімфоцити, Т/л	1-ша	5,1±0,2	5,4±0,3	4,3±0,03	4,0±0,06*
	2-га		5,4±0,3	4,5±0,02	4,72±0,05
	3-тя		5,4±0,3	5,1±0,2	4,46±0,01
Тромбоцити, Т/л	1-ша	385,0±8,0	290,0±9,0*	280,0±8,0*	360,0±9,0
	2-га		290,0±9,0*	380,0±7,0**	390,0±8,0
	3-тя		290,0±9,0*	400,0±8 **	410,0±9,0
ШОЕ, мм/год	1-ша	4±0,1	4,1±0,2	4,0±0,1	4,1±0,2
	2-га		4,1±0,2	4,2±0,2	4,2±0,2
	3-тя		4,1±0,2	4,0±0,1	4,1±0,1

Примітка. * – достовірні зміни відносно групи інтактних тварин;

** – достовірні зміни відносно контролю;

*** – достовірні зміни відносно препарату.

На 15 добу після початку введення бензолу і 5 добу введення есміну та крапель Береша в контролі відмічено достовірно знижені вміст гемоглобіну – з (145,0±8,0) до (110,0±6,0) г/л, кількість еритроцитів – з (7,0±0,3) до (5,5±0,2) Г/л і лейкоцитів – з (10,0±0,3) до (7,0±0,2) Т/л, відсутні еозинофіли. При введенні крапель Береша вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів підвищувались, але ці показники все ще залишались низькими. У групі тварин, яким вводили есмін, всі показники крові після 5-го введення препарату досягали вихідних даних.

На 25 добу після початку введення бензолу в контролі вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів ще залишались зниженими –

з (145,0±8,0) до (130,0±6,0) г/л, з 7,0 і 0,3 до (6±0,25) Г/л, з (10,0±0,3) до (8,0±0,25) Т/л відповідно. При застосуванні крапель Береша з 10-го введення до цього строку спостереження показники крові досягали вихідних величин. Введення есміну підвищувало, порівняно з вихідними даними, вміст гемоглобіну – з (145,0±8,0) до (155,0±8,0) г/л, еритроцитів – з (7,0±0,3) до (7,6±0,25) Г/л, паличкоядерних нейтрофілів – з (0,1±0,005) до (0,3±0,01) Т/л, сегментоядерних нейтрофілів – з (4,2±0,2) до (5,5±0,3) Т/л.

Для обговорення стану гемопоезу при введенні есміну і крапель Береша за умов бензолної анемії у тварин всіх груп вивчали і морфологічний склад кісткового мозку. Крім

підрахунків клітинного складу мієлограми, визначали індекси дозрівання елементів еритробластичного і мієлоїдного рядів, лейкоеритроїдне співвідношення, які характеризують стан системи гемопоезу (табл. 2).

Вивчення морфологічного складу клітин кісткового мозку показало, що на 10 добу введення бензолу (контроль) зменшувалась кількість молодих форм, як мієлоїдного, так і еритроїдного рядів, що приводило до збільшення індексу дозрівання елементів еритроїдного ряду з 0,8 до 0,91 і зниження індексу дозрівання нейтрофілів з 0,87 до 0,72.

На 15 добу дослідження (після 5-го введення есміну і крапель Береша) в контролі кількість молодих мієлоцитів і еритроїдних клітин залишалась зниженою. При лікуванні бензолної анемії краплями Береша вміст мієлоцитів і еритробластів був вищим, ніж у контролі, й мало відрізнявся від вихідних даних.

Після п'яти введень есміну кількість молодих мієлоїдних і еритроїдних клітин у кістковому мозку була значно вищою, ніж у контролі й інтактних тварин. Так, у контролі індекс дозрівання нейтрофілів складав 0,77, в інтактних – 0,87, при введенні есміну – 1,0. Дещо більший вміст у цій групі тварин і еритробластів, індекс дозрівання яких дорівнював 0,77 (в контролі – 0,86, в інтактних тварин – 0,8).

На 25 добу експерименту (після 10-го введення препаратів у контролі й групі мишей, лікованих краплями Береша) морфологічний склад клітин кісткового мозку практично не відрізнявся від мієлограми інтактних тварин. Введення ж есміну не тільки попереджувало розвиток анемії, але і сприяло інтенсивнішому утворенню молодих форм мієлоїдного ряду – з 0,8 в інтактних тварин до 0,72 в контролі, а також збільшувало індекс дозрівання нейтрофілів з 0,87 і 0,83 до 1 відповідно.

Таблиця 2 – Динаміка показників клітинного складу кісткового мозку мишей при бензолній анемії (n=6)

Показник мієлограми, %	Конт- роль	1-ша група			2-га група			3-тя група		
		Доба після першого введення бензолу								
		10	15	25	10	15	25	10	15	25
Промієлоцити	1	–	–	–	–	1	2	–	–	–
Мієлоцити нейтрофільні	15	9	10	12	–	17	18	–	14	15
Мієлоцити еозинофільні	2	–	–	1	–	2	2	–	1	2
Мієлоцити базофільні	–	5	4	3	–	–	–	–	1	1
Метамієлоцити (юні)	10	7	8	9	–	11	11	–	9	10
Нейтрофіли паличкоядерні	13	10	10	12	–	13	13	–	13	13
Нейтрофіли сегментоядерні	17	19	18	18	–	15	17	–	17	17
Еозинофіли	1	–	–	1	–	1	2	–	1	2
Моноцити	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Базофіли	–	5	5	1	–	1	–	–	2	–
Лімфоцити	13	20	20	17	–	12	9	–	17	13
Ретикулоцити	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Плазматичні клітини	1	3	3	2	–	1	1	–	1	2
Еритробласти базофільні	6	2	3	4	–	6	7	–	5	5
Еритробласти поліхроматофільні	5	3	4	5	–	5	5	–	5	5
Еритробласти оксифільні	4	5	4	4	–	4	4	–	4	5
Нормобласти поліхроматофільні	5	6	5	5	–	5	4	–	5	5
Нормобласти оксифільні	6	7	6	6	–	6	5	–	5	6
Індекс дозрівання елементів еритроцитарного ряду	0,8	0,91	0,86	0,8		0,77	0,72	–	0,8	0,8
Кістковий індекс дозрівання нейтрофілів	0,87	0,72	0,77	0,83		1,0	1,0	–	0,8	0,86
Лейкоеритроїдне співвідношення	2,7:1	2,9:1	3,4:1	3:1	–	2,7:1	2,9:1		2,8:1	2,7:1

ВИСНОВОК. Проведені дослідження показали, що введення есміну тваринам з гіпопластичною бензолною анемією не тільки

швидко відновлює кількість і морфологічний склад клітин крові й кісткового мозку, але і проявляє певний гемостимулювальний ефект.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология : справочник / К. М. Абдулкадыров. – СПб. : Питер, 2006. – 448 с.
2. Гематология / под ред. О. А. Рукавицина. – СПб. : ООО “Д.П.”, 2007. – 912 с.
3. Гематология : руководство для врачей / под ред. Н. Н. Мамаева, С. И. Рябова. – СПб. : Спецлит, 2008 – 543 с.
4. Гусева С. А. Болезни системы крови : справочник / С. А. Гусева, В. П. Вознюк, М. Д. Бальшин. – К. : Логос, 2001. – 542 с.
5. Комплексоутворення як спосіб підвищення нешкідливості сполук мікроелементів / Г. С. Григор'єва, Л. М. Киричок, Н. Ф. Конахович [та ін.] // Совр. проблемы токс. – 1998. – № 1. – С. 21–23.
6. Координационные соединения металлов в медицине / [Е. Е. Крисс, И. И. Волченскова, А. С. Григорьева и др.] – К. : Наукова думка, 1986. – 216 с.
7. Терапия апластической анемии / Е. А. Михайлова, Г. А. Клясова, Е. Н. Устинова, В. Г. Савченко. – М. : ООО “Компания БОРГЕС”, 2008. – 30 с.
8. Хоффбранд Виктор. Гематология : атлас-справочник / Виктор Хоффбранд, Джон Петит ; пер. с англ. – М. : Практика, 2007. – 408 с.
9. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма : справочное пособие / И. А. Волчегорский. – Челябинск, 2000. – 167 с.
10. Hoffman Ronald Hematology Basic Principles and Practice. 3rd Edition1/ [Ronald Hoffman, J. Edward, Jr. Benz et al.] / Churchill Livingstone. New York, London, San Francisco, 2000. – 2584 p.
11. Oxford Handbook of Clinical Haematology. Second editon / D. Provan, Ch. R. S. Singer, T. Baglin, J. Lilleinan. – Oxford : University Press, 2004.

А.С. Григорьева¹, Н.Ф. Канахович¹, С.О. Шаповалов², М.М. Долгая², Н.Е. Узленкова³
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ НАН УКРАИНЫ¹, КИЕВ
ИНСТИТУТ ЖИВОТНОВОДСТВА НААН УКРАИНЫ², ХАРЬКОВ
ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ РАДИОЛОГИИ НАН УКРАИНЫ³, ХАРЬКОВ

КОРРЕКЦИЯ ИСКУССТВЕННОЙ БЕНЗОЛЬНОЙ ГИПОПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОМПЛЕКСНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ

Резюме

Данная статья посвящена вопросам этиологии и патогенеза в терапии гипопластической анемии. Приведены результаты сравнительного исследования влияния микроэлементной композиции “Эсмин” и иммуностимулирующего препарата “Капли Береша” на организм мышей, искусственно анемизированных бензолом. Установлено, что введение эсмина животным с гипопластической бензольной анемией не только быстро возобновляет количество и морфологический состав клеток крови и костного мозга, но и проявляет определенный гемостимулирующий эффект.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипопластическая анемия, эссенциальные микроэлементы, гемопоэз, костный мозг, гемостимулирующий эффект.

H.S. Hryhoryeva¹, N.F. Kanakhovych¹, S.O. Shapovalov², M.M. Dolhaya², N.Ye. Uzlenkova³
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF NAS OF UKRAINE¹, KYIV
INSTITUTE OF STOCK-RAISING OF NAAN OF UKRAINE², KHARKIV
INSTITUTE OF MEDICAL RADIOLOGY OF NAS OF UKRAINE³, KHARKIV

CORRECTION OF ARTIFICIAL BENZOL HYPOPLASTIC ANEMIA DURING USING OF COMPLEX TRACE COMPOSITION

Summary

This article adduces the etiology and pathogenesis in the treatment of hypoplastic anemia. There have been presented the comparing data of trace elements composition “Esmine” and immunostimulating drug Beresh drops on the body of mice, artificially anemised by benzol. There have been determined that introduction of Esmine in animals with hypoplastic anemia benzol not only restore the quantity and morphological composition of blood cells and bone marrow, but also shows some hemostimulating effect.

KEY WORDS: hypoplastic anemia, essential trace elements, forming organs, bone marrow, stimulating effect of hemodialysis.

Отримано 15.12.10

Адреса для листування: М.М. Долгая, вул. 7 Гв. Армії, 3, Харківська обл., Харківський р-н, смт Кулиничі, 62404, Україна.