

УДК 577.161.3:615.33:616.155.1

## КОРРЕКЦИЯ АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛОМ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЭРИТРОЦИТОВ СТАРЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ДАПСОНА

Лужнова С.А., Абдрешева Р.Ж.

ФГБУ «НИИ по изучению лепры» Минздрава России, Астрахань, e-mail: s.luzhnova@yandex.ru

В эксперименте на белых нелинейных старых крысах обоего пола в летний сезон изучали воздействие дапсона на показатели красной крови. Определяли количество эритроцитов, уровень гемоглобина, показатели гематокрита, средний объём эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците, коэффициент вариации эритроцитов, содержание ретикулоцитов и степень их зрелости. Полученные результаты показывают, что введение дапсона в течение 21 дня вызывает изменение показателей красной крови. О дапсон-индуцированном неблагоприятном влиянии свидетельствуют снижение гематокрита, увеличение среднего объёма эритроцитов, снижение концентрации гемоглобина в эритроците; о выраженных структурных нарушениях – повышение коэффициента вариации, показывающего наличие клеток с изменённой морфологией. Отрицательная динамика этих показателей более выражена у самцов. Введение животным в сочетании с дапсоном  $\alpha$ -токоферола ацетата в дозах 2–10 мг/кг предотвращало интенсивное разрушение эритроцитов, нормализуя картину крови. Таким образом, эндогенный антиоксидант  $\alpha$ -токоферол способен оказывать корректирующее воздействие. Диапазон эффективных доз позволяет персонализировать их выбор в зависимости от пола, степени повреждающего действия ксенобиотика, индивидуального антиоксидантного статуса.

**Ключевые слова:** стареющий организм, дапсон, альфа-токоферол ацетат, показатели красной крови, коррекция

## CORRECTION OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATUS OF RED BLOOD CELLS OF OLD RATS BY ALPHA-TOCOPHEROLIN THE INTRODUCTION OF DAPSONE

Luzhnova S.A., Abdresheva R.Z.

Leprosy Research Institute, Astrakhan, e-mail: s.luzhnova@yandex.ru

In the experiment with white nonlinear old rats of both sexes in the summer season have studied the effects of dapson in the red blood parameters. We determined the number of red blood cells, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, the average corpuscular hemoglobin, the average concentration of hemoglobin in the red blood cell, the coefficient of variation of red blood cells, the content of reticulocytes and their degree of maturity. The results show that the introduction of dapson for 21 days causes a change of red blood indices. Dapson – induced adverse effects are showed by lower hematocrit, an increase in the average volume of red blood cells, reducing the concentration of hemoglobin; the expressed structural disorders – increasing the coefficient of variation, indicating the presence of cells with altered morphology. Negative dynamics of these indicators more expressed in males. Introduction of dapson in combination with  $\alpha$ -tocopherol acetate in doses of 2–10 mg/kg prevented intensive destruction of erythrocytes, normalizing blood picture. Thus, the antioxidant  $\alpha$ -tocopherol is capable of exerting corrective effect. The effective dosage range can personalize their selection based on gender, degree of the damaging effect of the xenobiotic, the antioxidant status of the individual.

**Keywords:** growing old organism, dapson, alpha-tocopherol acetate, parameters of red blood, correction

Одна из важнейших задач современной гериатрической фармакологии – обоснование эффективных и безопасных подходов к индивидуальному рациональному медикаментозному лечению с учетом возрастных особенностей стареющего организма.

Фармакотерапия у лиц пожилого и старческого возраста отличается спецификой, обусловленной морфологическими, функциональными и метаболическими нарушениями, которые возникают в организме при старении. Все это существенно влияет как на терапевтический эффект лекарственных средств, так и на частоту возникновения побочных реакций у гериатрических больных.

В организме пожилых пациентов существенно изменяются фармакокинетика и фармакодинамика лекарственных препаратов. Возрастное ослабление активности

ферментных систем изменяет и реакции организма, приводит к накоплению метаболитов введенных веществ. По этой же причине замедляется биотрансформация лекарственных средств и повышается их концентрация в крови и тканях. В результате увеличивается продолжительность действия метаболизирующихся в печени препаратов, чаще развиваются побочные эффекты [1, 6].

Дапсон – синтетический сульфон, структурно напоминающий сульфаниламиды, является не только основным препаратом при лечении лепры, но и эффективен при терапии самых различных дерматологических нарушений. Токсичность сульфаниламидных препаратов, особенно дапсона, связана с образованием в ходе его метаболизма гидроксилламин-производных. Существует

мнение, что активным окислительным агентом в реакциях превращения гемоглобина в другие формы являются свободные радикалы. Экспериментальные и клинические исследования показывают, что гидроксиламин и его соединения способны быстро и интенсивно формировать токсическую метгемоглобинемию и выраженную гемолитическую анемию. По отдельным клиническим наблюдениям при приёме дапсона у больных лепрой средний уровень гемоглобина может снижаться до 2 г/дл в сутки, а частота возникновения гемолиза увеличивается с возрастом и повышением дневной дозы [8, 10, 11]. Дапсон продолжает сохранять значимое место в терапевтическом арсенале дерматологов. В этой связи проблема улучшения его переносимости является особенно актуальной.

Среди эндогенных антиоксидантов клиницисты придают наибольшее значение гидрофобному  $\alpha$ -токоферолу, который обеспечивает более 60% антиоксидантной активности крови и является основным фактором резистентности эритроцитов к гемолитическим ядам. Он способен ингибировать процессы перекисного окисления липидов, обладая высокой константой взаимодействия со свободными радикалами, раньше других антиоксидантов расходуется в окислительных реакциях, протекающих в липидах мембран, обладает свойством ингибции фосфолипазы А, которая является катализатором процесса пероксидации [3, 5, 7]. Следует также отметить большую распространённость дефицита этого витамина в популяции, что может усугублять повреждающее действие сульфаниламидов. Кроме того,  $\alpha$ -токоферол ацетат является одним из наиболее доступных лекарственных препаратов с антиоксидантной активностью.

**Целью нашего исследования** явилось выявление особенностей влияния дапсона на показатели системы крови старого организма и возможности применения  $\alpha$ -токоферола как корректора нежелательных побочных эффектов этого препарата для оптимизации применения дапсона (в эксперименте).

#### Материалы и методы исследования

Эксперимент проведён в летний сезон. Использовали нелинейных белых крыс, самцов и самок, в возрасте 21–24 мес. Каждая популяция была разбита на пять групп по 10–11 особей. I-я группа получала в качестве плацебо дистиллированную воду (K1), II-я группа – дапсон (фирма «Novartis») в дозе 25 мг/кг (согласно рекомендациям ВОЗ соответствует по эффектам воздействия 100 мг/кг в день для человека) (K2), III-я, IV-я, V-я – дапсон + альфа-токоферол ацетат в дозах 2, 5, 10 мг/кг соответственно (ОАО «Щелковский витаминный завод»). Плацебо, дап-

сон и альфа-токоферол ацетат вводили per os 1 раз в день в утреннее время в течение 21 дня. Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении и были синхронизированы по питанию при свободном доступе к воде. По завершению экспериментов крыс забивали декапитацией под хлороформным наркозом. Забирали кровь. В крови на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT-1800i/XT-2000i (Япония) определяли уровень гемоглобина, количество эритроцитов, гематокрит, эритроцитарные индексы, фракции ретикулоцитов. Все манипуляции с животными проводили согласно Международным правилам GLP [9]. Все полученные данные были обработаны статистически с применением программы Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США), и BIOSTAT 2008 Professional 5.1.3.1 с применением непараметрического критерия U-Вилкоксона–Манна–Уитни [2].

#### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведённого исследования свидетельствуют, что введение дапсона в указанной дозе вызывает изменения показателей красной крови. Выраженность воздействия препаратом имеет некоторые гендерные особенности.

У самцов снижение количества эритроцитов составляет 18–20%, у самок – не более 17% (табл. 1, 2). Уровень гемоглобина у животных обоего пола уменьшается на 19–20%. О дапсон-индуцированном неблагоприятном влиянии свидетельствуют снижение гематокрита, увеличение среднего объёма эритроцитов, снижение концентрации гемоглобина в эритроците; о выраженных структурных нарушениях в эритроцитах – повышение коэффициента вариации, показывающего наличие клеток с изменённой морфологией. Отрицательная динамика этих показателей более очевидна у самцов, нежели у самок.

У особей обоего пола как адекватная реакция на гемолитическое воздействие ксенобиотика выявлено в крови значительное повышение ретикулоцитов (более чем в 5–6 раз). Анализ фракций ретикулоцитов показывает, что в сравнении с контрольными крысами (K1) у самцов практически вдвое возрастает доля незрелых клеток (на 100%), у самок не более чем на 30% (табл. 1, 2). Статистически достоверное, в сравнении с контролем, многократное превышение количества ретикулоцитов с высокой флюоресценцией и соответственно с высоким содержанием нуклеиновых кислот свидетельствует об экстремальном – неэффективном эритропоэзе [4]. Введение животным в сочетании с дапсоном  $\alpha$ -токоферола ацетата оказывало дозозависимое корректирующее воздействие. У самцов при комбинированном введении препаратов, особенно при применении доз

5 и 10 мг/кг, наблюдали менее выраженное повреждающее действие дапсона (табл. 1). Количество эритроцитов у животных в этих опытных группах статистически достоверно отличалось от показателей К2, хотя и не достигало нормального уровня (К1). Содержание гемоглобина у крыс-самцов в IY и Y группах приближалось

к таковым в К1 и значительно отличалось от К2. Показатели гематокрита демонстрировали те же тенденции. Эритроцитарные индексы при применении  $\alpha$ -токоферола также стремились к нормализации, демонстрируя меньшие структурные нарушения мембран эритроцитов и их функционального состояния.

Таблица 1

Показатели красной крови старых крыс-самцов в норме и при введении препаратов

Показатели	Группы				
	I К1 плацебо	II К2 дапсон	III дапсон + $\alpha$ -то- коферол 2 мг/кг	IV дапсон + $\alpha$ -то- коферол 5 мг/кг	V дапсон + $\alpha$ -то- коферол 10 мг/кг
Эритроциты, $10^{12}/л$ (RBC)	10,1	6,94**	7,95***#	8,6*##	8,75***##
Гемоглобин, г/л (HGB)	149,7	121,8*	131,6*#	139,9##	143,4##
Гематокрит, % (HCT)	49,3	41,8*	43,2*	46,3##	45,8##
Средний объём эритроцита, фл (MCV)	49	79,4**	68,9*#	64,3*##	62,5*##
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг (MCH)	14,9	15,6	16,1	16,0	15,6
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, % (MCHC)	30,3	25,8**	26,1*	27,3##	28,9##
Коэффициент вариации, % (RDV-CV)	20,3	26,4**	18,8#	19,2##	19,7##
Ретикулоциты, % (RET)	3,2	18,5**	9,3***##	8,5***##	8,3***##
Незрелые ретикулоциты, % (IRF)	34,9	64,3**	53,4***##	49,3*##	40,8*##
Ретикулоциты с низкой флюоресценцией, % (LFR)	65,1	45,1**	55*##	60,4##	60,6##
Ретикулоциты со средней флюоресценцией, % (MFR)	20,1	27,0**	25,9**	23,2#	23,8#
Ретикулоциты с высокой флюоресценцией, % (HFR)	11,5	27,9**	19,1***##	16,4***##	15,6***##

Примечания: \* –  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  – относительно контроля 1; # –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$  – относительно контроля 2 (U – критерий Вилкоксона–Манна–Уитни).

О снижении деструктивного влияния дапсона (его метаболитов) свидетельствовали показатели ретикулоцитоза. Процентное содержание ретикулоцитов у самцов при сочетанном введении препаратов снижалось относительно К2 более, чем в два раза. При этом значительно уменьшалась доля незрелых клеток. Анализ фракций ретикулоцитов свидетельствовал в пользу нормализации эритропоэза (табл. 1).

У самок введение  $\alpha$ -токоферола при нагрузке дапсоном также демонстрирует снижение повреждающего действия последнего, более выраженное, чем у самцов (табл. 2). Особенно стабильное корригиру-

ющее воздействие оказывает  $\alpha$ -токоферол в дозе 5 мг/кг. При этом показатели красной крови (за исключением ретикулоцитов) статистически достоверно отличаются от таковых у самок, получавших только дапсон, и не имеют значимой разницы с К1. Эритропоэз у самок в силу физиологических особенностей (даже позднего возраста) имеет некоторые отличия: скорость обновления эритроцитов несколько выше, о чём свидетельствует большее процентное содержание незрелых форм. Под действием  $\alpha$ -токоферола в дозе 5 и 10 мг/кг «аварийного» выброса в периферическую кровь ретикулоцитов с большим содержанием РНК не наблюдается.

**Таблица 2**

Показатели красной крови старых крыс-самок в норме и при введении препаратов

Показатели	Группы				
	I К1 плацебо	II К2 дапсон	III дапсон + α-то- коферол 2 мг/кг	IV дапсон + α-то- коферол 5 мг/кг	V дапсон + α-то- коферол 10 мг/кг
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л (RBC)	8,4	7,0*	7,4#	7,65#	7,5#
Гемоглобин, г/л (HGB)	142,0	117,3**	126,3*##	130,1#	128,5*##
Гематокрит, % (HCT)	47,7	43,4**	44,46#	46,1#	44,0*
Средний объём эритроцита, фл (MCV)	57	61,3**	59,6*##	58,0#	58,5*##
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг (MCH)	17	16,6	17,02	17,1	17,14
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, % (MCHC)	29,75	27,01**	28,5*##	29,13##	29,34##
Коэффициент вариации, % (RDV-CV)	15	18,43*	17,5*#	15,1##	15,1##
Ретикулоциты, % (RET)	3,5	16,6**	10,5*##	7,2*##	7,8*##
Незрелые ретикулоциты, % (IRF)	41,7	54,14**	57,41**	53,9**	54,23**
Ретикулоциты с низкой флюоресценцией, % (LFR)	58,27	45,57**	43,3**	47,0*#	48,0*#
Ретикулоциты со средней флюоресценцией, % (MFR)	19,7	22,4	25,7*	28,0*##	27*##
Ретикулоциты с высокой флюоресценцией, % (HFR)	22,0	32,0**	31,0**	25##	25##

Примечания: \* – p < 0,05; \*\* p < 0,01 – относительно контроля 1; # – p < 0,05; ## – p < 0,01 – относительно контроля 2 (U – критерий Вилкоксона-Манна-Уитни).

**Выводы**

Результаты проведённых исследований показывают, что деструктивное влияние дапсона на показатели красной крови старых особей имеет гендерные особенности: более выражено у самцов. Эндогенный антиоксидант α-токоферол способен оказывать корректирующее воздействие, предотвращая интенсивное разрушение эритроцитов. Диапазон эффективных доз позволяет персонализировать их выбор в зависимости от пола, степени повреждающего действия ксенобиотика, индивидуального антиоксидантного статуса.

Полученные данные могут быть использованы для оптимизации применения дапсона.

**Список литературы**

1. Громов Л.А. Рациональная фармакотерапия // Рациональная фармакотерапия. – 2012. – № 1. – С. 13–15.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
3. Иванова А.С., Назаров С.Б. Характеристика защитного действия альфа-токоферола по показателям эритроцитарной системы при длительной нитритной интоксикации у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – № 4. – С. 38–40.
4. Исследование системы крови в клинической практике / под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова – М.: Триада-Х, 1997. – 480 с.
5. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В.К. Казимирко, В.И. Мальцев, В.Ю. Бутылин, Н.И. Горобец. – Киев: Морион, 2004. – 160 с.
6. Мунтяну Л.В. Медико-демографические проблемы здоровья пожилых // Материалы консулт. Международного Семина. – М.: МЗМП РФ, 2002. – С. 44.

7. Султанов Г.А., Азимов Э.Х., Ибишов К.Г. // Вестник хирургии. – 2004. – № 4. – С. 94–96.

8. Coleman M.D. Dapson toxicity:some current perspectives // Gen. Pharmacol. – 1995. – Vol. 26. – P. 1461–1467.

9. Directive 2004/9/EC of the European parliament and of the council of 11 February 2004 on the inspection and verification of good laboratory practice (GLP) // Official Journal of the European Union. – 20.2.2004. – P. 29–43.

10. Kelli J.W., Scott A.K., Sandland R., Van der Weyden M.B., Marks R. Vitamin E and dapson-induced hemolysis // Arch. Dermatol. – 1984. – Vol.120. – P. 1582–1584.

11. Prussick R., Ali M.A., Rosenthal D., Guyatt G. The protective effect of vitamin E on the hemolysis associated with dapson treatment in patienens weit dermatitis herpetiformis// Arch. Dermatol. – 1992. – Vol. 128. – P. 210–213.

### References

1. Gromov L.A. Racional'naja farmakoterapija // Racional'naja farmakoterapija. 2012. no. 1 pp. 13–15.

2. Glanc S. Mediko-biologicheskaja statistika [Medicobiological statistics]. Moscow, Praktika, 1999. 459 p.

3. Ivanova A.S., Nazarov S.B. Harakteristika zashhitnogo dejstvija al'fa-tokoferola po pokazateljam jeritrocitarnoj sistemy pri dlitel'noj nitritnoj intoksikacii u krys // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2004. no. 4. pp. 38–40.

4. Issledovanie sistemy krovi v klinicheskoy praktike / Pod redakciej G.I. Kozinca, V.A. Makarova M.: Triada H, 1997. 480 p.

5. Kazimirko V.K., Mal'cev V.I., Butylin V.Ju., Gorobec N.I. Svobodnoradikal'noe okislenie i antioksidantnaja terapija. K.: Morion, 2004. 160 p.

6. Muntjanu L.V. Mediko-demograficheskie problemy zdorov'ja pozhilyh// Materialy Konsul't. Mezhdunarodnogo Semin. M.:MZMP RF, 2002. pp. 44.

7. Sultanov G.A., Azimov Je.H., Ibishov K.G. // Vestnik hirurgii. 2004. no. 4 pp. 94–96.

8. Coleman M.D. Dapson toxicity:some current perspectives // Gen. Pharmacol. 1995. Vol. 26. pp. 1461–1467.

9. Directive 2004/9/EC of the European parliament and of the council of 11 February 2004 on the inspection and verification of good laboratory practice (GLP) // Official Journal of the European Union 20.2.2004. pp. 29–43.

10. Kelli J.W., Scott A.K., Sandland R., Van der Weyden M.B., Marks R. Vitamin E and dapson-induced hemolysis // Arch. Dermatol. 1984. Vol. 120. pp. 1582–1584.

11. Prussick R., Ali M.A., Rosenthal D., Guyatt G. The protective effect of vitamin E on the hemolysis associated with dapson treatment in patienens weit dermatitis herpetiformis // Arch. Dermatol. 1992. Vol. 128. pp. 210–213.

### Рецензенты:

Дегтярёв О.В., д.м.н., профессор кафедры дерматовенерологии, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Астрахань;

Самотруева М.А., д.м.н., доцент кафедры ботаники, фармакогнозии и фармацевтической технологии, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 07.08.2013.