УДК 616.155.3: 577.161.3:615.33

АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛ КАК КОРРЕКТОР ДАПСОН-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛЕЙКОГРАММЫ

[1]Лужнова С.А., [1,2]Самотруева М.А., [1,2]Ясенявская А.Л., [1]Абдрешева Р.Ж.

[1]ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава Росси, Астрахань;
[2]ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Астрахань, e-mail: s.luzhnova@yandex.ru

В эксперименте на белых нелинейных крысах обоего пола трёх возрастных групп в осенний сезон исследовано влияние дапсона на показатели лейкоцитарной формулы периферической крови. Результаты свидетельствуют, что курсовое введение дапсона (21 день) вызывает у крыс всех возрастных групп статистически достоверное снижение относительного содержания нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов. У старых (21–24 мес.) крыс снижение содержания нейтрофилов составило 30–45%, моноцитов– 50% и не носит гендерных различий; эозинофилов у самцов – 70%, у самок – до 45%. У молодых самцов (7–9 мес.) репродуктивного возраста под действием дапсона снижение этих показателей достигает 40–50%; у самок – до 70% (моноциты). В группе животных предслучного возраста (2–3 мес.) наблюдали идентичные тенденции, но по абсолютным показателям ещё более выраженные. У крыс всех возрастов, получающих дапсон, в качестве компенсаторной реакции на потерю клеток выявлено значительное повышение относительного содержания палочкоядерных лейкоцитов. В качестве корректора нежелательных эффектов вводили α-токоферола ацетат в дозах 2; 5 и 10 мг/кг. Сочетанное введение α-токоферола и дапсона препятствовало развитию дапсон-индуцированных изменений: выявлено ярко выраженное статистически достоверное снижение в крови незрелых форм лейкоцитов. Независимо от пола у крыс всех возрастных групп, получающих дапсон в комбинации с α-токоферолом, не наблюдали значительных изменений в показателях формулы крови относительно контроля. Таким образом, воздействие дапсона на лейкоциты периферической крови носит системный характер и принципиально не зависит от пола. Установлено, что α-токоферол в дозах 2–10 мг/кг, стабилизируя мембраны клеток и, вероятно, вмешиваясь в процессы пролиферации, способен оказывать корригирующее действие.

Ключевые слова: дапсон, альфа-токоферол ацетат, нейтрофилы, моноциты, эозинофилы, коррекция

ALPHA-TOCOPHEROL AS A CORRECTOR OF DAPSONE-INDUCED CHANGES OF THE INDICATORS OF LEUKOGRAM

[1]Luzhnova S.A., [1,2]Samotrueva M.A., [1,2]Yasenyavskaya A.L., [1]Abdresheva R.Z.

[1]Leprosy Research Institute, Astrakhan;
[2]Astrakhan state medical academy, Astrakhan, e-mail: s.luzhnova@yandex.ru

The effect of dapsone on indicators of the leukocyte formula of the peripheral blood was studied in the experiment in the autumn season with white nonlinear rats of the both sexes of the three age groups. The results show that the introduction of dapsone (21 days) causes statistically significant reduction in the relative content of neutrophils, eosinophils and monocytes in all age groups of rats. In old rats (21–24 month), reduction of: neutrophil count was 30–45%, monocytes – 50%, and is not gender differences; eosinophils in males – 70%, in females – up to 45%. In the young male rats (7–9 month) of the reproductive age under the influence of dapsone reducing of these indicators reaches 40–50%; in female rats – 70% (monocytes). Identical trends were observed in the group of animals of 2–3 month age, but on absolute indicators even more expressed. The rats of all ages who received dapsone, as a compensatory response to the loss of cells showed a significant increase in the relative content stabnuclear leukocytes. Alpha – tocopherol acetate was introduced in doses 2, 5, 10 mg/kg as corrector undesirable effects. Coadministration of α-tocopherol and dapsone hindered of the development of dapsone-induced changes: revealed clearly expressed statistically significant decrease of immature forms of leukocytes in the blood. Regardless of gender, the rats of all age groups treated with dapsone in combination with α-tocopherol, did not observe significant changes in the indicators of the blood relative to the control values. Thus, the effect of dapsone on the leukocytes of the peripheral blood is systemic and is not fundamentally affected by gender. Alpha-tocopherol in doses of 2–10 mg/kg stabilizes cell membranes and intervenes in the processes of proliferation and is able to provide correcting effects.

Keywords: dapsone, alpha-tocopherol acetate, neutrophils, monocytes, eosinophils, correction

В последние годы большое внимание фармакологами уделяется принятию мер по повышению безопасности фармакотерапии многих заболеваний. Принимаются эти меры как на этапе создания новых лекарственных средств, так и в процессе клинического использования препаратов в виде оптимизации их применения [1; 6].

Серьезной нежелательной лекарственной реакцией являются нарушения лейкопоэза, которые составляют около 40% всех лекарственных поражений кроветворения. Возможность развития лейкоцитопении и агранулоцитоза отмечается у 10% людей, принимающих ряд препаратов в течение продолжительного времени [1; 4; 6].

Одно из центральных мест в развитии медикаментозных нарушений лейкопоэза занимают противомикробные препараты. На протяжении шестидесятилетней истории для терапии лепры основным препаратом является производное сульфона – дапсон (4,4'-сульфонилбис[бензоламин]) [8]. Кроме того, он успешно применяется при

лечении ряда других заболеваний, таких как герпетиформный дерматит Дюринга, туберкулез, профилактика малярии, лечение и профилактика пневмоцистной пневмонии, профилактика токсоплазмоза, лечение кожного лейшманиоза, мадурская стопа (мицетома), провоцируемая актиномицетами; ревматоидный артрит, субкорнеальный дерматоз, отдельные поражения кожного покрова (на фоне системной красной волчанки), кольцевидная гранулема, гангренозная пиодермия и др. Несмотря на высокую фармакологическую активность, препарат обладает рядом негативных эффектов, обусловленных формированием в ходе метаболизма гидроксиламин-производных. Наряду с нарушениями со стороны сердечно-сосудистой системы (аритмии, кардиалгия), кожных покровов (эксфолиативный дерматит, токсическая эритема, многоформная эритема, токсический эпидермальный некролиз, узелковая эритема, коре- и скарлатиноподобная реакции), органов ЖКТ (поражение печени, анорексия, тошнота, рвота). Дапсон нередко проявляет и гематотоксическое действие, вызывая поражения системы крови (дозозависимый гемолиз с понижением уровня гемоглобина и повышением числа ретикулоцитов, гемолитическая анемия, метгемоглобинемия, гипопластическая анемия) [8]. Высокий процент возникновения перечисленных выше нежелательных дапсон-индуцированных лекарственных реакций требует активного поиска исследователями оптимальных способов их коррекции.

Целью нашей работы явилось исследование возможных корригирующих свойств известного биорегулятора – альфа-токоферола – в отношении показателей лейкоцитарной формулы у лабораторных животных, получающих дапсон.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на белых нелинейных крысах обоего пола трёх возрастных групп: предслучного (2–3 мес.) (1-я серия), молодого репродуктивного возраста (7–9 мес.) (2-я серия) и старых (21–24 мес.) (3-я серия). Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении и были синхронизированы по питанию при свободном доступе к воде. Исследование проводили в осенний сезон. Все манипуляции с животными осуществляли в соответствии с нормативной документацией «Об утверждении правил лабораторной практики» и Правил GLP [7; 9].

Особи каждой из трех серий были разделены на следующие группы: контроль 1 (дистиллированная вода), контроль 2 (дапсон), опыт 1 (дапсон + α-токоферол 2 мг/кг), опыт 2 (дапсон + α-токоферол 5 мг/кг) и опыт 3 (дапсон + α-токоферол 10 мг/кг). Дапсон («Novartis», Швейцария) вводили животным через зонд в желудок в дозе 25 мг/кг (согласно рекомендациям ВОЗ, соответствует по эффективности 100 мг/кг в день для человека) 1 раз в день в утреннее время в течение 21 дня. Альфа-токоферол (ОАО «Щелковский витаминный завод») вводили животным per os в указанных выше дозах в сочетании с дапсоном при тех же условиях.

Забор крови проводили через сутки после последнего введения препаратов. Относительное содержание лимфоцитов, палочко- и сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов подсчитывали при микроскопическом исследовании мазка, окрашенного по Романовскому–Гимзе [2; 5].

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 6.0 для Windows с применением непараметрического критерия U-Вилкоксона–Манна–Уитни [3].

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведённого исследования показали, что курсовое введение дапсона вызывает у крыс всех возрастных групп статистически достоверное снижение относительного содержания нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов (табл. 1, 2).

Под влиянием дапсона у старых крыс-самцов снижение нейтрофилов составляло до 35 %, у самок – менее 30 %. Влияние дапсона на данный вид лейкоцитов мало зависело от пола. В этой же возрастной группе динамика процентной доли эозинофилов и моноцитов в лейкограмме отличалась у разнополых животных: снижение как эозинофилов, так и моноцитов у самцов составляло более 60 %, тогда как у самок – не более чем 30 % (эозинофилы) и 50 % (моноцитов) относительно крыс, не получающих дапсон.

У животных молодого репродуктивного возраста изменения в лейкограмме оказались сравнимы с таковыми у старых особей: у самцов практически совпадали, у самок показатели были ниже на 10 % (моноциты) и на 20 % (эозинофилы).

Относительный уровень нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов в периферической крови молодых самцов предслучного возраста (2–3 мес.) снижался в пределах 45–50 %. Самки репродуктивного возраста оказались более подвержены негативному влиянию дапсона: снижение относительного содержания моноцитов достигало 100 % (в мазках крови не определялись), эозинофилов – 65 %.

Во всех возрастных группах животных, получающих дапсон, в качестве компенсаторной реакции на потерю клеток выявлено значительное повышение относительного содержания палочкоядерных лейкоцитов. Содержание лимфоцитов практически не изменялось.

Таблица 1

Влияние α-токоферола на показатели лейкограммы крыс-самцов, получающих дапсон

Группы животных	*n*	Лимфоциты, M ± m, %	Нейтрофилы		Эозинофилы, M ± m, %	Моноциты, M ± m, %
			палочкоядерные, M ± m, %	сегментоядерные, M ± m, %		
Самцы старые, %						
Контроль 1 (дист. вода)	8	67,3 ± 3,24	3,3 ± 0,4	28,2 ± 1,06	3,1 ± 0,03	1,14 ± 0,04
Контроль 2 (дапсон)	8	66,7 ± 3,7	13,1 ± 0,6*	18,3 ± 3,7*	1,17 ± 0,08*	0,43 ± 0,02*
Опыт 1 (дапсон + α-токоферол 2 мг/кг)	7	69,7 ± 4,7	3,86 ± 0,15◊	22,6 ± 1,0	2,84 ± 0,05◊	1,0 ± 0,01◊
Опыт 2 (дапсон + α-токоферол 5 мг/кг)	7	68,7 ± 4,7	3,4 ± 0,3◊	23,8 ± 1,1	2,86 ± 0,05◊	1,2 ± 0,02◊
Опыт 3 (дапсон + α-токоферол 10 мг/кг)	7	68,6 ± 5,3	2,7 ± 0,2◊	24,0 ± 2,5	2,6 ± 0,06◊	1,14 ± 0,07◊
Самцы молодого репродуктивного возраста, %						
Контроль 1 (дист. вода)	7	70,4 ± 2,6	5,4 ± 2,3	20,3 ± 3,0	2,9 ± 0,6	1,0 ± 0,5
Контроль 2 (дапсон)	9	78,5 ± 3,1	7,0 ± 2,1	12,3 ± 2,0*	1,9 ± 0,8	0,3 ± 0,1*
Опыт 1 (дапсон + α-токоферол 2 мг/кг)	8	71,4 ± 4,3	4,6 ± 1,5◊	20,4 ± 4,9◊	2,5 ± 0,4	1,1 ± 0,7◊
Опыт 2 (дапсон + α-токоферол 5 мг/кг)	8	71,1 ± 4,3	5,0 ± 1,5	20,7 ± 4,9◊	2,1 ± 0,4	1,1 ± 0,7◊
Опыт 3 (дапсон + α-токоферол 10 мг/кг)	8	72,3 ± 9,7	5,3 ± 1,8	19,2 ± 2,3◊	2,3 ± 1,3	0,9 ± 0,3◊
Самцы предслучного возраста, %						
Контроль 1 (дист. вода)	8	86,6 ± 3,0	1,6 ± 0,1	9,8 ± 0,2	1,4 ± 0,02	0,6 ± 0,02
Контроль 2 (дапсон)	9	92,2 ± 2,7	2,3 ± 0,1*	4,5 ± 0,2*	0,7 ± 0,02*	0,3 ± 0,03*
Опыт 1 (дапсон + α-токоферол 2 мг/кг)	8	89,3 ± 0,8	1,2 ± 0,2◊	8,6 ± 0,1◊	1,3 ± 0,08◊	0,6 ± 0,02◊
Опыт 2 (дапсон + α-токоферол 5 мг/кг)	8	86,2 ± 2,7	1,0 ± 0,2◊	10,7 ± 1,3◊	1,7 ± 0,1◊	0,5 ± 0,1◊
Опыт 3 (дапсон + α-токоферол 10 мг/кг)	8	87,1 ± 2,9	1,1 ± 0,1◊	10,1 ± 1,1◊	1,1 ± 0,2	0,6 ± 0,2

Примечание: * – $p < 0,05$ – относительно контроля 1; ◊ – $p < 0,05$– относительно контроля 2 (критерий U-Вилкоксона–Манна–Уитни).

Таблица 2

Влияние α-токоферола на показатели лейкограммы крыс-самок, получающих дапсон

Группы животных	*n*	Лимфоциты, M ± m, %	Нейтрофилы		Эозинофилы, M ± m, %	Моноциты, M ± m, %
			палочкоядерные, M ± m, %	сегментоядерные, M ± m, %		
Самки старые, %						
Контроль 1 (дист. вода)	8	72,3 ± 4,8	1,4 ± 0,05	22,1 ± 1,2	3,0 ± 0,1	1,2 ± 0,08
Контроль 2 (дапсон)	8	75,8 ± 3,1	5,2 ± 1,1*	16,3 ± 2,1*	2,1 ± 0,1*	0,6 ± 0,02*
Опыт 1 (дапсон + α-токоферол 2 мг/кг)	7	70,0 ± 10,8	2,0 ± 0,2◊	24,9 ± 1,1◊	2,9 ± 1,2	1,1 ± 0,3◊
Опыт 2 (дапсон + α-токоферол 5 мг/кг)	7	70,0 ± 10,8	2,0 ± 0,2◊	25,7 ± 3,7◊	3,1 ± 1,2	0,9 ± 0,3
Опыт 3 (дапсон + α-токоферол 10 мг/кг)	7	64,4 ± 9,7	2,2 ± 0,5◊	26,4 ± 4,6◊	3,0 ± 1,1	1,0 ± 0,4
Самки молодого репродуктивного возраста, %						
Контроль 1 (дист. вода)	7	79,5 ± 2,6	2,8 ± 1,0	16,1 ± 1,2	1,67 ± 0,1	1,0 ± 0,03
Контроль 2 (дапсон)	9	80,3 ± 3,2	6,3 ± 1,0*	11,2 ± 1,1*	0,8 ± 0,07*	0,4 ± 0,05*
Опыт 1 (дапсон + α-токоферол 2 мг/кг)	8	80,2 ± 2,5	2,7 ± 0,2◊	14,8 ± 0,9◊	1,4 ± 0,6◊	1,0 ± 0,2◊
Опыт 2 (дапсон + α-токоферол 5 мг/кг)	8	80,2 ± 2,5	2,7 ± 0,1◊	14,8 ± 1,2	1,3 ± 0,3◊	1,6 ± 0,2◊
Опыт 3 (дапсон + α-токоферол 10 мг/кг)	8	82,7 ± 2,9	3,1 ± 1,2◊	15,5 ± 1,6	2,0 ± 0,2◊	1,5 ± 0,7◊
Самки предслучного возраста, %						
Контроль 1 (дист. вода)	8	87,7 ± 1,9	1,2 ± 0,1	9,0 ± 1,0	1,8 ± 0,05	0,3 ± 0,01
Контроль 2 (дапсон)	9	88,8 ± 1,5	5,4 ± 0,04*	5,3 ± 0,2	0,5 ± 0,02*	0*
Опыт 1 (дапсон + α-токоферол 2 мг/кг)	8	86,5 ± 2,7	1,2 ± 0,2◊	10,8 ± 1,1◊	1,2 ± 0,06◊	0,3 ± 0,02◊
Опыт 2 (дапсон + α-токоферол 5 мг/кг)	8	89,3 ± 1,4	0,9 ± 0,1◊	8,3 ± 1,2◊	1,2 ± 0,2◊	0,3 ± 0,02◊
Опыт 3 (дапсон + α-токоферол 10 мг/кг)	8	91,1 ± 2,0	1,3 ± 0,07◊	8,8 ± 1,7◊	1,5 ± 0,1◊	0,3 ± 0,01◊

Примечание: * – $p < 0,05$ – относительно контроля 1; ◊ – $p < 0,05$– относительно контроля 2 (критерий U-Вилкоксона–Манна–Уитни).

Сочетанное введение α-токоферола с дапсоном препятствовало развитию дапсон-индуцированных негативных процессов. У особей всех возрастных групп наблюдали выраженное статистически достоверное снижение в крови незрелых форм лейкоцитов относительно крыс, получающих дапсон. Независимо от пола при комбинированной терапии не наблюдали значительных изменений в показателях формулы крови относительно контрольных крыс.

Выводы

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что влияние дапсона на лейкоциты периферической крови принципиально не зависит от пола и возраста животных и отличается только интенсивность воздействия. Биорегулятор α-токоферол в дозах 2–10 мг/кг, стабилизируя мембраны клеток и, вероятно, вмешиваясь в процессы пролиферации, способен оказывать корригирующее воздействие, приводя показатели к величинам сопоставимым с контрольными. Осуществление коррекции небольшими дозами α–токоферола позволяет длительное его использование без возможных негативных эффектов. Диапазон доз от 2 до 10 мг/кг предполагает возможность применения индивидуального подхода в зависимости от пола, возраста, а также исходного антиоксидантного статуса организма.

На основании полученных данных может быть разработан способ коррекции дапсон-индуцированной лейкопении для клинического использования в дерматологии, в том числе в лепрологии, при лечении ряда инфекционных болезней (малярии, пневмоцистной пневмонии и др.).

Список литературы

1. Астахова А.В., Лепахин В.К. Неблагоприятные побочные реакции и контроль безопасности лекарственных средств. – М.: КогитоЦентр, 2004. – 200 с.

2. Власова Н.В. Методы клинических лабораторных исследований: учебное пособие. – Красноярск: Красноярский медико-фармацевтический колледж, 2008. – 222 с.

3. Гланц С. Медико-биологическая статистика – М.: Практика, 1999. – 459 с.

4. Зборовский А.Б., Тюренков И.Н., Белоусов Ю.Б. Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств. – М.: Медицинское информационное агентство, 2008. – 656 с.

5. Любин Н.А., Конова Л.Б. Методические рекомендации к определению и выведению гемограммы у животных. – Ульяновск: Изд-во Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, 2005. – 113 с.

6. Об утверждении Правил лабораторной практики: приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708-н.

7. Профилактика неблагоприятных побочных реакций / под общ. ред. проф. Н.В. Юргеля, акад. РАМН В.Г. Кукеса. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 450 с.

8. Ghu G.I., Stiller M.G. Dapsone and sulfones in dermatology overview and update // Journal of the American Academy of dermatology. – 2001. – Vol. 45. – № 3. – P. 420–434.

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.

References

1. Astahova A.V., Lepahin V.K. *Neblagoprijatnye pobochnye reakcii i kontrol' bezopasnosti lekarstvennyh sredstv* [Adverse collateral reactions and control of safety of medicines]. Moscow, KogitoCentr, 2004. 200 p.

2. Vlasova N.V. *Methods of clinical laboratory researches* [Metody klinicheskih laboratornyh issledovanij]. Krasnoyarsk, Krasnojarskij mediko-farmacevticheskij kolledzh [Krasnoyarsk medico-pharmaceutical college], 2008. 222 p.

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

4. Zborovskij A.B., Tjurenkov I.N., Belousov Ju.B. *Neblagoprijatnye pobochnye jeffekty lekarstvennyh sredstv* [Adverse side effects of medicines]. Moscow, Medicinskoe informacionnoe agentstvo [Medical news agency], 2008. 656 p.

5. Ljubin N.A., Konova L.B. *Metodicheskie rekomendacii k opredeleniju i vyvedeniju gemogrammy u zhivotnyh* [Methodical recommendations to definition and removal гемограммы at animals]. Ulyanovsk, Izdatel'stvo Ul'janovskoj gosudarstvennoj sel'skohozjajstvennoj akademii [Publishing house of the Ulyanovsk state agricultural academy], 2005. 113 p.

6. *Profilaktika neblagoprijatnyh pobochnyh reakcij*. Pod obshhej redakciej proff. N.V. Jurgel', akad. RAMN V.G. Kukes [Prevention of adverse collateral reactions. Under the general edition of the professor and the academician]. Moscow, GJeOTAR-Media, 2009. 450 p.

7. Prikaz Ministerstva zdravoohranenija i social'nogo razvitija Rossijskoj Federacii № 708-н 23.08.2010 «Ob utverzhdenii Pravil laboratornoj praktiki» [Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation no. 708-н 23.08.2010 «About the approval of Rules of laboratory practice»].

8. Ghu G.I., Stiller M.G. *Dapsone and sulfones in dermatology overview and update*. Journal of the American Academy of dermatology. 2001. Vol. 45. no. 3. pp. 420–434.

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.

Рецензенты:

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

Нестеров Ю.В., д.б.н., профессор кафедры физиологии и морфологии человека и животных, ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет», г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 19.07.2013.