

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЖИВОТНОВОДСТВО

УДК 619:615.31:616.419:616.441-008.64

Д.В. Гармаева, Л.С. Васильева

ВЛИЯНИЕ ДАЛАРГИНА НА АГРАНУЛОЦИТАРНОЕ ЗВЕНО СИСТЕМЫ КРОВИ У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ

В результате исследований авторами выявлена возможность коррекции даларгином нарушений в системе крови и агранулоцитопоза в условиях гипотиреоза.

Ключевые слова: гипотиреоз, даларгин, агранулоцитопоз, моноциты, лимфоциты, селезенка.

D.V. Garmaeva, L.S. Vasilieva

DALARGIN INFLUENCE ON THE BLOOD SYSTEM AGRANULOCYTE PART OF ANIMALS WITH EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM

The possibility of correcting blood system disorder and agranulocytopenia by Dalargin in hypothyroidism conditions is revealed by the authors as a research result.

Key words: hypothyroidism, Dalargin, agranulocytopenia, monocytes, lymphocytes, spleen.

Актуальность исследования. Иркутская область относится к биогеохимической провинции, которая характеризуется недостаточным содержанием йода в биосфере, приводящим к нарушению обмена веществ и возникновению гипотиреоза. В настоящее время проблема коррекции данной патологии привлекает внимание исследователей с позиции устранения или ограничения побочных явлений и осложнений. В этом аспекте вызывают повышенный интерес регуляторные пептиды, в частности синтетический аналог лей-энкефалина – даларгин, способный воздействовать на метаболические процессы в организме. Даларгин обладает широким спектром биологического действия, оказывает иммуномодулирующее воздействие, обладает антистрессорной активностью, восстанавливает нарушенные морфофункциональные свойства крови [4].

Цель исследования. Выявление возможности коррекции даларгином нарушений в системе крови и агранулоцитопоза в условиях гипотиреоза.

Материалы и методы. Исследования проводили на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г в осенне-зимний период. Содержание, питание, уход соответствовали ГОСТ Р 5025892. Экспериментальные исследования проводились согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96). Экспериментальный гипотиреоз моделировали введением перорально (с кормом) мерказолила в дозе 10 мг/кг ежедневно в течение 8 недель [3, 5, 6]. В эксперименте использовано 46 крыс. Десять из них оставались интактными и составили контрольную группу, остальные животные были разделены на 2 подопытные группы. Первая подопытная группа (Г) включала 18 животных с гипотиреозом, второй подопытной группе с 9-й недели в течение 10 дней вводили внутримышечно даларгин в дозе 0,1 мг/кг (18 животных, группа ГД). Доза и режим введения препарата выбирались на основании данных литературы о максимально выраженном иммуномодулирующем и стресс-лимитирующем действии даларгина [4]. Выведение животных из эксперимента проводили с помощью эфирной эвтаназии, затем извлекали бедренную кость для изучения красного костного мозга (ККМ). Материал для исследования брали на 2-, 7- и 28-е сутки после отмены мерказолила. Кровь для исследования брали из хвостовой вены. В периферической крови определяли количество лейкоцитов в 1 л. Мазки крови и ККМ окрашивали по Паппенгейму [2], в них подсчитывали лейкоцитарную формулу (с последующим пересчетом процентного количества

лейкоцитов в абсолютное), в мазках костного мозга – миелограмму (на 1000 клеток). Оценка моноцитопоза проводилась по суммарному количеству клеток моноцитарного ряда. Для характеристики лимфопоза дифференцировали и подсчитывали количество малых, средних и больших лимфоцитов. Активность лимфопоза оценивали по количеству средних и больших лимфоцитов (малые лимфоциты в костном мозге не производятся) [1].

Полученные данные обрабатывали статистически с выявлением типа распределения вариационных рядов, определением среднего арифметического и квадратичного отклонения, ошибки среднего (Statistica, v.6). Достоверность различий средних величин определяли по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты исследования. У животных с гипотиреозом на 2-е сутки после отмены мерказолила в периферической крови моноциты не выявлялись, но с 7-х суток наблюдения они появлялись в количестве, которое сильно варьировало и у большинства животных выходило за пределы диапазона нормы. В условиях введения даларгина моноциты присутствовали в периферической крови во все сроки наблюдения, и их количество не выходило за пределы нормы (рис.1, А). Таким образом, введение даларгина быстро нормализовало количество моноцитов в крови у животных с гипотиреозом.

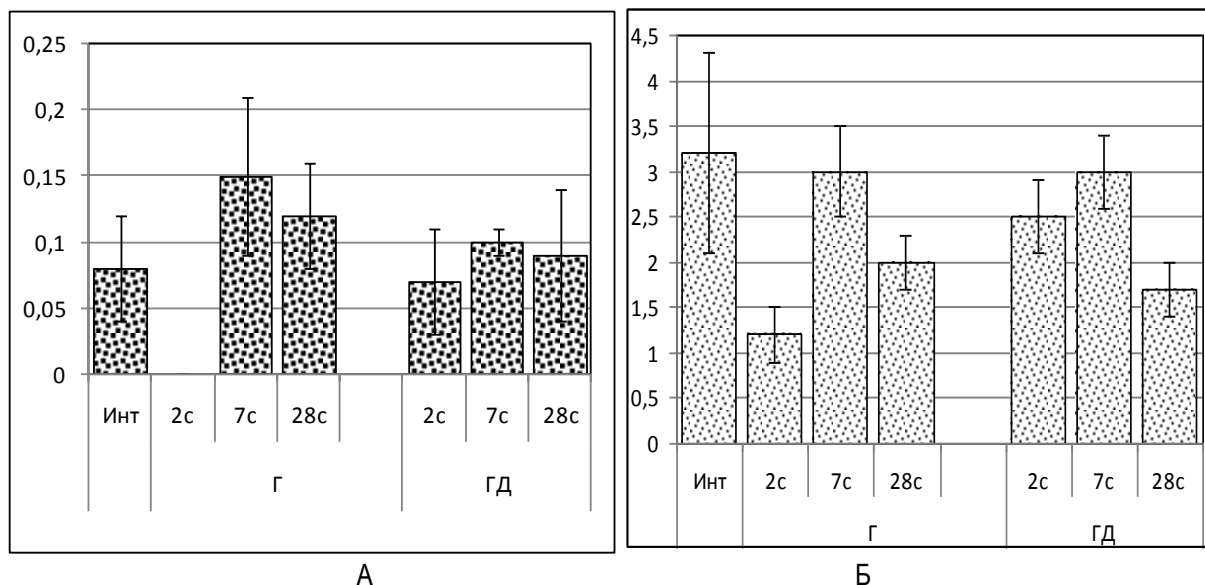


Рис. 1. Абсолютное количество моноцитов периферической крови (А) и клеток моноцитопоза (Б, из 1000 клеток) у животных с экспериментальным гипотиреозом, не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД)

В ККМ количество клеток моноцитарного ряда у животных с гипотиреозом на 2-е сутки наблюдения было в 2,7 раза меньше нормы ($p < 0,05$, рис.1,Б), на 7-е сутки нормализовалось, но к 28-м суткам вновь уменьшилось в 1,6 раза. Под влиянием даларгина на 2-е и 7-е сутки наблюдения количество клеток моноцитарного ряда удерживалось в диапазоне нормы и уменьшалось только к 28-м суткам, когда действие даларгина прекращалось ($p < 0,05$, рис.1,Б). Таким образом, даларгин у животных с гипотиреозом препятствовал торможению моноцитопоза и развитию моноцитопении, поддерживая нормальное количество клеток моноцитарного ряда и в ККМ, и в периферической крови. Необходимо подчеркнуть, что этот эффект даларгина проявлялся лишь в период его инъекций.

Фагоцитарная активность моноцитов/макрофагов у животных с гипотиреозом существенно снижалась на протяжении всего наблюдения, судя по увеличению содержания гемосидерина в белой пульпе (БП) селезенки в 5–6 раз. В условиях введения даларгина масса гемосидерина в БП селезенки уменьшилась в 2 раза ($p < 0,05$, рис. 2), что может быть связано с увеличением фагоцитарной активности моноцитов/макрофагов. Из представленных данных следует, что введение даларгина животным с гипотиреозом способствует сохранению численности клеток моноцитарного ряда и их функциональных способностей.

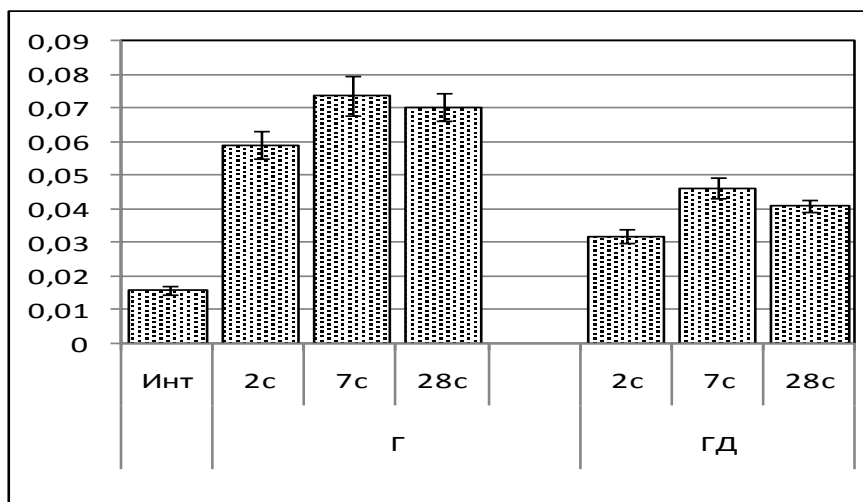


Рис. 2. Изменение массы гемосидерина в белой пульпе селезенки у животных с экспериментальным гипотиреозом, не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД), г

Суммарное количество лимфоцитов в периферической крови у животных с гипотиреозом на 2-е сутки наблюдения было увеличено в 1,3 раза ($p < 0,05$, рис. 3), но затем быстро снижалось и было меньше нормы к 7-м суткам в 1,2 раза, к 28-м суткам – в 1,6 раза ($p < 0,05$). В условиях введения даларгина на 2-е сутки наблюдения лимфоцитоз не регистрировался, а, наоборот, лимфоцитов в крови было в 1,6 раза меньше нормы ($p < 0,05$), на 7-е сутки их было в 1,3 раза меньше, на 28-е сутки – в 1,2 раза ($p < 0,05$), следовательно, даларгин у животных с гипотиреозом препятствовал развитию кратковременного лимфоцитоза, но не устранял лимфопению. В субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови у животных с гипотиреозом соотношение малых, средних и больших лимфоцитов на 2-е сутки (в период лимфоцитоза) не отличалось от нормы, а в последующие сроки наблюдения (в период лимфопении) прогрессивно изменялось в сторону уменьшения численности малых лимфоцитов и увеличения численности средних лимфоцитов (рис.3). В условиях введения даларгина такое изменение соотношения субпопуляций лимфоцитов в крови регистрировалось только в один срок наблюдения – на 7-е сутки, несмотря на устойчивую лимфопению.

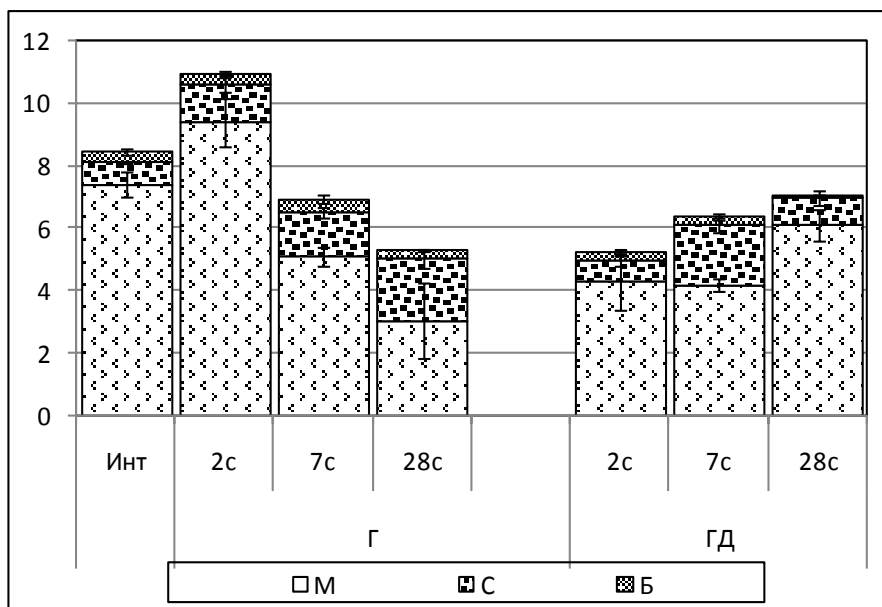


Рис. 3. Абсолютное количество лимфоцитов периферической крови у животных с экспериментальным гипотиреозом, не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД) (*10⁹/л): М – малые лимфоциты, С – средние лимфоциты, Б – большие лимфоциты

В результате этих изменений у животных с гипотиреозом кровь содержала малых лимфоцитов на 2-е сутки в 1,3 раза больше нормы ($p < 0,05$), а на 7-е и 28-е сутки – в 1,5 и 2,4 раза меньше нормы ($p < 0,05$). В условиях введения даларгина малых лимфоцитов в крови содержалось на 2-е и 7-е сутки в 1,7 раза меньше нормы ($p < 0,05$), на 28-е сутки – нормальное количество.

В ККМ у животных с гипотиреозом количество малых лимфоцитов на 2-е сутки было в 1,6 раза меньше нормы, но на 7-е и 28-е сутки резко возрастало и было соответственно в 3,4 и 3,8 раза больше нормы ($p < 0,05$, рис. 4,А). В условиях введения даларгина количество малых лимфоцитов в ККМ уже на 2-е сутки превышало норму в 1,8 раза ($p < 0,05$), на 7-е сутки – в 2,3 раза ($p < 0,05$), на 28-е сутки – 2,5 раза ($p < 0,05$). Из этого следует, что у животных с гипотиреозом лимфатизация ККМ под действием даларгина происходит раньше, но менее значительна. Эти факты, вероятно, следует оценивать как позитивный эффект даларгина, учитывая, что субпопуляция малых лимфоцитов состоит из лимфоцитов, осуществляющих иммунный надзор (Т-хелперов, образующихся в тимусе, и лимфоцитов памяти, образующихся в периферических органах лимфопоэза) [11].

Количество средних лимфоцитов в крови у животных с гипотиреозом постепенно нарастало и было больше нормы через 2 суток в 1,7 раза, на 7-е сутки – в 2 раза, на 28-е сутки – в 2,8 раза ($p < 0,05$, рис.3). В условиях введения даларгина их количество в крови на 2-е и 28-е сутки не выходило за пределы нормы и увеличилось только на 7 сутки (в 2,7 раза, $p < 0,05$). В ККМ количество средних лимфоцитов при гипотиреозе на 2-е сутки было меньше нормы в 3 раза ($p < 0,05$, рис. 4,Б), но на 7-е и 28-е сутки резко возрастало и превышало норму в 2,9 и 2,8 раза ($p < 0,05$). В условиях введения даларгина количество средних лимфоцитов в ККМ уже на 2-е сутки было больше нормы в 2,3 раза, на 7-е сутки – в 1,9 раза, на 28-е сутки – в 1,5 раза. Из этого следует, что у животных с гипотиреозом костномозговой лимфопоэз активировался лишь к 7-м суткам, а в условиях введения даларгина он был активирован во все сроки наблюдения.

Количество больших лимфоцитов в крови у обеих групп животных не обнаружило значимых отличий от нормы, но в ККМ их численность была стабильно больше нормы в 2–3,3 раза ($p < 0,05$, рис. 4,Б): у животных с гипотиреозом – начиная с 7-х суток, в условиях введения даларгина – во все сроки наблюдения, что подтверждает способность даларгина стимулировать центральный лимфопоэз.

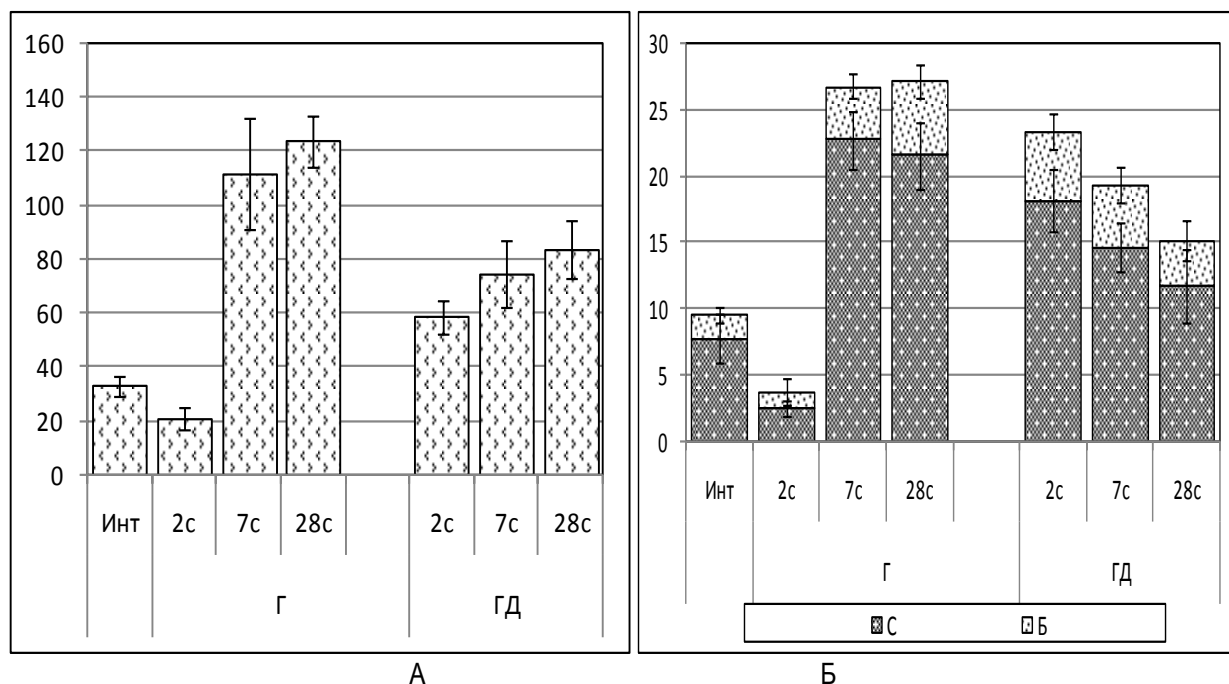


Рис. 4. Количество (из 1000 клеток) малых (А), средних и больших лимфоцитов (Б) в костном мозге у животных с экспериментальным гипотиреозом, не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД)

В отличие от центрального лимфопоэза, периферический лимфопоэз в БП селезенки даларгином, по-видимому, не стимулировался. У животных с гипотиреозом, получавших и не получавших даларгин, масса БП селезенки и размеры селезеночных телец были одинаковы, а реактивные центры под действием далар-

гина даже уменьшились на 2-е сутки в 1,5 раза ($p < 0,05$, рис. 5,Б). Следовательно, даларгин не препятствовал инволютивным процессам в селезенке, что позволяет предположить торможение периферического лимфопоэза.

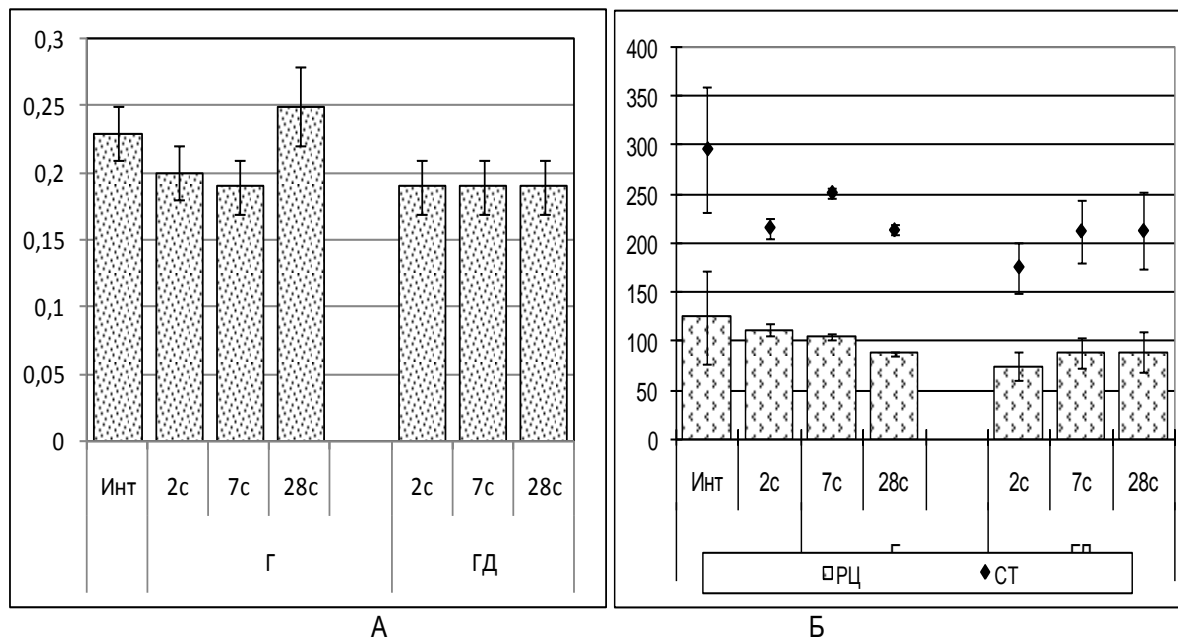


Рис. 5. Изменение массы белой пульпы селезенки (А), г; динамика изменения размера селезеночных телец и их реактивных центров (Б) у животных с экспериментальным гипотиреозом, не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД)

Заключение. У животных с гипотиреозом после отмены мерказолила кратковременно (на 2-е сутки) подавляется моноцитарное звено системы крови и устойчиво снижается фагоцитарная активность моноцитов/макрофагов, регистрируется лимфоцитоз с последующей прогрессирующей лимфопенией, задерживается лимфатизация ККМ и активация центрального лимфопоэза, тормозится периферический лимфопоэз. Под влиянием даларгина у животных с гипотиреозом возрастает фагоцитарная функция моноцитов/макрофагов, не подавляется моноцитопоз, не регистрируется моноцитопения и лимфоцитоз, а лимфопения имеет положительную динамику, на этом фоне быстрее развивается (но менее выражена) лимфатизация ККМ, раньше стимулируется центральный лимфопоэз в ККМ, но даларгин не устраняет торможение периферического лимфопоэза и инволютивные изменения в селезенке.

Литература

1. Васильева Л.С., Макарова О.А. Предупреждение глицином стресс-индуцированных нарушений эритропоэза и развития анемии // Сиб. мед. журн. – 2001. – № 5. – С. 20–23.
2. Кост Е.А. Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования. – М.: Медицина, 1975. – 382 с.
3. Козлов В.Н. Тиреоидная трансформация при моделировании эндемического эффекта у белых крыс в эксперименте // Сиб. мед. журн. – 2006. – № 5. – С. 27–30.
4. Николаев А.В., Слепушкин В.Д. Отечественный препарат даларгин и его использование в онкологии // Будьте здоровы: справ.-информ. изд. – Новосибирск, 2001. – 312 с.
5. Орлов С.Б., Титова М.А., Мухина И.А. Резекция тонкой кишки как экспериментальная модель гипотиреоза // Морфология. – 2002. – № 2. – С. 117.
6. Korpachov V.V., Lytvinenko O.O., Paster I.P. How Genista tinctoria influences functions of thyroid gland of intact rats in cases of experimental hypothyroidism // Farmatsevtichnyi Zhurnal. – 1995. – № 5. – P. 82–86.