

ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ 1-ЦИАНОБЕНЗИМИДАЗОЛА НА КАРТИНУ БЕЛОЙ КРОВИ

В.Е. Кузьмина, Л.И. Сергеева,¹ П.П. Пурыгин, Н.А. Белякова²

В опытах на крысах для определения характера биологической активности 1-цианобензимидазола изучены вызываемые данным веществом лейкоцитарные реакции. Анализ этих реакций проводили в условиях одно- и многократного воздействия цианата. Отмеченные изменения в количестве и морфологии абсолютно всех групп лейкоцитов позволяет охарактеризовать 1-цианобензимидазол как соединение с высокой физиологической активностью. Наиболее выраженной особенностью эффектов исследуемого вещества явилась активация механизмов, определяющих уровень резистентности организма.

Введение

Интерес к производным бензимидазола как соединениям с высокой биологической и потенциальной фармакологической активностью сохраняется с конца прошлого века [15]. Поскольку эффекты этих веществ, и в частности, лекарственных препаратов, синтезированных на основе бензимидазола, проявляются практически на уровне всех систем организма [9], поиск новых более эффективных соединений данного класса активно продолжается.

При исследовании свойств вновь полученных веществ особый интерес представляет анализ вызываемых ими сдвигов в картине белой крови. Это объясняется высокой функциональной значимостью последней – с форменными элементами белой крови связана реализация многообразных защитных механизмов [1, 6, 10]. Более того, лейкоцитарные реакции оцениваются как наиболее ранние показатели воздействия именно химических факторов и весьма информативны [1, 5, 6, 14], поскольку могут быть обусловлены функциональным состоянием циркулирующей крови, органов кроветворения и аппарата регуляции.

В связи с вышеизложенным задача настоящей работы состояла в изучении характера лейкоцитарных реакций, развивающихся под влиянием 1-цианобензимидазола, синтезированного на кафедре органической химии Самарского государственного университета.

¹ Кузьмина Вера Ефимовна, Сергеева Людмила Иосифовна, кафедра физиологии человека и животных, Самарский государственный университет

² Пурыгин Петр Петрович, Белякова Наталья Александровна, кафедра органической химии, Самарский государственный университет

1. Методика исследований

Для решения поставленной задачи были проведены две серии экспериментов на 24 белых крысах-самцах массой 250-300 г. В обеих сериях наблюдений одна группа животных являлась контрольной, другая – опытной.

В первой серии экспериментов крысам опытной группы однократно внутривенно вводили 1 мл раствора 1-цианобензимидазола в дозе 50 мг/кг [4]. Контрольным животным инъецировали физиологический раствор для теплокровных в том же объеме. Во второй серии экспериментов крысам опытной группы вводили ту же дозу цианата, но дробно (пятикратно) с интервалом в 48 ч и из расчета 10 мг/кг.

О характере влияния 1-цианобензимидазола на картину белой крови судили по динамике общего числа лейкоцитов, всех лейкоцитарных форм, а также морфологическим изменениям в них. Общее число лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, предварительно окрашивая клетки жидкостью Тюрка; идентификацию лейкоцитарных форм проводили в мазках крови, окрашенных по Романовскому [14].

В первой серии экспериментов как у опытных, так и контрольных животных взятие крови на анализ осуществляли до, а затем через 2,5 и 24 ч, на 3, 7, 14 и 21 сутки после введения соответственно первым исследуемого вещества, вторым – физиологического раствора. Во второй серии наблюдений анализ крови проводили также до, а затем через 2,5 и 24 ч после каждой из пяти инъекций 1-цианобензимидазола опытным крысам, либо физиологического раствора контрольным.

Результаты исследования обрабатывали статистически с определением *t*-критерия Стьюдента.

2. Результаты исследования и их обсуждение

В ходе первого этапа исследования установлено, что однократное применение 1-цианобензимидазола в дозе 50 мг/кг привело к значительным изменениям в картине белой крови (рис.1). Так, динамика общего числа лейкоцитов в периферической крови опытных животных носила лейкопенический характер с максимумом отклонений, равным 25,5% ($p < 0,05$) и проявившимся на 3-и сутки опыта. Происхождение лейкопений при действии на организм химических агентов ряд авторов [1, 14] объясняет с позиций иммуногематологии появлением в плазме активных по отношению к лейкоцитам антител – лейкоагглютининов, вызывающих гибель клеток. Причем действие этих веществ может проявляться как на уровне периферической крови, так и в костном мозге. Из различных форм лейкопений наиболее часто встречается нейтропения [10]. В наших опытах это сегментоядерная, которая носила закономерный характер. Снижение содержания в периферическом русле полиморфноядерных нейтрофилов в определенной степени могло зависеть от снижения скорости созревания палочкоядерных элементов в сегментоядерные, что согласуется с зарегистрированным нами увеличением молодых форм.

Лейкопенический характер изменения количества сегментоядерных нейтрофилов может свидетельствовать и о снижении их фагоцитарной активности [10]. И здесь следует указать на то, что в реакциях фагоцитоза нейтрофилы, как правило, участвуют в совокупности с макрофагами, образуя единую взаимодействующую систему [11]. В наших опытах динамика количества моноцитов под влиянием однократного введения 1-цианобензимидазола характеризовалась большей тенденцией к уменьшению их числа в периферическом русле. Такой характер динамики данной группы агранулоцитов также может рассматриваться как показатель снижения их фагоци-

тарной активности. Увеличение же их содержания в периферическом русле через 2,5 и 24 ч после введения исследуемого вещества, вероятно, связано с другими причинами.

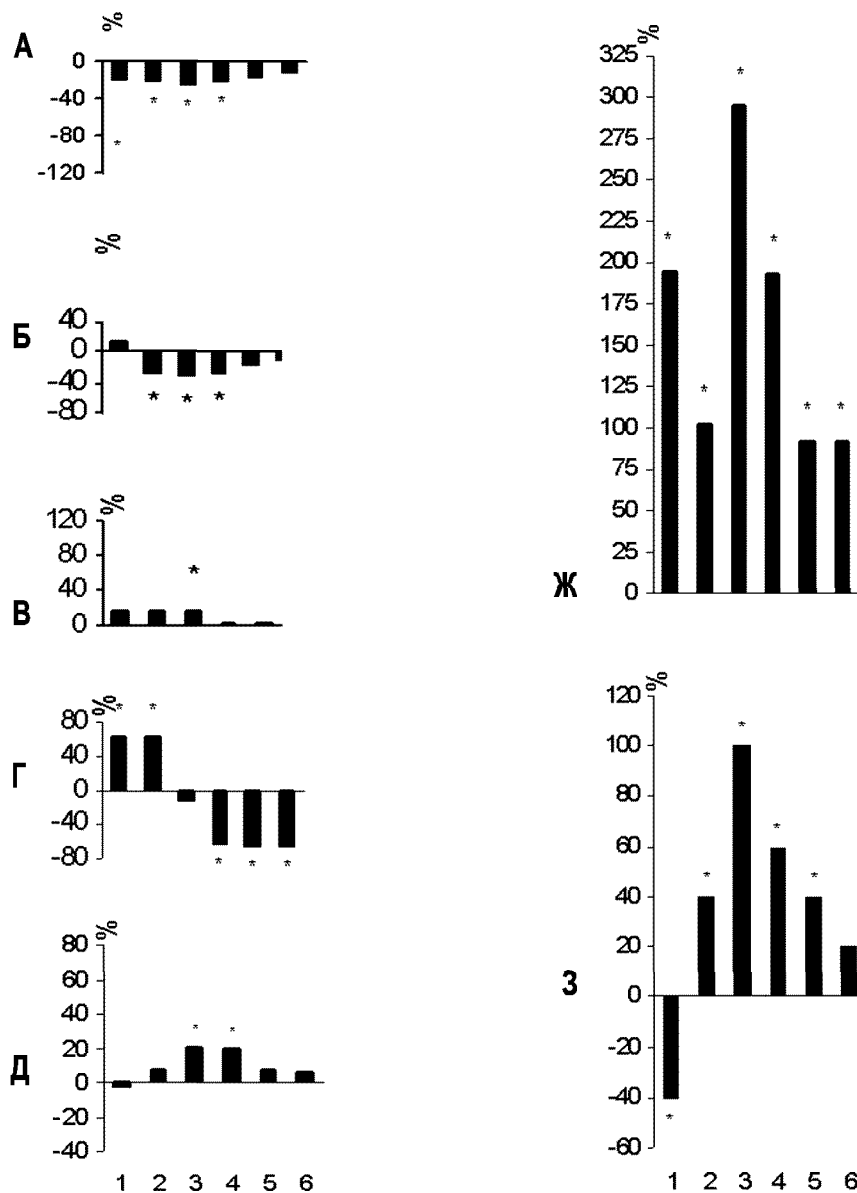


Рис. 1. Изменение (в % от контроля) общего числа лейкоцитов (А), сегменто- (Б) и палочкоядерных (В) нейтрофилов, моноцитов (Г), лимфоцитов (Д), базофилов (Ж) и эозинофилов (3) в периферической крови крыс под влиянием однократного введения 1-цианобензимидазола в дозе 50 мг/кг. По оси абсцисс – сроки наблюдений: 1 – через 2,5 ч; 2 – 24 ч; 3 – 3-е суток; 4 – 7 суток; 5 – 14 суток, 6 – 21 сутки после введения 1-цианобензимидазола; * – $p < 0,05$

В этой связи заслуживает внимания тот факт, что введение 1-цианобензимидазола сопровождалось повышением свертываемости крови, которое мы наблюдали при

взятии ее на анализ. Было отмечено резкое снижение времени свертывания крови у опытных крыс по сравнению с контрольными на 80,0%. В литературе имеются данные о том, что моноциты формируют прокоагулянтную активность крови посредством активации отдельных факторов свертывающей системы [3]. При этом авторами обращалось внимание на то, что, участвуя в реакциях гемостаза, моноциты участвуют в реакциях гиперчувствительности, поскольку отложение фибрина при повышении свертываемости крови регулярно сопровождалось развитием данной реакции, а при введении антикоагулянтов последняя тормозилась [8]. Следовательно, в наших опытах отклонения числа моноцитов в периферическом русле могли быть обусловлены как изменением их фагоцитарной активности, так и участием в реакции гиперчувствительности, которая является отражением активации механизмов специфической адаптации.

О том, что в организме опытных животных под влиянием однократного введения 1-цианобензимидазола в дозе 50 мг/кг развивалась реакция гиперчувствительности, свидетельствует динамика в периферической крови и таких форменных элементов белой крови, как базофилы и эозинофилы, число которых не только возросло, но возросло в значительной степени. Так, уже через 2,5 ч после введения опытным крысам раствора цианата количество базофилов увеличилось на 194,1% ($p < 0,05$) в сравнении с контролем, а на 3-и сутки наблюдений было зарегистрировано максимальное отклонение их содержания в периферической крови, равное 294,1% ($p < 0,05$). Одновременно имела место 100,0-процентная ($p < 0,05$) эозинофилия.

Как указывалось ранее, моноциты формируют прокоагулянтную активность. При этом они нуждаются в кооперации с лимфоцитами [3]. Наблюдаемое нами повышение числа лимфоцитов в периферической крови крыс под влиянием 1-цианобензимидазола можно объяснить созданием оптимальных условий для этой кооперации, а исследуемое вещество применительно к используемой нами дозе (50 мг/кг) охарактеризовать как коагулянт.

Сопоставление лейкоцитарных реакций, развивающихся под влиянием однократного введения 1-цианобензимидазола в дозе 50 мг/кг (рис. 1), с таковыми при пятикратном инъектировании вещества по 10 мг/кг, но в аналогичной суммарной дозе (рис. 2) показало, что последним в целом ряде случаев была свойственна не только большая выраженность, но и противоположная направленность.

Анализ динамики форменных элементов белой крови в условиях многократного применения цианата выявил значительную активацию не только специфических, но и неспецифических механизмов адаптации. Так, максимальное увеличение общего числа лейкоцитов в сравнении с контролем на 69,3% ($p < 0,05$), сегментоядерных нейтрофилов на 109,6% ($p < 0,05$) с одновременным уменьшением числа лимфоцитов на 55,5% ($p < 0,05$) и первоначальным снижением количества эозинофилов на 60,0% ($p < 0,05$) является неоспоримым свидетельством развития реакции неспецифической адаптации [7, 12, 13]. Имевшее при этом место существенное возрастание в периферической крови зрелых гранулоцитов коррелировало с уменьшением в ней числа молодых нейтрофильных форм, что позволяет говорить не о снижении скорости их созревания (результаты экспериментов с одноразовым применением цианата), а, наоборот, об ее увеличении. Активация механизмов именно неспецифической адаптации подтверждается и закономерно развивающимся моноцитозом [12].

О мобилизации специфических механизмов адаптации под влиянием 1-цианобензимидазола как и в первой серии опытов свидетельствовала динамика базофилов и эозинофилов в периферической крови опытных крыс. Было установлено, что если в условиях однократного применения цианата в дозе 50 мг/кг во все периоды наблюде-

ний прослеживалась четкая базофилия, то при многократном введении вещества (в аналогичной суммарной дозе) тождественный эффект был зарегистрирован только в первые 2,5 суток воздействия 1-цианобензимидазола. В дальнейшем имело место значительное снижение содержания базофилов в периферическом русле.

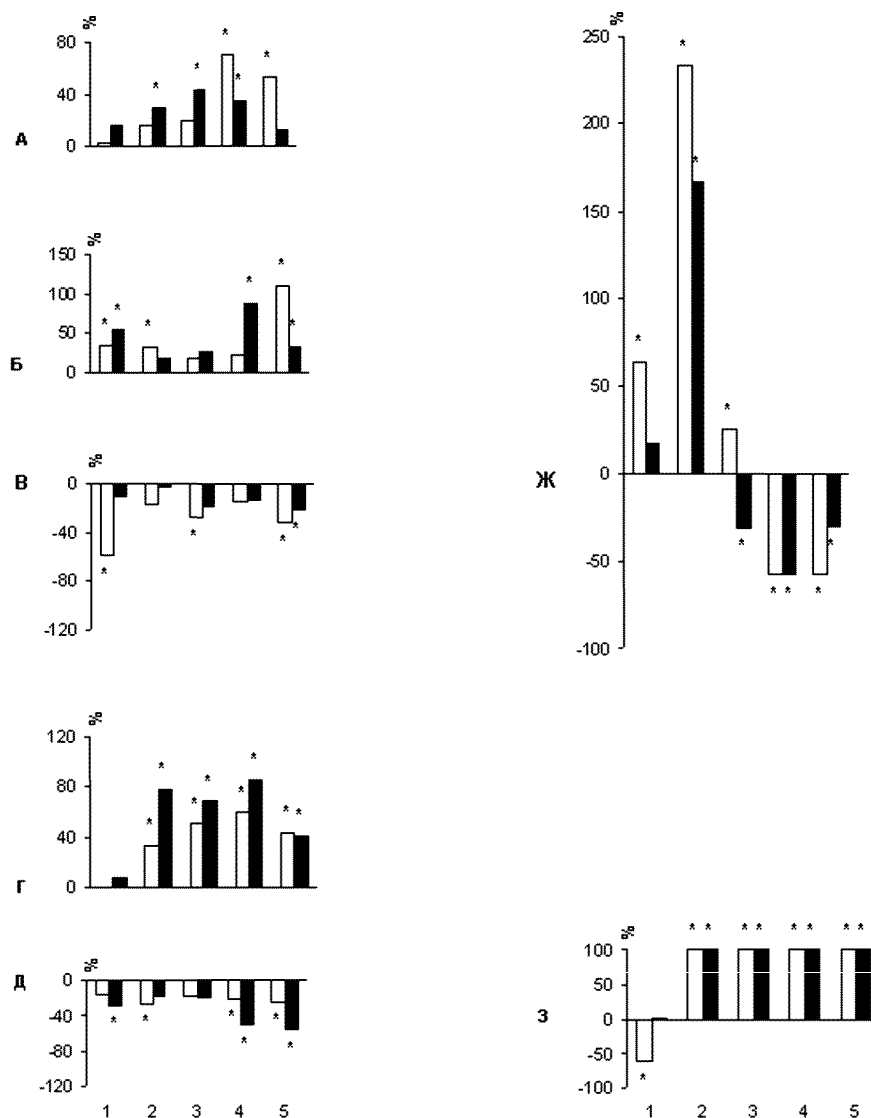


Рис. 2. Изменение (в % от контроля) общего числа лейкоцитов (А), сегменто- (Б) и палочкоядерных (В) нейтрофилов, моноцитов (Г), лимфоцитов (Д), базофилов (Ж) и эозинофилов (З) в периферической крови крыс под влиянием многократного введения 1-цианобензимидазола в дозе 50 мг/кг. По оси абсцисс – сроки наблюдений: светлые столбики – через 2,5 ч после каждого из пяти введений 1-цианобензимидазола; темные – через 24 ч соответственно; 1-5 – порядковый номер введения вещества; * – $p < 0,05$

По-видимому, пятикратное инъектирование опытным крысам исследуемого вещества способствовало не только первоначальному массивному выходу этих клеток из костного мозга, но и быстрой миграции их в тканевые очаги разрешения реакции гиперчувствительности, развитие которой подтверждалось динамикой количества эозинофилов в периферическом русле. Уже через 2,5 ч после второго (из пяти) введений 1-цианобензимидазола число последних увеличилось на 100,0% ($p < 0,05$) и продолжало сохраняться на этом уровне до конца наблюдений.

Изменения в морфологии клеток белой крови у опытных крыс в обеих сериях экспериментов были представлены только увеличением их диаметра в среднем на 19,0% ($p < 0,05$). Однако наличие такого изменения у всех без исключения лейкоцитарных форм может рассматриваться как показатель усиления их трофики [2], а также действия именно химического агента [1, 14].

Таким образом, развивающийся под влиянием 1-цианобензимидазола широкий спектр лейкоцитарных реакций свидетельствует о его высокой физиологической активности, реализация которой возможна в пределах циркулирующей крови, органов гемопоэза и аппарата гуморальной регуляции. Анализ характера этих реакций позволяет сделать заключение о том, что наиболее выраженной особенностью эффектов 1-цианобензимидазола является активация механизмов, определяющих уровень резистентности организма. Зарегистрированная нами в условиях многократного применения вещества преимущественная мобилизация механизмов неспецифической адаптации непосредственно связана с проблемой повышения общей сопротивляемости организма и может служить основанием для дальнейшего направленного синтеза производных бензимидазола с подобными свойствами. Последнее настоятельно диктуется запросами клиники в связи ростом числа иммунодефицитов.

Литература

- [1] Алмазов В.А., Афанасьев Б.Ф., Зарицкий А.Ю. и др. Физиология лейкоцитов человека. Л.: Наука, 1979. 120с.
- [2] Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1994. 540с.
- [3] Анненков А.Е., Баранова Р.С. Формирование прокоагулянтной активности - одно из свойств активированных моноцитов // Трансплантация и искусственные органы. М., 1986. С.116-118.
- [4] Батрак Г.Е., Кудрин А.Н. Дозирование лекарственных средств экспериментальным животным. М.: Медицина, 1979. 186с.
- [5] Выгородская Я.И. Гематологические синдромы в клинической практике. Киев: Здоров'я, 1981, 276с.
- [6] Гольдберг Е.Д. Справочник по гематологии. Томск, 1989. 369с.
- [7] Горизонтов П.Д. Стресс и система крови. М.: Медицина, 1983. 240С.
- [8] Малевич Л.П., Кузник Б.И. Свертывание крови и лимфы в условиях нормы и патологии // Патол. физиол. и экспер. терап. 1990. N1. С.56-59.
- [9] Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Медицина, 1993. Т.1. 150с.
- [10] Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. М.: Медицина, 1978. 127с.
- [11] Пигаревский В.Е. Полиморфноядерный лейкоцит и макрофаг в реакциях воспаления и гиперчувствительности // Архив патол. 1983. N11. С.14-22.
- [12] Сапов И.А., Новиков В.С. Неспецифические механизмы адаптации человека. Л.: Наука, 1984. 148с.

- [13] Селье Г. Неспецифическая резистентность // Патол. физиол. и экспер. терап. 1961. N5. С.3-15.
- [14] Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. Е.А. Кост. М.: Медицина, 1975. 383с.
- [15] Hobrecker F. Under reductions produkte der nitracetamid verbindungen // Ber. dtsch. chem. Ges. Berlin, 1872. N5. S.920-924.

CHARACTERIZATION OF 1-CYANOBENZIMIDAZOLE EFFECT ON THE WHITE BLOOD PICTURE

V. Kuzmina, L. Sergeeva,³ P. Purygin, N. Belyakova⁴

1-cyanobenzimidazole – induced leucocytary reactions in rats are investigated. Analysis of the reaction to solitary or multiple administration of the 1-cyanobenzimidazole is performed. We found changes in number and morphology of all types of the leucocytes, thus 1-cyanobenzimidazole has a high physiological activity. The most pronounced effect we observed is an activation of mechanisms responsible for the resistance of organism.

³Vera Kuzmina, Ludmila Sergeeva, departament of physiology of human and animals, Samara state university

⁴Pyotr Purygin, Natalya Belyakova, dept. of organic chemistry, Samara state university