

УДК 612.11/12+616.15

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 1-ЦИАНОБЕНЗИМИДАЗОЛА НА КАРТИНУ БЕЛОЙ КРОВИ

© 2003 В.Е. Кузьмина,¹ П.П. Пурыгин, О.Н. Нечаева²

С целью выяснения характера биологической активности производных 1-цианобензимидазола 6-нитро-1-цианобензимидазола и 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола изучены лейкоцитарные реакции. Анализ этих реакций позволил установить позитивное влияние обоих соединений на механизмы общей сопротивляемости организма, а также аллергенные и токсические свойства веществ.

Введение

Изыскание новых лекарственных средств, повышающих неспецифическую резистентность организма, настоятельно диктуется запросами клиники в связи со значительным ростом числа иммунодефицитных состояний. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что формирование иммунного статуса происходит с участием всех групп форменных элементов белой крови [2, 6, 10, 13, 16]. При этом отмечается повышенная реактивность последних к химическим агентам [15, 16]. Вот почему при оценке биологической активности вновь синтезированных веществ, с перспективой использования их для получения лекарственных препаратов, чрезвычайно важными представляются данные о влиянии этих соединений на морфофункциональное состояние лейкоцитов.

Ранее нами были изучены лейкоцитарные реакции, развивающиеся при введении животным 1-цианобензимидазола [8, 12]. Задача настоящей работы состояла в анализе влияния на картину белой

¹ Кузьмина Вера Ефимовна, кафедра физиологии человека и животных Самарского государственного университета, 443011, Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

² Пурыгин Петр Петрович, Нечаева Ольга Николаевна, кафедра органической химии Самарского государственного университета.

крови 6-нитро-1-цианобензимидазола и 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола, синтезированных на кафедре органической химии Самарского госуниверситета.

Методика исследований

Работа выполнена на 24 беспородных крысах-самцах массой 180–230 г. Животным двух опытных групп пятикратно с интервалом в 48 часов вводили внутривенно 1 мл раствора исследуемых соединений в разовой дозе 1 мг на 100 г массы тела. Крысам контрольной группы в том же объеме и в те же сроки инъектировали физиологический раствор. О характере влияния 6-нитро-1-цианобензимидазола и 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола судили по динамике в периферической крови общего числа лейкоцитов, отдельных лейкоцитарных форм и морфологическим изменениям в них, используя общепринятые в гематологической практике методики [7,15]. Анализ крови проводили до начала введений, через 2,5 и 24 часа после каждой инъекции, а затем через 3, 5, 7 и 14 суток по их завершении. Статистическая обработка экспериментальных данных проведена с определением уровня значимости различий по Стьюденту.

Результаты исследований и их обсуждение

Установлено, что введение животным обоих производных 1-цианобензимидазола привело не только к различным по направленности и степени выраженности отклонениям в количестве всех групп лейкоцитов, но и в их морфологии.

При воздействии 6-нитро-1-цианобензимидазола на фоне закономерно развивающегося увеличения в периферической крови общего числа лейкоцитов аналогичный характер динамики зарегистрирован для палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов. Отклонениям в количестве эозинофилов и базофилов была свойственна фазовость с преобладанием изменений в сторону увеличения содержания этих клеток. Динамика в периферическом русле числа сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов носила лейкопенический характер. В таких формах элементов белой крови, как зрелые нейтрофилы, обнаружен ряд морфологических изменений.

В условиях введения 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола динамика в периферической крови общего числа лейкоцитов хотя и носила фазовый характер, но отклонения доминировали в сторону увеличения их содержания. То же

самое можно сказать об изменении количества палочкоядерных нейтрофилов. Содержание в периферическом русле числа моноцитов, базофилов и эозинофилов увеличивалось. Количество же лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов, наоборот, уменьшалось. Морфологические изменения зарегистрированы не только в зрелых нейтрофилах, но и в моноцитах.

Поскольку 6-нитро-1-цианобензимидазол и 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазол являются производными 1-цианобензимидазола, сопоставительный анализ наиболее значимых, на наш взгляд, эффектов первых двух соединений мы посчитали возможным провести с эффектами базового вещества, которые описаны ранее [8, 12]. К наиболее значимым показателям лейкоцитарных реакций были отнесены максимальные отклонения в содержании различных групп лейкоцитов (табл. 1) и характер морфологических изменений в них (табл. 2).

Таблица 1

Максимальные изменения в периферической крови общего числа лейкоцитов и количества их различных групп (в % от контроля) под влиянием 1-цианобензимидазола (I), 6-нитро-1-цианобензимидазола (II) и 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола (III)

Группа лейкоцитов	Вещества		
	I	II	III
Общее число лейкоцитов	+69,3*	+87,1*	+98,2*
Палочкоядерные нейтрофилы	-58,0*	+130,0*	+694,0*
Сегментоядерные нейтрофилы	+109,6*	-7,8	-18,6
Моноциты	+82,0*	+104,6*	+345,5*
Базофилы	+239,0*	+287,7*	+388,2*
Эозинофилы	+100,0*	+144,1*	+588,0*
Лимфоциты	-55,5*	-32,0*	-8,5

Примечание: * — $p < 0,05$.

Данные табл. 1 свидетельствуют, во-первых, о том, что выраженность отклонений в содержании большинства лейкоцитарных форм (5 из 6) была значительно больше при введении 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола, превышая таковую в условиях применения 6-нитро-1-цианобензимидазола в 1,3–7,0 раз. При этом направленность развивающихся ответов на воздействие обоих соединений была тождественной. Под влиянием 1-цианобензимидазола выраженность отклонений в содержании большинства лейкоцитарных форм (4 из 6) была меньше. Более того, в двух из шести случаев направленность изменений являлась противоположной.

Таблица 2

**Морфологические изменения в форменных элементах белой
крови под влиянием 1-цианобензимидазола (I),
6-нитро-1-цианобензимидазола (II) и
1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола (III)**

Параметры отклонений количества лейкоцитов	Вещества		
	I	II	III
Незначительное увеличение диаметра всех клеток	+		
Увеличение диаметра сегментоядерных нейтрофилов		+	+
Нетипичная зернистость в цитоплазме сегментоядерных нейтрофилов		+	+
Гиперсегментация ядер сегментоядерных нейтрофилов		+	+
Вакуолизация цитоплазмы сегментоядерных нейтрофилов			+
Вакуолизация ядер сегментоядерных нейтрофилов			+
Вакуолизация цитоплазмы моноцитов			+

Во-вторых, анализ динамики форменных элементов белой крови в целом при введении 1-цианобензимидазола и его производных выявил не только активацию механизмов общей резистентности организма, но и ее специфику. Так, при инъектировании 1-цианобензимидазола произошло увеличение общего числа лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов с одновременным уменьшением количества палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов. Данный гематологический синдром рассматривается как свидетельство развития реакции неспецифической защиты [3–5].

Введение животным 6-нитро-1-цианобензимидазола и 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола также привело к увеличению общего числа лейкоцитов, моноцитов, уменьшению количества лимфоцитов. Содержание в периферической крови сегментоядерных нейтрофилов не увеличилось, а несколько уменьшилось на фоне значительного возрастания числа палочкоядерных форм. Развивающаяся ярко выраженная палочкоядерная нейтрофилия в сочетании с незначительной сегментоядерной нейтропенией, по мнению А.Н. Маянского с соавт. [9], подтверждает активацию механизмов неспецифической резистентности организма.

Одновременно с активацией механизмов неспецифической защиты имела место мобилизация механизмов специфической адаптации, в пользу чего говорит значительное повышение количества эозинофилов и базофилов в периферической крови. Такой характер отклонений в числе обеих популяций гранулоцитов закономерно проявляется в ситуации формирования реакции гиперчувствительности [15].

О том, что в первую очередь были активированы механизмы общей защиты, свидетельствуют и морфологические изменения в форменных элементах белой крови, которые были представлены только в группах "профессиональных фагоцитов", а именно в нейтрофилах и моноцитах (табл. 2).

Изменения в морфологии клеток белой крови при введении животным 1-цианобензимидазола проявились только незначительным 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 [11], а также действия химического агента [15].

Увеличение диаметра сегментоядерных нейтрофилов, появление в их цитоплазме нетипичной зернистости, наконец, гиперсегментация ядер этих клеток при введении животным 6-нитро-1-цианобензимидазола свидетельствуют о токсичности данного производного 1-цианобензимидазола [1, 14, 15].

Спектр морфологических изменений, являющихся индикаторами токсических свойств веществ, в условиях применения 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола значительно расширился. Помимо увеличения диаметра сегментоядерных нейтрофилов, появления в их цитоплазме нетипичной зернистости и гиперсегментации ядер имела место вакуолизация цитоплазмы и ядер этих клеток. Вакуолизация цитоплазмы произошла и в моноцитах.

Заключение

Несмотря на установленное позитивное влияние производных 1-цианобензимидазола на механизмы неспецифической защиты организма, отмеченные токсические свойства обоих соединений являются фактором, который в достаточной мере ограничивает возможность их использования в синтезе иммуностимуляторов.

Литература

- [1] Абрамов М.Г. Гематологический атлас. М.: Медицина, 1985. 344 с.
- [2] Берчану Ш. Клиническая гематология. Бухарест, 1985. 1221 с.
- [3] Выгородская Я.И. Гематологические синдромы в клинической практике. Киев: Здоров'я, 1981. 276 с.
- [4] Горизонтов П.Д. Система крови как основа резистентности и адаптации организма // Патол. физиол. и экспер. терапия. 1981. № 2. С. 55–63.

- [5] Горизонтов П.Д. Стресс и система крови. М.: Медицина, 1983. 240 с.
- [6] Карр Я. Макрофаги: обзор ультраструктуры и функции. М.: Медицина, 1978. 127 с.
- [7] Козинец Г.И., Макарова И.А. Методы исследования в гематологической практике. М.: Наука, 1997. 407 с.
- [8] Кузьмина В.Е., Сергеева Л.И., Пурыгин П.П. и др. Характер влияния 1-цианобензимидазола на картину белой крови // Вестник СамГУ. 1999. № 2 (12). С. 133-139.
- [9] Маянский А.Н., Галиуллин А.Н. Реактивность нейтрофила. Казань, 1984. 158 с.
- [10] Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука, 1989. 334 с.
- [11] Молекулярная биология клетки / Б.Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис и др. М.: Мир, 1994. 517 с.
- [12] Пурыгин П.П., Кузьмина В.Е., Сергеева Л.И. и др. Синтез 1-цианобензимидазола и оценка его биологической активности по реакциям белой крови // Хим.-фарм. журн. 2000. Т. 34. № 2. С. 11-13.
- [13] Ройт А. Основы иммунологии. М.: Мир, 1991. 327 с.
- [14] Ронин В.С. Морфологические изменения лейкоцитов // Лаб. дело. 1990. № 5. С. 30-35.
- [15] Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / Под ред. Е.А. Кост. М.: Медицина, 1975. 383 с.
- [16] Физиология лейкоцитов человека / В.А. Алмазов, Б.В. Афанасьев, А.Ю. Зарицкий и др. Л.: Наука, 1979. 231 с.

THE EFFECT OF 1-CYANOBENZIMIDAZOLE ANALOGUES ON THE WHITE BLOOD PICTURE

© 2003 V.E. Kuz'mina³, P.P. Purygin, O.N. Nechaeva⁴

Leukocytary responses to 6-nitro-1-cyanobenzimidazole and 1-(4-nitropheniloxy-[Z,E]-carbimino)-6-nitrobenzimidazole administration in rats are investigated. The protectory effect of both compounds on mechanisms of basic resistance of the organism is found. Allergic and toxic peculiarities of the compounds are described.

Поступила в редакцию 20/VI/2003.

³ Kuz'mina Vera Yefimovna, Dept. of Human and Animals Physiology, Samara State University, Samara, 443011, Russia.

⁴ Purygin Pyotr Petrovich, Nechaeva Olga Nikolaevna (labazova@mail.ru), Dept. of Organic Chemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.