

Міністерство охорони здоров'я України  
Харківська міська рада Харківської області  
Департамент охорони здоров'я  
Національний фармацевтичний університет  
Навчально-науковий інститут прикладної фармації



Міжнародна дистанційна  
науково-практична  
конференція

## «MODERN APPROACH OF EXPERIMENTAL AND PRECLINICAL PHARMACOLOGY»

(Реєстраційне посвідчення УкрІНТЕІ № 896  
від 28 грудня 2020 р.)

19/02—

21

ХАРКІВ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКА МІСЬКА РАДА ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ  
ДЕПАРТАМЕНТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЇ ФАРМАЦІЇ

## **«Modern approach of experimental and preclinical pharmacology»**

Матеріали Міжнародної дистанційної  
науково-практичної конференції

19 лютого 2021 року  
м. Харків

*Реєстраційне посвідчення УкрІНТЕІ  
№ 896 від 28 грудня 2020 року*

Харків  
НФаУ  
2021

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE  
KHARKIV CITY COUNCIL OF KHARKIV REGION  
DEPARTMENT OF HEALTHCARE  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY  
EDUCATIONAL AND SCIENTIFIC INSTITUTE OF APPLIED PHARMACY

## **«Modern approach of experimental and preclinical pharmacology»**

Materials of the International Distance  
Scientific and Practical Conference

19 February 2021  
Kharkiv

*registration certificate UkrISTEI  
№ 896 dated December 28, 2020*

Kharkiv  
NUPh  
2021

# **КОРРЕКЦИЯ ГЕМОДЕПРЕССИВНЫХ СОСТОЯНИЙ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫМИ КЛЕТОЧНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ КОРДОВОЙ КРОВИ**

Кудокоцева О.В., Ломакин И.И., Мамонтов В.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,  
г. Харьков, Украина

Основным индикатором гомеостаза организма является кроветворная система, которая обеспечивает его компенсаторно-приспособительные реакции при воздействии какого-либо раздражителя. В жизни мы неоднократно можем сталкиваться с группой веществ, оказывающих повреждающее (цитотоксическое) действие на здоровые, активно обновляющиеся ткани организма, в частности на кроветворную систему, тем самым формируя цитопенический синдром и подавляя иммунную систему, что приводит к развитию вторичных иммунодефицитных состояний, в том числе и к выраженной гемодепрессии. Эта группа веществ называется цитотоксикантами и включает как противоопухолевые лекарственные препараты (5-фторурацил, циклофосфан и др.) и некоторые антибиотики, так и боевые отравляющие вещества (иприт, люизит и др.), некоторые промышленные агенты (соединения мышьяка, ртути, эпоксиды, бензол и др.), фитотоксиканты и пестициды и некоторые другие соединения.

С целью коррекции гипо- и апластических состояний кроветворения в процессе поражения цитотоксикантами применяют различные препараты: производные нуклеиновых кислот, витамины, гормоны, моонуклеотиды, пуриновые основания, иммуномодуляторы, соли лития, препараты природного происхождения. Однако эти лекарственные средства не являются универсальными, а их применение не имеет ожидаемого терапевтического эффекта. В этой связи создание и изучение новых гемокорректоров имеет большое значение для медицины и биологии.

На примере введения химиотерапевтических препаратов нами показано, что развитие гипоплазии кроветворной ткани и динамика восстановления гемопоэза во многом определяется как прямым эффектом подавления кроветворных клеток токсическими агентами, так и характером дисрегуляции кроветворения. Репаративные процессы в кроветворной ткани в значительной мере обеспечиваются трансплантируемыми донорскими стволовыми кроветворными клетками и клеточными элементами, составляющими гемопоэзиндуцирующее микроокружение.

Эксперименты были выполнены на мышах линии СВА массой 18–20 г. Гемодепрессивные состояния моделировали с помощью однократного внутрибрюшинного введения препарата 5-фторурацила (ФУ) («ЕБЕВЕ», Австрия) в максимально переносимой дозе 228 мг/кг. В качестве источника стволовых гемопоэтических клеток (ГСК) использовали криоконсервированный препарат кордовой крови человека (КК), содержащий как ГСК, так и клетки кроветворного микроокружения. Мышам опытных групп через 3–4 ч после однократной инъекции ФУ внутривенно вводили 0,2 мл криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови (кЯСК КК) (ГП «МНЦ КиК НАН, АМН и МОЗ Украины», г. Харьков) в дозе  $5 \times 10^8$  жизнеспособных ЯСК КК/кг.

Общее количество миелокариоцитов в костном мозге (КМ), лейкоцитов и эритроцитов в периферической крови (ПК) животных определяли в камере Горяева общепринятым методом, используя объектив х40 и окуляр х7. Анализ миелограмм и гемограмм изучали на мазках, окрашенных азури-В-эозином. Об активности эритропоэза судили по количеству ретикулоцитов, окрашенных бриллиантовым крезоловым синим непосредственно на стекле.

Для статистической обработки данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) на компьютерной программе «Excel» («Microsoft», США). Данные представляли как  $M \pm m$ . Расхождения между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Нами показано, что однократное введение 5-ФУ в максимально переносимой дозе приводило к значительным нарушениям кроветворения и угнетению всех ростков кроветворения у экспериментальных мышей, о чем свидетельствовал анализ мазков КМ, на которых отчетливо выявлялась аплазия гемопоэтической ткани с сохранением лишь единичных островков кроветворения. Наиболее чувствительны к действию ФУ оказались клетки миелоидного и эритроидного ростков, менее чувствительны – лимфоидного ростка. Введение ФУ приводило к статистически значимому уменьшению количества нейтрофильных гранулоцитов (НГ) и эритрокариоцитов (ЭК) на 1–12-е сутки эксперимента, причем на 2–5-е сутки отмечалось наименьшее содержание всех изучаемых форм миелокариоцитов, вплоть до полного исчезновения на препаратах костного мозга ЭК и НГ. Вслед за периодом депрессии наблюдалось постепенное увеличение количества НГ и ЭК в КМ животных. Регенерационные процессы в КМ контрольных животных более интенсивно протекали с 12-х суток эксперимента и практически завершались к 16-м суткам для НГ, тогда как восстановление количества эритроидных клеток к этому времени составляло всего 62,5 % от значений интактных животных.

Результаты проведенных экспериментов позволили выявить выраженное стимулирующее действие кЯСК КК на процессы восстановления костномозгового кроветворения, угнетенного введением 5-фторурацила. Так, уже на 5-е сутки на гемограммах КМ обнаруживались НГ (незрелые и зрелые формы), а на 9-е сутки их количество превышало контрольные значения практически в 7 и 9 раз соответственно. С 5-х по 16-е сутки значимо (в сравнении с контролем) возрастало и общее количество миелокариоцитов в КМ. Наиболее показательна динамика восстановления угнетенного ФУ эритроидного ростка кроветворения под влиянием кЯСК КК. Так, на 12-е сутки эксперимента количество ЭК в КМ мышей после токсичного действия ФУ составляло  $(0,99 \pm 0,12) \times 10^6$ /бедро, а после введения кЯСК КК данный показатель увеличивался до  $(4,30 \pm 0,72) \times 10^6$ /бедро, что значимо выше даже по сравнению со значениями интактных животных.

Увеличение содержания ретикулоцитов в ПК мышей на фоне токсического воздействия ФУ и после введения кЯСК КК отмечали с 5-х суток эксперимента, тогда как развитие ретикулоцитоза в ПК после применения одного только ФУ регистрировали с 12-х суток наблюдения. При этом абсолютное количество ретикулоцитов у мышей после введения кЯСК КК на фоне ФУ в 1,5–2 раза превосходило аналогичный показатель у животных, получавших только цитостатический препарат ФУ. Учитывая, что увеличение числа ретикулоцитов и

их выход в циркулирующую кровь отражает активный эритропоэз в КМ, можно утверждать, что криоконсервированный клеточный препарат кордовой крови человека, в состав которого входят как ГСК, так и клетки, составляющие гемопозиндуцирующее микроокружение, стимулирует процессы костномозгового эритропоэза, подавленные цитостатиком. Применение кЯСК КК способствовало ускорению восстановления абсолютного количества эритроцитов ПК до исходных значений уже на 9-е сутки эксперимента, тогда как у животных со ФУ этот показатель восстанавливался только к 16-м суткам наблюдения.

В данной работе также установлено, что цитостатик 5-фторурацил приводит и к выраженной лейкопении ПК опытных животных вплоть до 16-х суток наблюдения. Анализ гемограмм ПК показал, что вплоть до 9-х суток наблюдения в крови животных после введения ФУ практически исчезали нейтрофильные лейкоциты и статистически значимо увеличилось относительное количество лимфоцитов. Введение кЯСК КК ускоряло процесс восстановления количества лейкоцитов в ПК, что на 9-е сутки проявлялось статистически значимыми различиями исследуемых показателей в группах контроля и опыта. В ПК животных со ФУ даже к 16-м суткам наблюдения количество лейкоцитов полностью не восстановилось, тогда как после введения клеточного препарата КК этот показатель нормализовался на 9-е сутки.

Экспериментальное и клиническое применение новых гемопозстимулирующих и иммуномодулирующих препаратов, в том числе и криоконсервированного клеточного препарата кордовой крови, имеет большое значение для медицины и биологии. Эти препараты позволяют разрабатывать пути направленной регуляции гемо- и иммунопоэза, что необходимо для лечения и профилактики различных заболеваний, в том числе гемодепрессивных и иммунодефицитных состояний, влияют на физиологические адаптационные возможности организма и поддержание его гомеостаза.

За последние 50 лет подходы к терапии вторичных иммунодефицитных состояний, к которым относят и патологию кроветворения, претерпели значительные изменения: от трансфузии лейкоконцентрата и эритроцитарной массы взрослых доноров и до применения в клинической практике криоконсервированных клеточных препаратов.

Проведенные нами исследования динамики восстановления костномозгового кроветворения и абсолютного количества лейкоцитов и эритроцитов периферической крови подтвердили целесообразность применения криоконсервированной ядродержащей клеточной суспензии кордовой крови человека для стимуляции восстановительных процессов в костном мозге, подавленных цитотоксикантом 5-фторурацилом.