

УДК 619:615.252:616.441-008.64

UDC 619:615.252:616.441-008.64

16.00.00 Ветеринарные науки

Veterinary sciences

**ВЛИЯНИЕ ДАЛАРГИНА НА МИЕЛОИДНОЕ  
ЗВЕНО СИСТЕМЫ КРОВИ У БЕЛЫХ КРЫС  
С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ  
ГИПОТИРЕОЗОМ**

**THE EFFECT OF DALARGIN ON MYELOID  
LINK OF WHITE RATS' BLOOD SYSTEM  
WITH EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM**

Гармаева Дэнсэма Владимировна  
к.б.н., доцент

Garmaeva Densema Vladimirovna  
Cand.Biol.Sci., assistant professor

Намсараев Содном Дамбаевич  
к.б.н., доцент

Namsaraev Sodnom Dambaevich  
Cand.Biol.Sci., assistant professor

Долганова Софья Гомоевна  
к.б.н.

Dolganova Sophia Gomoevna  
Cand.Biol.Sci.

*Иркутский государственный аграрный  
университет им. А.А. Ежевского, Иркутск, Россия*

*Irkutsk State Agricultural University by A.A. Ezhevsky,  
Irkutsk, Russia*

В условиях гипотиреоза у белых крыс изучены изменения в миелоидном звене системы крови и корригирующее действие даларгина. Установлено, что даларгин вызывает стойкую лейкопению, кратковременную эозинопению с последующей нормализацией их количества и кратковременно стимулирует нейтрофилопоз

Under conditions of white rats' hypothyroidism the changes were studied in myeloid link of blood system and corrective action of dalargin. It has been stated that dalargin causes lasting leukopenia, short-time eosinopenia with consequent normalization of their number and momentarily stimulates neutrophilopoiesis

Ключевые слова: БЕЛЫЕ КРЫСЫ, ГИПОТИРЕОЗ, ДАЛАРГИН, ГЕМОПОЭЗ, ЛЕЙКОЦИТЫ, БАЗОФИЛЫ, ЭОЗИНОФИЛЫ, НЕЙТРОФИЛЫ

Keywords: WHITE RATS, HYPOTHYROIDISM, DALARGIN, HEMOPOIESIS, LEUKOCYTES, BASOPHILS, EOSINOPHILS, NEUTROPHILS

**Актуальность исследования.** Иркутская область относится к биогеохимической провинции, которая характеризуется недостаточным содержанием йода в биосфере, приводящей к нарушению обмена веществ и возникновению гипотиреоза. В настоящее время привлекают внимание исследователей пути по изысканию коррекции данной патологии. В связи с этим 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 заключалась в выявлении возможности коррекции даларгином нарушений в системе крови и гемопоэза у белых крыс в условиях гипотиреоза.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 гр. в осенне-зимний период. Экспериментальные исследования проводились согласно Хельсинской декларации 2000 г о гуманном отношении к животным. 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. Остальные крысы были разделены на 2 группы. Первая подопытная группа включала 18 крыс с гипотиреозом (группа Г), второй подопытной группе с 9 недели в течение 10 дней вводили в/м даларгин в дозе 0,1мг/кг (18 крыс, группа ГД). Доза и режим введения препарата выбирались на основании данных литературы о максимально выраженном иммуномодулирующем и стресс-лимитирующем действии даларгина [4]. Выведение крыс из эксперимента проводили с помощью эфирной эвтаназии. Материал для исследования брали на 2, 7 и 28 сутки после отмены мерказолила. В периферической крови определяли количество лейкоцитов в 1 мкл крови. Кровь для исследования брали из хвостовой вены крыс, затем после эфирной эвтаназии извлекали бедренную кость для проведения количественных морфологических исследований. Мазки крови и костного мозга окрашивали по Паппенгейму [2]. В мазках крови подсчитывали лейкоцитарную формулу (с последующим пересчетом %-ного количества лейкоцитов в абсолютное), в мазках костного мозга - миелограмму (на 1000 клеток). Высчитывали индексы пролиферации (ИП) и созревания (ИС) клеток миелопоэза по формулам [1].

$$\text{ИП} = [(\text{МЦ} \cdot 0 + \text{ММЦ} \cdot 1) \div (\text{МЦ} + \text{ММЦ})] \cdot \Sigma,$$

$$\text{ИС} = [(\text{МЦ} \cdot 0 + \text{ММЦ} \cdot 1) \div (\text{ММЦ} + \text{П} + \text{С})] \cdot \Sigma,$$

где МЦ – количество миелоцитов, ММЦ – количество метамиелоцитов, П - количество палочкоядерных гранулоцитов, С – количество сегментоядерных гранулоцитов,  $\Sigma$  - сумма всех клеток нейтрофильного, эозинофильного или базофильного ростка.

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

**Результаты исследования.** Введение даларгина гипотиреодным крысам (10-ти дневный курс, после отмены мерказолила) на 2 и 7 сутки наблюдения вызывает уменьшение в 1,5–1,2 раза количества лейкоцитов в периферической крови, по сравнению с аналогичными крысами, не получавшими даларгин ( $p < 0,05$ ; рис. 1-А). Очевидно, это связано с миграцией лейкоцитов в ткани для устранения структурных нарушений в органах. Однако, на 28 сутки наблюдения количество лейкоцитов постепенно увеличивалось до уровня животных без коррекции даларгином, но все ещё было в 1,3 раза меньше нормы. Из этого следует, что у гипотиреодных крыс введение даларгина вызывает стойкую лейкопению.

На 2 сутки наблюдения после введения даларгина в периферической крови количество эозинофилов уменьшилось в 3,3 раза, по сравнению с крысами, не получавшими даларгин ( $p < 0,05$ ; рис. 1-Б).

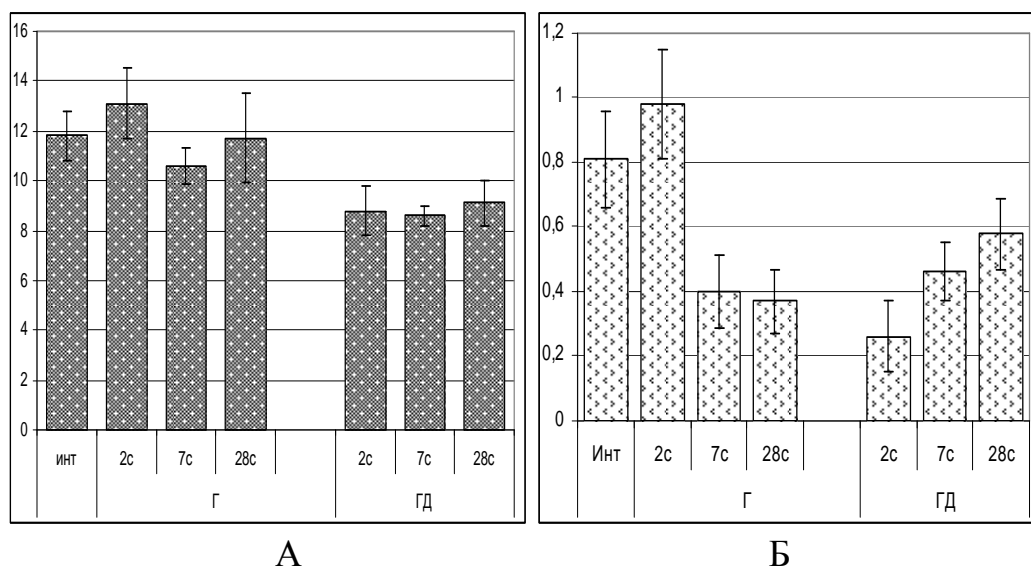


Рисунок 1 - Изменение количества лейкоцитов (\*10<sup>9</sup>/л) в периферической крови (рис. А) и динамика абсолютного количества эозинофилов в крови (рис. Б, из 100 клеток) у гипотиреоидных крыс не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД)

К 7 суткам постепенно увеличивалось, к концу наблюдения (28 сутки) нормализовалось, и превышало в 1,6 раза значение у крыс, не получавших даларгин ( $p < 0,05$ ; рис. 2).

Таким образом, введение даларгина гипотиреоидным крысам ведет к возникновению кратковременной эозинопении с последующей нормализацией количества эозинофилов.

Базофилы в периферической крови у крыс с гипотиреозом после инъекций даларгина не выявлялись. Количество СЯ-нейтрофилов в крови после введения даларгина оставалось в диапазоне нормы в течение всего наблюдения, следовательно, даларгин препятствовал развитию нейтропении на 2 сутки и нейтрофилии на 7 сутки наблюдения ( $p < 0,05$ ; рис. 2-Б). При этом динамика количества ПЯ-нейтрофилов в крови под влиянием даларгина у гипотиреоидных крыс проявила волнообразный характер; на 2 сутки наблюдения их число уменьшилось в 3,3 раза (рис. 2-А), по сравнению с крысами, не получавшими даларгин, через 7 суток

наоборот, увеличилось в 2,5 раза, и к концу эксперимента (на 28 сутки) вновь уменьшилось в 2,3 раза до значения интактных крыс.

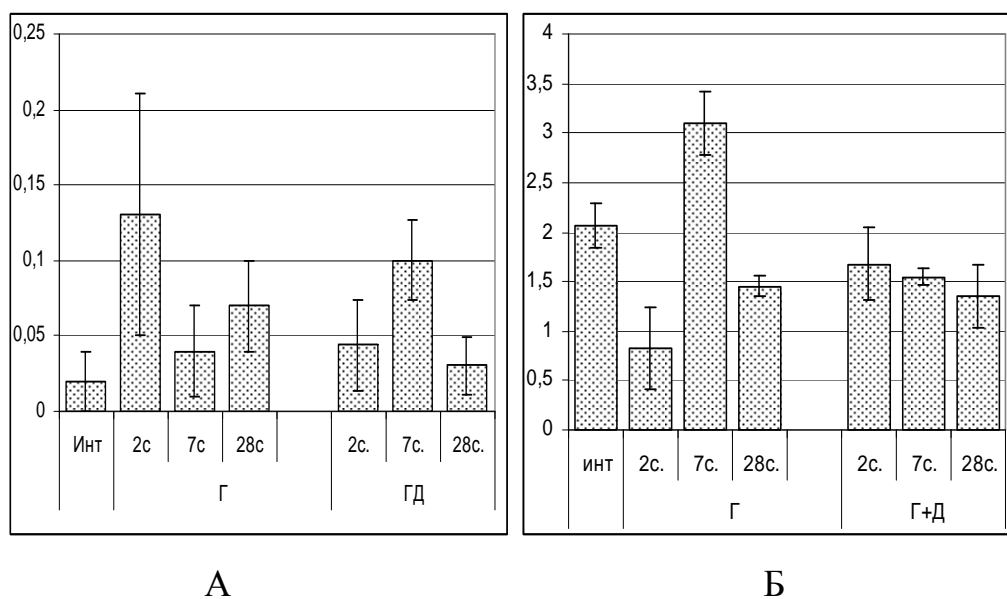


Рисунок 2 - Количественный состав нейтрофилов периферической крови у гипотиреоидных крыс не получавших (Г) и получавших (ГД) даларгин, из 100 клеток.

Обозначения: А - ПЯ-палочкоядерные нейтрофилы, Б - СЯ-сегментоядерные нейтрофилы.

Анализ полученных данных свидетельствует что, введение даларгина гипотиреоидным крысам приводит к развитию устойчивой лейкопении, при этом даларгин не оказывал влияния на базофилы крови, но вызывал кратковременную эозинопению, ликвидирующуюся к концу наблюдения и способствовал приближению численности нейтрофилов к норме.

У гипотиреоидных крыс введение даларгина не оказывало влияния на численность клеток базофильного ростка в течение всего срока наблюдения (рис. 3).

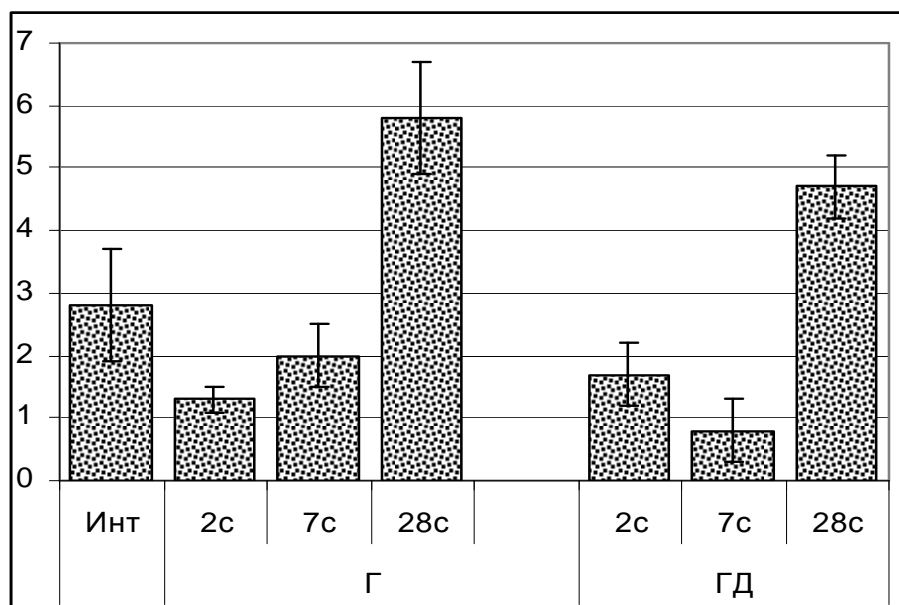


Рисунок 3 - Количество клеток базофилопоза у гипотиреоидных крыс не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД), из 1000 клеток

Эозинофильный росток после введения даларгина на 2 сутки наблюдения не отличался по количеству МЦ и ММЦ от крыс, не получавших даларгин, сохраняя численность этих клеток на уровне, который был почти вдвое меньше нормы ( $p < 0,05$ ; рис. 4-А). До конца наблюдения количество ММЦ удерживалось на этом уровне, а МЦ под влиянием даларгина продолжало уменьшаться (на 7 сутки было меньше, чем у крыс, не получавших даларгин в 1,9 раза, а на 28 сутки - в 2,6 раза; ( $p < 0,05$ ; рис.4-А). Количество ПЯ и СЯ-эозинофилов на протяжении всего срока наблюдения сохранялось в диапазоне нормального значения, но, по сравнению с крысами, не получавшими даларгин, количество СЯ-эозинофилов было меньше к 7 суткам в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), а к концу наблюдения (28 сутки) - в 1,5 раза (рис. 4-А).

Пролиферация (ИП) и созревание (ИС) клеток эозинофильного ростка у крыс, получавших даларгин, по сравнению с аналогичными крысами без коррекции даларгином, после 2-х суток наблюдения начинали снижаться (рис. 4-Б). К 7 суткам были в 1,9-1,7 раза соответственно меньше, по сравнению с крысами, не получавшими даларгин, но к концу

наблюдения (28 сутки) эти показатели нормализовались. Таким образом, под влиянием даларгина у гипотиреоидных крыс к 7 суткам наблюдения эозинофилопоз тормозился и уменьшалась численность эозинофильного ростка ККМ, которая оставалась сниженной до конца наблюдения, несмотря на нормализацию индексов пролиферации и созревания.

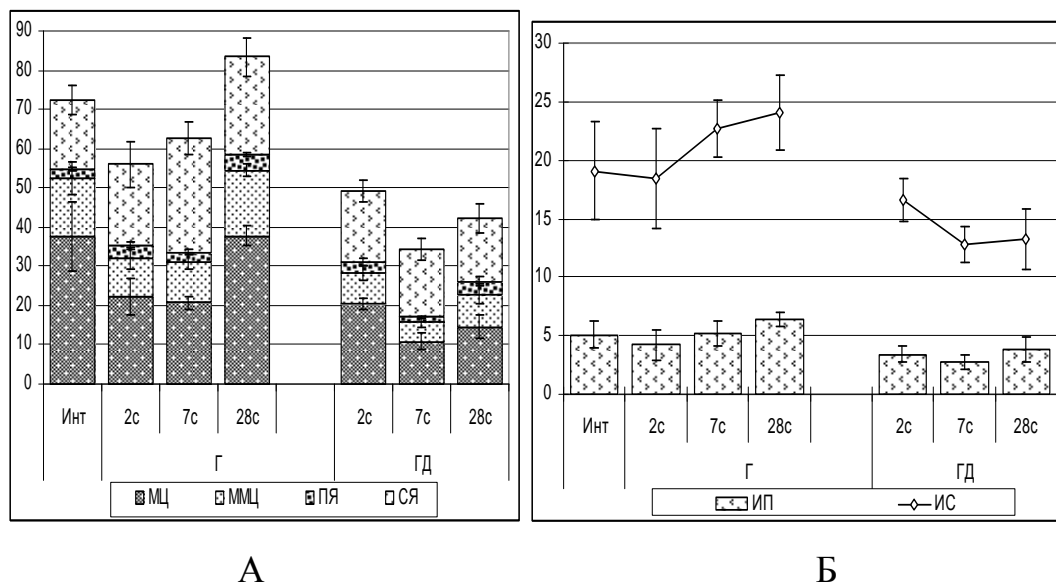


Рисунок 4 - Количество клеток эозинофилопоза (рис. А), индекс пролиферации (ИП, усл. ед, рис. Б) и созревания (ИС, усл. ед, рис. Б) у гипотиреоидных крыс не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД), из 1000 клеток

Обозначения: МЦ – миелоциты, ММЦ – метамиелоциты, ПЯ – палочкоядерные эозинофилы, СЯ – сегментоядерные эозинофилы

У крыс с гипотиреозом количество МЦ и ММЦ нейтрофильного ростка на 2 сутки наблюдения после введения даларгина проявило тенденцию к увеличению, но с 7 суток начинало уменьшаться, и к концу наблюдения (28 сутки) было в 2,2-1,6 раза меньше, чем у крыс не получавших даларгин ( $p < 0,05$ ; рис.5-А). Количество ПЯ-нейтрофилов на 2 сутки после инъекций даларгина начинало увеличиваться и к 7 суткам наблюдения было в 1,4 раза больше, чем у крыс, не получавших даларгин ( $p < 0,05$ ), а через месяц наблюдений (28 сутки) их численность уменьшилась в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ), по сравнению с аналогичными крысами, не получавшими даларгин, и было в 3,3 раза меньше нормы ( $p < 0,05$ ; рис.5-

А). Количество СЯ-нейтрофилов на 2 и 7 сутки наблюдения после введения даларгина увеличилось в 8 и 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), по сравнению с крысами, не получавшими даларгин, а через 28 суток наблюдения уменьшилось в 2,8 раза до нормы ( $p < 0,05$ ; рис.5-А).

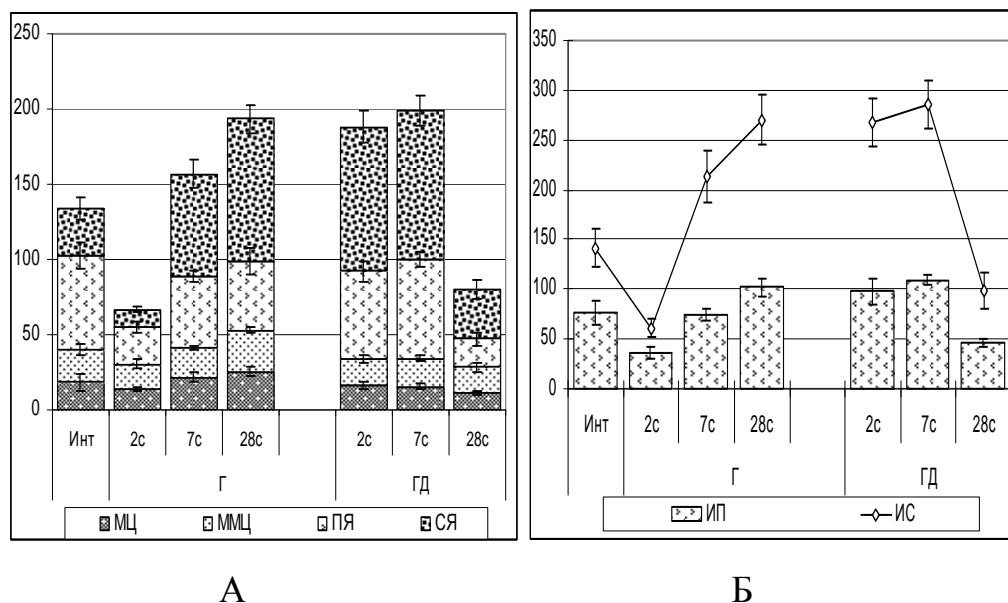


Рисунок 5 - Количество клеток нейтрофилопоза (рис. А), индекс пролиферации (ИП, усл.ед, рис. Б) и созревания (ИС, усл.ед, рис. Б) у гипотиреоидных крыс не получавших (Г) и получавших даларгин (ГД), из 1000 клеток

Обозначения: МЦ–миелоциты, ММЦ–метамиелоциты, ПЯ–палочкоядерные нейтрофилы, СЯ–сегментоядерные нейтрофилы

Пролиферация (ИП) клеток нейтрофильного ростка у крыс с гипотиреозом на 2 и 7 сутки наблюдения под влиянием даларгина ускорилась в 2,7 - 1,5 раза соответственно, а через месяц наблюдений (28 сутки) замедлилась в 2,2 раза, по сравнению с аналогичными крысами, не получавшими даларгин, и была в 1,7 раза меньше нормы ( $p < 0,05$ ; рис.5-Б). Индекс созревания (ИС) на 2 сутки наблюдения увеличился в 4,4 раза ( $p < 0,05$ ), по сравнению с крысами, не получавшими даларгин, и превысил нормальное значение в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ). До 7 суток ИС возрастал у крыс обеих экспериментальных групп, но без коррекции даларгином он превысил норму в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), а в условиях коррекции даларгином - в 2 раза ( $p < 0,05$ ). Однако к 28 суткам у крыс, получавших даларгин, он резко



уменьшился до нормы, а у крыс, не получавших даларгин, он продолжал возрастать и превысил нормальное значение в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ; рис.5-Б).

Таким образом, введение даларгина гипотиреоидным крысам оказывает стимулирующее влияние на нейтрофилопоз (увеличивает индексы пролиферации и дифференцировки), но это влияние распространяется только на период инъекций даларгина, после прекращения которых нейтрофилопоз существенно замедляется, преимущественно, за счет снижения темпов пролиферации клеток.

**Выводы:** У гипотиреоидных крыс введение даларгина вызывает стойкую лейкопению, кратковременную эозинопению с последующей нормализацией количества эозинофилов, при этом численность клеток эозинофильного ростка и скорость эозинофилопоза к 7 суткам наблюдения уменьшились. Базофилы в периферической крови под влиянием даларгина не выявлялись, хотя численность базофильного ростка в ККМ сохранялась в диапазоне нормы, при этом даларгин у гипотиреоидных крыс стимулировал нейтрофилопоз кратковременно, что сопровождалось уменьшением в крови исходно повышенного количества нейтрофилов.

#### Список литературы

1. Васильева, Л.С. Предупреждение глицином стресс – индуцированных нарушений эритропоза и развития анемии / Л.С. Васильева, О.А. Макарова // Сибирский медицинский журнал. (Иркутск) - 2001г.-№5.- С. 20-23.
2. Кост, Е.А. Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования / Е.А. Кост. – М.: Медицина, 1975. – 382с.
3. Козлов, В.Н. Тиреоидная трансформация при моделировании эндемического эффекта у белых крыс в эксперименте. / В.Н. Козлов // Сибирский мед. журнал (Иркутск) - 2006 г. №5. С.- 27-30.
4. Николаев, А.В. Отечественный препарат даларгин и его использование в онкологии / А.В. Николаев, В.Д. Слепушкин // Справочно-информационное издание “Будьте здоровы”. Новосибирск. - 2001. - 312 с.
5. Орлов, С.Б. Резекция тонкой кишки как экспериментальная модель гипотиреоза / С.Б. Орлов, М.А. Титова, И.А. Мухина // Морфология. 2002.-№2.-С. 117.

6. Korpachov V.V. How Genista tinctoria influences functions of thyroid gland of intact rats in cases of experimental hypothyroidism / V.V. Korpachov, O.O. Lytvinenko, I.P. Paster // Farmatsevtichnyi Zhurnal. 1995. - N 5. -P. 82-86.

### References

1. Vasil'eva, L.S. Preduprezhdenie glicinom stress – inducirovannyh narushenij jeritropojeza i razvitija anemii / L.S. Vasil'eva, O.A. Makarova // Sibirskij medicinskij zhurnal. (Irkutsk) - 2001g.-№5.- S. 20-23.

2. Kost, E.A. Spravochnik po klinicheskim i laboratornym metodam issledovaniya / E.A. Kost. – M.: Medicina, 1975. – 382s.

3. Kozlov, V.N. Tireoidnaja transformacija pri modelirovanii jendemicheskogo jeffekta u belyh kryz v jeksperimente. / V.N. Kozlov // Sibirskij med. zhurnal (Irkutsk) - 2006 g. №5. S.- 27-30.

4. Nikolaev, A.V. Otechestvennyj preparat dalargin i ego ispol'zovanie v onkologii / A.V. Nikolaev, V.D. Slepushkin // Spravochno-informacionnoe izdanie “Bud'te zdorovy”. Novosibirsk. - 2001. - 312 s.

5. Orlov, S.B. Rezekcija tonkoj kishki kak jeksperimental'naja model' gipotireoza / S.B. Orlov, M.A. Titova, I.A. Muhina // Morfologija. 2002.-№2.-S. 117.

6. Korpachov V.V. How Genista tinctoria influences functions of thyroid gland of intact rats in cases of experimental hypothyroidism / V.V. Korpachov, O.O. Lytvinenko, I.P. Paster // Farmatsevtichnyi Zhurnal. 1995. - N 5. -P. 82-86.