

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ МНОГОКОМПОНЕНТНОГО СРЕДСТВА

А. В. АДАМОВИЧ¹⁾, Е. А. РИМЖА²⁾, Г. В. ШЕРСТЮК²⁾, Н. В. ДУДЧИК¹⁾

¹⁾Научно-практический центр гигиены, ул. Академическая, 8, 220012, г. Минск, Беларусь

²⁾Белорусская медицинская академия последипломного образования,
ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Беларусь

Представлены результаты изучения потенциальной токсичности оригинального многокомпонентного средства, предназначенного для профилактики и коррекции последствий потребления табака. На одном из этапов токсикологических исследований оценено влияние многократного приема данной композиции на состояние периферической крови лабораторных животных (крыс). По результатам 30- и 60-суточных экспериментов выявлены немногочисленные изменения отдельных гематологических параметров в зависимости от срока затравки и дозы препарата. Характер этих изменений позволяет предположить, что они являются адаптивной реакцией организма на продолжительное воздействие комплекса ксенобиотиков с разнонаправленным действием. Оценка гематологического статуса животных на обоих контрольных сроках эксперимента, глубина и транзиторность выявленных изменений свидетельствуют об отсутствии выраженного токсического действия исследуемой композиции при ее длительном применении.

Ключевые слова: антитабачные средства; гематологические показатели.

ANALYSIS OF CHANGES OF THE RATS' PERIPHERAL BLOOD WITH PROLONGED EXPOSURE TO VARIOUS DOSE MULTICOMPONENT MEANS

A. V. ADAMOVICH^a, E. A. RIMZHA^b, G. V. SHERSTYUK^b, N. V. DUDCHIK^a

^aScientific practical centre of hygiene, Akademichnaja Street, 8, 220012, Minsk, Belarus

^bBelarusian Medical Academy of Post-graduate Education,
P. Brovki Street, 3/3, 220013, Minsk, Belarus

Corresponding author: A. V. Adamovich (sona_seg@mail.ru)

The article presents results of studying potential toxicity of the original multicomponent composition for prevention and correction of tobacco use effects. At one of the toxicological studies stages, the effect of multiple intake of this composition on the state of peripheral blood of laboratory animals (rats) was evaluated. The results of 30- and 60-day experiments revealed a few changes in individual hematological parameters, which depended on the admission

Образец цитирования:

Адамович А. В., Римжа Е. А., Шерстюк Г. В., Дудчик Н. В. Анализ изменения состава периферической крови крыс при длительном воздействии различных доз многокомпонентного средства // Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология. 2017. № 2. С. 31–35.

For citation:

Adamovich A. V., Rimzha E. A., Sherstyuk G. V., Dudchik N. V. Analysis of changes of the rats' peripheral blood with prolonged exposure to various dose multicomponent means. *J. Belarus. State Univ. Biol.* 2017. No. 2. P. 31–35 (in Russ.).

Авторы:

Анна Валерьевна Адамович – младший научный сотрудник.

Елена Андреевна Римжа – доктор медицинских наук; главный научный сотрудник.

Галина Валентиновна Шерстюк – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник.

Наталья Владимировна Дудчик – доктор биологических наук; заведующий лабораторией микробиологии.

Authors:

Anna Adamovich, junior researcher.
sona_seg@mail.ru

Elena Rimzha, doctor of science (medicine); chief researcher.

Galina Sherstyuk, PhD (biology); leading researcher.
cnil@belmapo.by

Natallia Dudchik, doctor of science (biology); head of the laboratory of microbiology.
rspch@rspch.by

duration and the dose of the drug. The character of the changes suggests that they are an adaptive response of the body to the long-term influence of a complex of xenobiotics with a multiple effects. In general, assessment of the animals' hematologic status on the both experimental dates, the depth and temporality of the revealed changes indicate the absence of a pronounced toxic effect of the composition at its long-term use.

Key words: antinicotine composition; hematologic parameters.

Борьба с употреблением и, в частности, курением табака многие годы является предметом широкого обсуждения и при этом не теряет своей актуальности. Среди наиболее острых проблем, характерных в настоящее время и для Беларуси, следует отметить увеличение доли курящих среди подростков и молодежи, снижение возраста начала курения, расширение ассортимента табачных изделий, а также способов их употребления [1; 2].

По данным выборочного обследования домашних хозяйств по уровню жизни, в Беларуси на начало 2015 г. доля курящего населения в возрасте 16 лет и старше достигла 24,4 %, при этом среди мужчин она составила 45,8 %, среди женщин – 9,3 % [3]. Среди подростков в возрасте 13–15 лет, по данным обследования Global Youth Tobacco Survey (GYTS) 2015 г., курильщиками табака являлись 9,4 % опрошенных, причем среди девушек их больше, чем среди юношей (9,9 и 8,9 % соответственно) [4]. Однако, если учесть респондентов, куривших ранее, но на момент опроса не ассоциирующих себя с таковыми, либо имевших опыт курения, эта цифра заметно возрастет.

Кроме того, в молодежной среде все большую популярность приобретают такие продукты, как спайс и иные курительные смеси, а также некурительные табачные изделия (насвай, снюс и др.), употребление которых, особенно в молодом возрасте, может привести к еще более выраженным негативным последствиям для здоровья, чем использование традиционных табачных изделий [4; 5].

Подобная ситуация требует создания адекватных медико-социальных программ и своевременно проведения мероприятий, призванных снизить потребление табака. Согласно стратегии Всемирной организации здравоохранения [1] подобные программы предполагают разработку комплекса мер, направленных, с одной стороны, на предупреждение начала табакопотребления, а с другой – на его прекращение.

В то же время существующий арсенал методов и средств лечения зависимости от никотина ориентирован преимущественно на взрослый контингент курильщиков, имеющих многолетний стаж курения и физическую никотиновую зависимость, и зачастую является неприемлемым для подростков и молодежи. Поэтому по-прежнему весьма актуальной остается проблема, связанная с разработкой новых лечебно-профилактических средств, способствующих снижению и/или прекращению табакопотребления и предназначенных для лиц молодого возраста, у которых еще не были обнаружены значительные сдвиги метаболизма под действием никотина и прочих компонентов табачных изделий.

Материалы и методы исследований

В рамках выполнения задания Государственной комплексной научно-технической программы (ГКНТП) «Современные технологии в медицине» разработана рецептура жевательной композиции, предназначенной для минимизации последствий потребления табака. Она включает в себя глицин, 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат, витамины B1, B2, B9, C и E, а также комплекс фитокомпонентов адаптогенного действия [6].

На одном из этапов исследования безопасности лабораторных образцов антеникотиновой композиции для лиц молодого возраста было оценено влияние длительного приема средства на гематологический статус подопытных животных.

В целях исследования использовались половозрелые белые крысы, на протяжении опыта находившиеся в условиях стационарного вивария научно-исследовательской лаборатории Белорусской медицинской академии последиplomного образования в соответствии с требованиями, рекомендациями и правилами биоэтики. Для формирования подопытных групп (по 7–8 особей) были отобраны животные без видимых признаков заболевания, охотно поедавшие корм, с гладким и блестящим шерстным покровом.

В течение 30 или 60 суток животным ежедневно вместе с пищей скармливали разработанную композицию в предполагаемой терапевтической дозировке 160 мг/кг (группы 1 и 4), а также в дозировках, превышающих ее в два и три раза, – 320 мг/кг (группы 2 и 5) и 480 мг/кг (группы 3 и 6) соответственно. Контрольная группа, состоявшая из интактных животных, на протяжении эксперимента находилась в аналогичных условиях содержания и на идентичном пищевом рационе.

По окончании эксперимента животных выводили из опыта путем одномоментной декапитации на фоне тиопенталового наркоза с последующим взятием биоматериала (цельная кровь) для дальнейшего гематологического анализа.

Количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов и их гистограммы определяли кондуктометрическим методом на автоматическом анализаторе крови Medonic CA 620 (Boule Medical AB, Швеция). Гематологический статус оценивали с помощью следующих показателей:

- гематокрит (HCT, %);
- количество эритроцитов (RBC, $n \cdot 10^{12}/л$);
- ширина распределения эритроцитов (RDW, % и RDW_a, фл);
- среднеклеточный объем эритроцита (MCV, фл);
- количество лейкоцитов (WBC, $n \cdot 10^9/л$);
- количество тромбоцитов (PLT, $n \cdot 10^9/л$);
- тромбоцитокрит (PCT, %);
- средний объем тромбоцита (MPV, фл);
- ширина распределения тромбоцитов (PDW, %);
- концентрация гемоглобина (HGB, г/л);
- среднеклеточный гемоглобин (MCH, пг);
- среднеклеточная концентрация гемоглобина (MCHC, г/л);
- скорость оседания эритроцитов (СОЭ, мм/ч).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением программного пакета Statistica 8.0. Для сопоставления данных (с учетом размера и характера выборок) был использован тест Краскела – Уоллиса с последующим множественным сравнением ранговых средних (*multiple comparisons of mean ranks for all groups*). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха – Me (LQ – UQ).

Результаты исследования и их обсуждение

Визуальный и морфометрический мониторинг состояния подопытных крыс показал, что многократное пероральное поступление исследуемой композиции не приводило к заметным изменениям во внешнем виде и поведении животных.

Результаты исследования образцов крови подопытных животных представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Основные показатели крови подопытных крыс после 30-суточного эксперимента (Me (LQ – UQ))

Table 1

The main blood indices of experimental rats' after a 30-day experiment (Me (LQ – UQ))

Показатели	Контрольная группа	Группа 1	Группа 2	Группа 3
		Дозировка средства, мг/кг		
		160	320	480
RBC	8,1 (7,7; 8,3)	8,3 (7,8; 8,6)	7,0 (6,8; 7,5)	8,2 (7,9; 8,3)
MCV	46,4 (45,5; 47,5)	47,5 (45,8; 48,6)	49,3 (48,6; 50,3)*	45,5 (44,5; 47,0)
RDW%	15,2 (14,4; 15,7)	14,9 (13,6; 15,6)	14,6 (14,0; 17,4)	15,4 (15,0; 15,9)
RDW _a	41,9 (40,9; 43,5)	42,4 (41,3; 43,1)	44,7 (43,9; 46,1)	41,2 (39,5; 42,5)
HCT	37,5 (35,6; 38,1)	39,4 (37,7; 41,3)	34,7 (33,0; 36,6)	37,0 (36,2; 37,8)
PLT	530,5 (402,5; 650,5)	511,0 (237,0; 583,0)	475,0 (306,0; 619,0)	443,5 (424,0; 514,5)
MPV	6,5 (6,4; 6,65)	6,6 (6,5; 6,7)	6,9 (6,5; 7,0)	6,8 (6,4; 6,9)
PDW%	8,5 (8,4; 8,7)	8,8 (8,5; 9,2)	9,0 (8,4; 9,2)	8,9 (8,4; 9,1)
PCT	0,34 (0,26; 0,41)	0,34 (0,15; 0,37)	0,30 (0,21; 0,40)	0,30 (0,27; 0,35)
WBC	4,4 (3,4; 5,35)	5,1 (5,0; 5,8)	5,6 (4,9; 7,1)	5,8 (4,9; 6,8)
HGB	140,5 (133,0; 143,0)	141,0 (136,0; 146,0)	129,0 (121,0; 133,0)	137,0 (134,5; 139,5)
MCH	17,3 (17,0; 17,6)	17,0 (16,5; 17,6)	18,0 (17,9; 18,7)	16,9 (16,5; 17,3)
MCHC	374,0 (371,5; 376,0)	362,0 (358,0; 366,0)**	365,0 (358,0; 371,0)	369,0 (368,0; 372,5)
СОЭ	2,0 (1,0; 3,0)	2,0 (1,0; 3,0)	1,0 (1,0; 2,0)	2,5 (2,0; 3,0)

*Изменения статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p \leq 0,05$; ** при $p \leq 0,01$.

Как видно из табл. 1, по итогам 30-суточной затравки у подопытных животных были выявлены немногочисленные отклонения отдельных гематологических показателей по сравнению с интактным контролем.

В группе, получавшей средство в дозировке 160 мг/кг в течение месяца, среднечеточная концентрация гемоглобина снизилась.

Анализ композиции в дозировке 320 мг/кг выявил статистически значимое увеличение среднечеточного объема эритроцита. При этом можно отметить тенденцию к изменению и других показателей, характеризующих эритроцитарный компонент крови. В частности, несколько уменьшилось количество эритроцитов и значение связанного с ним показателя гематокрита.

В то же время при расчете параметров описательной статистики для этой группы животных обнаружены достаточно высокие по сравнению с другими группами значения стандартного отклонения по описанным и ряду других показателей, что свидетельствует о некотором разбросе данных внутри выборки. При ближайшем рассмотрении была выявлена особь с несколько отличающимся гематологическим статусом (разница по некоторым показателям относительно медианы по группе достигала 100 % и более). При расчете статистических параметров группы 2 (без учета данных по «выпадающей» особи) по приведенным показателям были получены следующие данные, статистически значимо не отличавшиеся от контроля: RBC – 7,1 (6,9; 7,8); MCV – 49,1 (48,6; 50,3); HCT – 35,3 (34,0; 36,6). Пересчет по оставшимся показателям гемограммы также не выявил каких-либо статистически значимых отклонений.

Анализ полученных данных позволил сделать вывод о том, что длительное воздействие исследуемой композиции в дозировке 320 мг/кг не приводило к заметным изменениям гематологического статуса подопытных животных. Однако, принимая во внимание «выпадающие» результаты, необходимо учитывать возможность развития индивидуальной реакции на разработанное средство (например, аллергической или обусловленной характером метаболизма конкретного организма), особенно в связи с многокомпонентностью его состава.

Результаты двухмесячной затравки (табл. 2) также свидетельствуют об отсутствии серьезных изменений в гемограммах подопытных животных. Гематологические показатели, по которым были отмечены статистически значимые изменения после месячной затравки, по истечении двух месяцев эксперимента были сопоставимы с контрольными значениями.

Таблица 2

Основные показатели крови подопытных крыс после 60-суточного эксперимента (Me (LQ – UQ))

Table 2

The main blood indices of experimental rats' after a 60-day experiment (Me (LQ – UQ))

Показатели	Контрольная группа	Группа 4	Группа 5	Группа 6
		Дозировка средства, мг/кг		
		160	320	480
RBC	8,1 (7,7; 8,3)	8,3 (8,1; 8,4)	7,5 (6,9; 7,6)	7,8 (7,6; 7,9)
MCV	46,4 (45,5; 47,5)	46,4 (43,9; 48,3)	48,6 (48,0; 49,5)	45,9 (45,2; 46,7)
RDW%	15,2 (14,4; 15,7)	15,6 (15,2; 16,1)	13,1 (12,9; 13,5)*	15,3 (14,6; 15,6)
RDWa	41,9 (40,9; 43,5)	41,8 (39,7; 43,2)	42,5 (41,9; 44,0)	41,2 (40,9; 41,5)
HCT	37,5 (35,6; 38,1)	37,3 (36,2; 38,9)	35,7 (34,1; 36,6)	35,7 (34,9; 36,3)
PLT	530,5 (402,5; 650,5)	578,5 (208,0; 657,0)	591,5 (508,5; 660,5)	544,0 (451,0; 656,0)
MPV	6,5 (6,4; 6,65)	6,9 (6,8; 7,0)	6,5 (6,5; 6,7)	6,7 (6,5; 6,9)
PDW%	8,5 (8,4; 8,7)	9,1 (8,9; 9,5)*	8,5 (8,4; 8,6)	8,5 (8,5; 8,9)
PCT	0,34 (0,26; 0,41)	0,39 (0,14; 0,45)	0,39 (0,33; 0,44)	0,40 (0,33; 0,42)
WBC	4,4 (3,4; 5,35)	7,5 (5,3; 9,5)	5,0 (4,4; 6,5)	5,7 (5,4; 7,1)
HGB	140,5 (133,0; 143,0)	138,0 (130,0; 144,0)	133,0 (128,0; 136,5)	133,0 (130,0; 137,0)
MCH	17,3 (17,0; 17,6)	17,1 (16,1; 17,6)	18,1 (17,8; 18,6)	17,3 (16,9; 17,5)
MCHC	374,0 (371,5; 376,0)	365,0 (361,0; 370,0)	373,0 (372,0; 374,5)	375,0 (372,0; 377,0)
COЭ	2,0 (1,0; 3,0)	4,0 (3,0; 6,0)	1,0 (1,0; 2,0)	2,0 (2,0; 3,0)

*Изменения статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p \leq 0,05$.

Среди всех исследованных групп статистически значимые отличия были отмечены только у животных группы 4 (160 мг/кг) и выражались в увеличении ширины распределения тромбоцитов (PDW), что свидетельствует о гетерогенности популяции тромбоцитов. В то же время остальные показатели, характеризующие данную популяцию клеток, статистически значимо не отличались от контрольных.

У животных группы 5 статистически значимо снизился коэффициент анизотропии (RDW%). Значимых отличий у животных, получавших препарат в дозировке 480 мг/кг, как и в случае 30-суточной заправки, выявлено не было.

Таким образом, длительное (на протяжении двух месяцев) воздействие композиции во всех исследованных дозировках не приводило к заметному изменению гематологического статуса подопытных животных.

Заключение

Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод о том, что изменения, выявленные в ходе обоих этапов эксперимента, не являются показателем выраженного токсического влияния исследуемой композиции. Вероятнее всего, они обусловлены адаптивной реакцией организма на длительное воздействие комплекса ксенобиотиков (фармпрепараты, активные вещества фитокомпонентов, входящих в состав композиции) с разнонаправленным действием. В пользу этого предположения свидетельствуют транзиторность описанных явлений и их самостоятельная нормализация ко второму контрольному сроку эксперимента. Более стабильные гематологические показатели, характерные для групп животных, получавших высокие дозы композиции, также подтверждают данное предположение, поскольку с учетом интенсивной ксенобиотической нагрузки адаптация к длительному воздействию композиции, а следовательно, и основные реактивные изменения могли произойти раньше, т. е. до истечения 30 суток.

Библиографические ссылки

1. Рамочная конвенция ВОЗ по борьбе против табака [Электронный ресурс]. URL: http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9789244591017_rus.pdf?ua=1 (дата обращения: 11.02.2016).
2. Паксютова В. В. Успешная мотивация отказа от курения и поддерживающие ее факторы // Контроль над табаком и общественное здоровье в Восточной Европе. 2011. Т. 1, № 1. С. 45–46.
3. В Беларуси курит 24,4 % населения // БЕЛТА [Электронный ресурс]. URL: <http://www.belta.by/society/view/v-belarusi-kurit-244-naselenija-3700-2015> (дата обращения: 11.02.2016).
4. Пронина Т. Н., Сычик С. И., Грекова Н. А. и др. К вопросу о табакокурении современных подростков в Республике Беларусь // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / гл. ред. С. И. Сычик. Минск, 2016. Вып. 26. С. 97–102.
5. Андрианова Е. В., Тарасова А. Н. Наркотизм как индикатор аномии современного общества // Вестн. ЧелГУ. 2012. № 35, вып. 28. С. 56–65.
6. Жевательная композиция с антитабачным эффектом : пат. 10681 C1 Респ. Беларусь, МПК (2006) А 61 К 9/68 А 61 Р 25/00 / Е. А. Римжа, А. В. Бокач, И. В. Тарасюк ; заявитель ГУО «БелМАПО». № а 20061110 ; заявл. 09.11.06 // Афц. бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. 2008. № 3. С. 59.

References

1. [WHO's Framework Convention on Tobacco Control]. URL: http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9789244591017_rus.pdf?ua=1 (date of access: 11.02.2016) (in Russ.).
2. Paksyutova V. V. Successful motivation of giving up smoking and factors supporting it. *Tobacco control and public health in Eastern Europe*. 2011. Vol. 1, No. 1. P. 45–46 (in Russ.).
3. [In Belarus, 24.4 % of the population smokes]. *BELTA*. URL: <http://www.belta.by/society/view/v-belarusi-kurit-244-naselenija-3700-2015> (date of access: 11.02.2016) (in Russ.).
4. Pronina T. N., Sychyk S. I., Grekova N. A., et al. The issue of tobacco use among adolescents in the Republic of Belarus. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* : sb. nauchn. tr. Minsk, 2016. Issue 26. P. 97–102 (in Russ.).
5. Andrianova E. V., Tarasova A. N. [Narcotism as an indicator of anomie modern society]. *Vestnik Chelyabinskogo gos. univ.* 2012. No. 35, issue 28. P. 56–65 (in Russ.).
6. Rimzha E. A., Bokach A. V., Tarasyuk I. V. Gum composition with anti-nicotine effect. Patent 10681 C1 Resp. Belarus, A 61 K 9/68 A 61 P 25/00/. *Aficyjny bjul. Nac. centr intelektual. ulasnasci*. 2008. No. 3. P. 59 (in Russ.).

Статья поступила в редакцию 30.03.2016.
Received by editorial board 30.03.2016.