


«УТВЕРЖДАЮ»
и.о. директора ИУФФИ фармакологии ТНЦ СО РАМН
Академик РАН  А.М. Дыгай
06 2008 г.



ОТЧЕТ

об изучении гемостимулирующей активности
препарата иммобилизованных олигонуклеотидов
на модели цитостатической миелосупрессии

Томск - 2008

Актуальность.

Назначение цитостатических препаратов является неотъемлемой частью полноценного комплексного лечения онкологических больных [Горбачева Л.Б и др., 1982, Блохин Н.Н., Переводчикова Н.И., 1984; Булкина З.П., 1991; Гершанович М.Л и др., 1999; Переводчикова Н.И., 1993, 2001; Давыдов М.И., Барышников А.Ю., 2003]. В то же время особенностью химиотерапии опухолей является близкая сопряженность лечебного и токсического эффектов. Токсичность цитостатиков многообразна, но одним из наиболее распространенных и опасных ее видов является миелотоксичность [Lohrman N.P., Schreml W., 1982; Блохин Н.Н., Переводчикова Н.И., 1984; Гарин А.М., Хлебнов А.В., 1995; Hockel M., e.a., 1996; Гершанович М.Л. и др., 1999; Переводчикова Н.И. 2001]. Характерным гематологическим недугом у онкологических больных выступает также анемия, которая развивается не только в результате опухолевой прогрессии, но и как следствие проводимой химиотерапии, особенно при назначении препаратов платины [Skillings JR., 1993; Barrett-Lee PJ., 2000; Зак К.П., Грыцук С.Н., 2001; Бредер В.В. и др., 2002; Littlewood TJ., Collins GR., 2007; Woo S.e.a., 2007]. Анемия значительно ухудшает качество жизни пациентов, снижает их сопротивляемость к инфекциям и другим осложнениям проводимого лечения [Moulet I. e.a., 1998; Groopman JE., Itri J., 1999; Beutel G., Ganser A., 2007].

Долгое время борьба с миелодепрессией после назначения противоопухолевых препаратов носила симптоматический характер и включала в себя антибиотикотерапию возникших инфекционных осложнений [Гершанович М.Л. и др, 1982, 1999, Skillings JR e.a., 1993; Mercuriali F., 1997; Jones D.V. e.a., 1998; Groopman J.E., Itri M., 1999]. Клиническое применение известных до недавнего времени гемостимуляторов показало, что при выраженных миелосупрессиях они малоэффективны либо обладают целым рядом неблагоприятных побочных эффектов. К числу таких препаратов относятся неспецифические протекторы гемопоэза (зимозан, спленин, витамины С, В₁, В₆, экстракт элеутерококка), гормоны, соли лития [Byron JW., 1970; Greco F.A., Breton H.D., 1977; Rothstein G. e.a., 1978; Алмазов В.А. и др., 1981; Гершанович М.А., 1982; Закенфельд Г.К., 1985; Мороз Б.Б. и др., 1986; Patchen ML., Mac Vittie T.J., 1985]. Трансфузия тромбоконцентрата и эритроцитарной массы, обычно применяемая для коррекции соответственно при тромбоцитопении и анемизации, позволяет быстро восполнить число циркулирующих эритроцитов и незаменима при угрожающих жизни состояниях [Mercuriali F., 1997; Бредер В.В. и др, 2002]. Однако анемия злокачественного процесса носит хронический характер, а частые гемотрансфузии существенно повышают риск возникновения побочных эффектов, таких как передача вирусных инфекций,

аллергические и иммунологические реакции [Brunson ME., 1990; Skillings JR., 1993; Barrett-Lee PJ., 2000; Птушкин В.В., 2002].

С патогенетических позиций весьма перспективными для клинического применения можно считать препараты качественно нового типа, созданные на основе эндогенных регуляторов гемопоэза (в частности колониестимулирующие факторы, интерлейкины, эритропоэтин). Преимущества таких лекарственных средств обусловлены их исключительно высокой активностью и возможностью дифференцированного подхода к терапии цитостатических миелосупрессий [Moore M.A.S., Warren D.I. 1987; Moore M.A., 1989; Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В., Гольдберг В.Е., 2001; Glaspy J.A., 2003]. Используя препараты этой группы возникает возможность целенаправленного воздействия на основное звено патогенеза соответствующего гематологического расстройства.

В ряду наиболее перспективных гемопоэтинов оказался дезоксинат. Он является натриевой солью дезоксирибонуклеиновой кислоты, получаемой из молок осетровых рыб и частично деполимеризованной с помощью ультразвука до молекулярной массы $2,7 - 4,0 \cdot 10^5$ дальтон. По данным экспериментов дезоксинат оказывает лечебное действие при острой лучевой болезни II - III степени тяжести и при гипо- и апластических состояниях системы крови, вызванных лучевой или полихимиотерапией. Быстрый лейкостимулирующий эффект после однократной внутримышечной инъекции дезоксината наблюдается у онкологических больных с лейкопениями III и угрожающей жизни IV степени («Фебрильной нейтропении»), вызванными применением полихимиотерапии или комбинированным полихимиолучевым лечением. В первую очередь отмечается возрастание абсолютного числа гранулоцитов в периферической крови в 5-7 раз. Одновременно под влиянием препарата в крови наблюдается рост абсолютного числа лимфоцитов и нормализация содержания тромбоцитов при тромбоцитопениях I-IV степени того же происхождения. Одноразовое внутримышечное введение дезоксината в течение первых 24 ч после тотального воздействия ионизирующего излучения на организм облегчает в эксперименте течение лучевой болезни, ускоряет начало и темп восстановления стволовых клеток в костном мозге, а также миелоидного, лимфоидного и тромбоцитарного ростков кроветворения. При этом повышается вероятность благоприятных исходов лучевой болезни. Предполагается, что вследствие поступления дезоксината в поврежденную цитостатиками или ионизирующим излучением кроветворную ткань происходит усиление синтеза нуклеиновых кислот, что приводит к увеличению темпов деления гемопоэтических

клеток-предшественников и, как следствие, ускоренному восстановлению клеточности ростков кроветворения.

Адресная доставка лекарственных средств через слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта – одна из важных проблем современной фармакологии. Использование нанотехнологий радиационного синтеза и гамма излучения для иммобилизации молекул лекарственного средства на носителях низкой молекулярной массы препятствует их деградации в гастроинтестинальном отделе пищеварительного тракта и создает условия для транспорта через ячейки слизистой кишечника в кровоток. Применение этой уникальной технологии позволяет создавать водорастворимые конъюгаты полимеров и белковых фармакологических препаратов размерами 20-100 нм, обладающих повышенной биодоступностью при энтеральном приеме и сохраненной фармакологической активностью и терапевтической эффективностью.

В связи с вышесказанным, представляется весьма перспективным изучение возможности использования в медицинской практике препарата иммобилизованных олигонуклеотидов, разработанного в ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии», представляющего собой натриевую соль дезоксирибонуклеиновой кислоты, которая иммобилизована на полиэтиленгликоле низкой молекулярной массы с использованием оригинальной технологии (электронно-лучевое воздействие). Повышенная биодоступность такого препарата предполагает возможность его применения путем приема внутрь.

Цель работы.

Исследовать гемостимулирующую активность препарата «Иммобилизованных олигонуклеотидов» на модели цитостатической миелосупрессии.

Задачи исследования.

1. Изучение влияния препарата «Иммобилизованных олигонуклеотидов» на белую кровь и периферическое звено эритрона в условиях введения 5-фторурацила.
2. Изучение влияния препарата «Иммобилизованных олигонуклеотидов» на развитие миелосупрессии в условиях введения 5-фторурацила.

Материал и методы исследования.

Животные: В экспериментах использовано 250 мышей линии СВА/СaLac массой 18-20 г. в возрасте 1,5 – 2 мес.

Животные, конвенциональные линейные мыши 1-й категории, получены из питомника ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (имеется сертификат ГУ Научного центра биомедицинских технологий РАМН № 188-05). Содержание мышей осуществляли в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Мыши находились по 10-15 особей в пластиковых клетках фирмы VELAZ на подстилке из мелкой древесной стружки. Температура воздуха в виварии 20-22⁰ С, влажность – не более 50%, объем воздухообмена (вытяжка/приток) – 8:10, световой режим (день/ночь) – 1:1. Кормление животных – дважды в день. Корм – специальные гранулы с минеральными и витаминными добавками и каша из круп. Содержание животных соответствует правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Цитостатическую миелосупрессию моделировали однократным, внутрибрюшинным введением животным раствора фторпиримидинового антиметаболита 5-фторурацила в 1/3 МПД (76 мг/кг).

Группы и исследуемые препараты:

1. Интактный контроль.
2. Введение 5-фторурацила (76 мг/кг однократно внутрибрюшинно) – цитостатический контроль.
3. Введение 5-фторурацила (76 мг/кг однократно внутрибрюшинно) и препарата иммобилизованных олигонуклеотидов (10 мг/кг/день per os 1 раз в день в течение 10 суток) – опыт 10.
4. Введение 5-фторурацила (76 мг/кг однократно внутрибрюшинно) и препарата иммобилизованных олигонуклеотидов (50 мг/кг/день per os 1 раз в день в течение 10 суток) – опыт 50.
5. Введение 5-фторурацила (76 мг/кг однократно внутрибрюшинно) и препарата иммобилизованных олигонуклеотидов (250 мг/кг/день per os 1 раз в день в течение 10 суток) – опыт 250.

Дизайн исследования:

После получения из питомника мыши проходили карантин в течение 7 дней. Первый день эксперимента обозначался как «день 0», общий период наблюдения составлял 14 дней. 5-фторурацил вводился в 0-й день исследования. Препарат иммобилизованных олигонуклеотидов вводился мышам per os ежедневно с 1 по 10-й день исследования.

На 3, 5, 7, 9, 11 и 13 день эксперимента у опытных и контрольных мышей с помощью автоматического гематологического анализатора ABACUS (Diatron, Австрия) в ветеринарном режиме оценивали состояние периферического звена системы эритрона (содержание гемоглобина, количество эритроцитов, гематокрит, среднюю корпускулярную концентрацию гемоглобина). Далее общепринятыми методами изучали содержание ретикулоцитов, различных форм лейкоцитов в периферической крови [В.В. Меньшиков, 1987]. После умерщвления методом кранио-цервикальной дислокации под эфирным наркозом оценивалось общее количество миелокариоцитов и абсолютное содержание клеточных элементов отдельных ростков гемопоэза в костном мозге [Е.Д. Гольдберг и др., 1992].

Статистическую обработку результатов проводили методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента и методом непараметрической статистики Вилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение.

В ходе экспериментов было показано, что введение препарата иммобилизованных олигонуклеотидов во всех исследуемых дозах существенно изменяло характер восстановления гемопоэза, подавленного 5-фторурацилом. Так, препарат усугублял лейкопению в периферической крови в период миелосупрессии на 3, 5, 7-е сутки наблюдения, что было связано преимущественно с падением числа лимфоцитов (табл. 5, 6, 7, 8). При этом на 5-е сутки у мышей с иммобилизованными олигонуклеотидами в дозе 50 мг/кг развивалась нейтрофильная лейкопения. Следует отметить, что увеличение дозы препарата до 250 мг/кг вызывало статистически достоверное увеличение содержания сегментоядерных нейтрофилов на 103,8 % выше величины показателя в цитостатическом контроле. Иммобилизованные олигонуклеотиды способствовали значительному приросту абсолютного количества лейкоцитов в периферической крови в период постцитостатического восстановления гемопоэза (9, 11, 13-е сутки). Обнаруженный в опыте лейкоцитоз был следствием накопления числа лимфоцитов и нейтрофилов в указанные сроки. Примечательно, что наиболее существенное увеличение величин указанных показателей имело место у животных с препаратом в дозах 50 мг/кг и 250 мг/кг.

Иммобилизованные олигонуклеотиды вносили определенные изменения и в динамику содержания ретикулоцитов. Однако обнаруженные изменения во всех опытных группах качественно не влияли на ретикулоцитопению с 3-х по 9-е сутки эксперимента (табл. 9). К концу эксперимента препарат повышал поступление незрелых

эритроидных клеток в кровь: в опыте 50 на 11, 13-е сутки эксперимента, в опыте 250 на 13-е сутки. Указанные сдвиги сопровождались падением количества эритроцитов и гемоглобина (7, 13-е сутки), а также увеличением количества тромбоцитов (9, 13-е сутки) (табл. 10, 11, 12, 13). При чем более выраженные изменения данных показателей наблюдались у животных, получавших препарат в дозе 250 мг/кг.

Определенные изменения наблюдались и в динамике содержания морфологически распознаваемых нуклеаров в кроветворной ткани. Так, курсовое введение препарата иммобилизованных олигонуклеотидов в дозах 50 и 250 мг/кг увеличивало содержание незрелых (соответственно на 11-е и 5-е сутки) и зрелых (соответственно на 11, 13-е и 7-е сутки) форм нейтрофильных гранулоцитов в сравнении с аналогичными параметрами цитостатического контроля (табл. 1, 2, 3, 4). В опыте 10 прирост зрелых нейтрофилов наблюдался только на 13-е сутки. Во всех опытных группах отмечались мало выраженные колебания уровней содержания эритрокариоцитов в костном мозге на протяжении всего периода исследования. Исключение составила группа животных с препаратом в дозе 50 мг/кг, где на 11-е сутки имело место статистически достоверное повышение представительства эритроидных клеток. Неоднозначные сдвиги были обнаружены со стороны динамики содержания лимфоцитов. Препарат иммобилизованных олигонуклеотидов в сроки развития миелосупрессии увеличивал клеточность лимфоидного ростка кроветворения, в период активной регенерации кроветворной ткани имело место уменьшение содержания лимфоцитов. Следует отметить, что модулирующее действие в опыте 250 выражено наиболее, чем у животных с препаратом в дозах 10 мг/кг и 50 мг/кг.

Таким образом, препарат иммобилизованных олигонуклеотидов обладает умеренным гемостимулирующим действием при угнетении гемопоэза 5-фторурацилом. При этом в дозе 250 мг/кг препарат эффективен в период ингибиции и восстановления кроветворения, в дозах 50 и 10 мг/кг – в период регенерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алмазов В.А., Афанасьев Б.В., Зарицкий А.Ю., Шишков А.Л.. Лейкопении. – Л.: Медицина, 1981. – 240 с.
2. Блохин Н.Н., Переводчикова Н.И. Химиотерапия опухолевых заболеваний. – М.: Медицина, 1984. – 303 с.
3. Бредер В.В., Горбунова В.А., Бесова Н.С. Анемия при злокачественных опухолях // Современная онкология. – 2002. – Том 4, № 3. – С. 12-18.

4. Булкина З.П. Противоопухолевые препараты. – Киев: Наукова думка, 1991. – 304 с.
5. Гарин А.М., Хлебнов А.В. Справочник практической химиотерапии опухолей. – М., 1995. – 304 с.
6. Гершанович М.Л. Осложнения при химио- и гормонотерапии злокачественных опухолей. – М.: Медицина, 1982. – 224 с.
7. Гершанович М.Л., Филов В.А., Акимов М.А., Акимов А.А. Введению в фармакотерапию злокачественных опухолей // Санкт_петербург, 1999. – 143 с.
8. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. – Томск: Изд-во ТГУ, 1992. – 272 с.
9. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В., Гольдберг В.Е. Динамическая теория регуляции кроветворения и роль гемопозиндуцирующего микроокружения в регенерации гемопоза в условиях цитостатических миелосупрессий // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – Приложение № 3. – С. 5-15.
10. Горбачева Л.Б., Горьков В.А., Чернов В.А., Шнятая О.К. Химиотерапия злокачественных новообразований // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Онкология. – 1982. – Т.12. – 320 с.
11. Давыдов М.И., Барышников А.Ю. Экспериментальная онкология на рубеже веков. – Москва, 2003. – 552 с.
12. Зак К.П., Грыцюк С.Н. Эритропоэтины в онкологии // Онкология. – Том 3. – № 2-3. – 2001. – С. 107-110.
13. Закенфельд Г.К. К механизму иммуномодулирующего действия зимозана // Неспецифические стимуляторы в иммунотерапии опухолей. – Рига, 1985. – С. 80-103.
14. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
15. Мороз Б.Б., Дешевой Ю.Б., Цыбанев О.А. Влияние карбоната лития на пострadiационное восстановление системы крови в эксперименте // Гематология и трансфузиология. – 1986. – № 10. – С. 25-29.
16. Переводчикова Н.И. Противоопухолевая химиотерапия. – М.: Медицина, 1993. – 223 с.
17. Переводчикова Н.И. Место химиотерапии в системе лечения онкологических больных и выбор терапевтической тактики // Современная онкология. – Том 3. – № 2. – 2001.

18. Птушкин В.В. Совершенствование методов поддерживающей терапии при проведении цитостатической терапии при проведении цитостатического лечения // Современная онкология. – 2002 - № 4. - № 2. – с. 15-21.
19. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.: ил.
20. Barrett-Lee PJ., Bailey NP., O'Brien ME., Wager E. Large-scale UK audit of blood transfusion requirements and anaemia in patients receiving cytotoxic chemotherapy // Br J Cancer. – 2000. – Vol. 82, N. 1. – P. 93-97.
21. Beutel G., Ganser A. Risks and benefits of erythropoiesis-stimulating agents in cancer management // Semin Hematol. – 2007. – Vol. 44, N 3. – P. 157-165.
22. Brunson ME., Alexander JW. Mechanisms of transfusion-induced immunosuppression // Transfusion. – 1990. – Vol. 30, N 7. – P. 651-658.
23. Byron J.W. Effect of steroids on the cycling of haemopoietic stem cell // Nature. - 1970. - Vol. 228. - P. 1204.
24. Glaspy J.A. Hematopoietic management in oncology practice. Part 1. // Myeloid growth factors Oncology (Huntingt). – 2003. – Vol. 17. - № 11. – P. 1593-1603.
25. Greco F.A., Breton H.D. Effect of lithium carbonate on the neutropenia caused by chemotherapy: a preliminary clinical trial // Oncology. - 1977. - Vol. 34. - P. 153-155.
26. Groopman JE., Itri LM. Chemotherapy-induced anemia in adults: incidence and treatment // J Natl cancer Inst. – 1999. – Vol. 91, N. 19. – P. 1616-1634.
27. Hockel M, Schlenger K, Aral B, Mitze M, Schaffer U, Vaupel P. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix.// Cancer Res. – 1996. – Vol. 56, № 19. – P. 4509-4515.
28. Jones D.V., Ashby M., Vadhan-Raj S. e.a. Recombinant human thrombopoietin clinical development / Stem Cells. – 1998. – Vol. 16, Suppl. 2. – P. 199-206.
29. Littlewood TJ., Collins GP. Granulocyte and erythropoietic stimulating proteins after high-dose chemotherapy for myeloma // Bone marrow transplant. – 2007. - Epub ahead of print.
30. Lohrmann H.P., Schreml W. Cytotoxic drugs and the granulopoietic system. – Berlin: Springer-Verlag, 1982. – 224 p.
31. Mercuriali F. The role of human recombinant erythropoietin in oncologic surgery // Tumori. – 1997. – Vol. 83, N. 4, Suppl. 2. – P. 16-19.
32. Moore M.A.S. Role of interleukin-1 in hematopoiesis // Immunol. Res. – 1989- Vol. 8 – N 3 – P. 165-175

33. Moore M.A.S., Warren D.I. Synergy of interleukin-1 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in vitro stimulation of stem cell recovery and hematopoietic regeneration following 5-Fluorouracil treatment of mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1987. – N 87. – P. 7134.

34. Moulett I., Salles G., Ketterer N. e.a. Frequency and significance of anemia in non-Hodgkin's lymphoma patients // Ann Oncol. – 1998. – Vol. 9, N.10. – P. 1109-1115.

35. Rothstein G., Clarkson D.R., Larsen W. Effect of lithium on neutrophil mass and production // New Engl. J. Med.. - 1978. - Vol. 298. - P. 178-189.

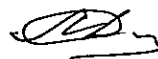
36. Patchen M.L., MacVittie T.J. Stimulated hemopoiesis and enhanced survival following glucan treatment in sublethally and lethally irradiated mice // Int. J. Immunopharm. - 1985. - Vol. 7. - P. 923-932.

37. Skillings JR, Sridhar FG, Wong C., Paddock L. The frequency of red cell transfusion for anemia in patients receiving chemotherapy. A retrospective cohort study // Am J Clin Oncol. – 1993. – Vol. 16, N. 1. – P. 22-25. .

38. Woo S., Krzyzanski W., Jusko WJ. Pharmacodynamic model for chemotherapy-induced anemia in rats // Cancer Chemother Pharmacol. – 2007. - Sep 22; [Epub ahead of print].

Руководитель исследования:

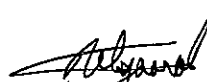
И.о. директора ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН,
академик РАМН, д.м.н., профессор



А.М. Дыгай


Исследователи:

Профессор, д.м.н.



В.В. Жданов

Ведущий научный сотрудник, д.м.н.



Б.Г. Скурихин

Ведущий научный сотрудник, д.м.н.



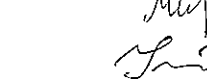
Г.Н. Зюзьков

Старший научный сотрудник, д.м.н.



О.В. Першина

Старший научный сотрудник, к.м.н.



Е.В. Симанина

Научный сотрудник, к.м.н.



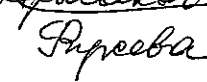
Л.А. Гурьянцева

Научный сотрудник, к.м.н.



Е.В. Удут

Научный сотрудник, к.м.н.



Т.Ю. Хричкова

Научный сотрудник, к.м.н.



Л.А. Ставрова

Аспирант



Н.Н. Ермакова

Аспирант



Т.В. Фирсова

Таблица 1

Динамика показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедро) мышей линии СВА/СаЛас после введения 5-фторурацила ($\bar{X} \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Общее количество кариоцитов	Незрелые нейтрофильные гранулоциты	Зрелые нейтрофильные гранулоциты	Эозинофильные гранулоциты	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
Интактный контроль	13,36 \pm 0,65	1,82 \pm 0,13	4,54 \pm 0,12	0,7 \pm 0,16	0,95 \pm 0,14	2,7 \pm 0,39	2,75 \pm 0,32
3	2,85 \pm 0,17 P<0,001	0,08 \pm 0,02 P<0,001	1,07 \pm 0,17 P<0,001	0 P<0,001	0,27 \pm 0,03 P<0,001	1,41 \pm 0,1 P<0,001	0,02 \pm 0,01 P<0,001
5	4,8 \pm 1,22 P<0,001	1,07 \pm 0,36 P<0,05	0,2 \pm 0,08 P<0,001	0,24 \pm 0,15 P<0,002	0,59 \pm 0,22	1,21 \pm 0,46 P<0,001	1,49 \pm 0,75 P<0,001
7	11,39 \pm 0,41 P<0,02	4,2 \pm 0,5 P<0,001	1,56 \pm 0,34 P<0,001	0,61 \pm 0,15	1,07 \pm 0,19	2,95 \pm 0,35	1,25 \pm 0,34 P<0,002
9	14,84 \pm 0,98	2,44 \pm 0,29 P<0,001	3,75 \pm 0,14 P<0,02	0,57 \pm 0,11	0,92 \pm 0,15	4,63 \pm 0,6 P<0,05	2,53 \pm 0,56 P<0,002
11	13,92 \pm 0,66	1,62 \pm 0,13	4,92 \pm 0,3	0,16 \pm 0,05 P<0,01	0,74 \pm 0,05	4,34 \pm 0,7	2,16 \pm 0,29 P<0,002
13	15,95 \pm 1,21	2,1 \pm 0,36	5,65 \pm 0,08	0,54 \pm 0,15	1,47 \pm 0,15	4,2 \pm 0,46 P<0,01	1,98 \pm 0,75 P<0,001

Примечание. P<0,02, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения интактного контроля A – у животных

Таблица 2
Влияние препарата иммобилизованных олигонуклеотидов в дозе 10 мг/кг на динамику показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедра) мышей линии SWA/CaLac, получавших 5-фторурацил ($\bar{X} \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Общее количество кардиоцитов	Незрелые нейтрофильные гранулоциты	Зрелые нейтрофильные гранулоциты	Эозинофильные гранулоциты	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
Интактный контроль	13,36 \pm 0,65	1,82 \pm 0,13	4,54 \pm 0,12	0,7 \pm 0,16	0,95 \pm 0,14	2,7 \pm 0,39	2,75 \pm 0,32
3	2,48 \pm 0,14 P<0,001	0,15 \pm 0,02 P<0,001 P<0,02	1,02 \pm 0,07 P<0,001	0,03 \pm 0,01 P<0,001 P<0,01	0,15 \pm 0,02 P<0,001 P<0,02	1,07 \pm 0,15 P<0,001	0,06 \pm 0,02 P<0,001
5	7,49 \pm 0,73 P<0,001 P<0,001	2,04 \pm 1,0 P<0,05	0,32 \pm 0,23 P<0,001	0,35 \pm 0,19 P<0,02	0,86 \pm 0,4	2,2 \pm 0,76 P<0,001	1,71 \pm 0,48 P<0,02 P<0,02
7	10,63 \pm 0,64 P<0,01	3,16 \pm 0,44 P<0,01	2,12 \pm 0,37 P<0,001	0,47 \pm 0,13	0,69 \pm 0,15	2,98 \pm 0,5	1,21 \pm 0,28 P<0,002
9	13,4 \pm 0,68	1,93 \pm 0,22	4,42 \pm 0,61	0,61 \pm 0,05	1,08 \pm 0,18	3,38 \pm 0,32	1,96 \pm 0,39
11	13,92 \pm 0,77	1,45 \pm 0,17	4,7 \pm 0,33	0,15 \pm 0,06 P<0,01	0,56 \pm 0,1 P<0,02	4,31 \pm 0,64 P<0,05	2,35 \pm 0,18
13	17,84 \pm 4,45	3,15 \pm 1,34	7,04 \pm 2,09 P<0,02	1,24 \pm 0,35 P<0,02 P<0,001	1,33 \pm 0,29 P<0,05	3,03 \pm 1,28	2,05 \pm 0,61

Примечание. P<0,05, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения А - у животных интактного контроля, Б – у животных той же модели без препарата

Таблица 3
Влияние препарата иммобилизованных олигонуклеотидов в дозе 50 мг/кг на динамику показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедро) мышей линии SWA/CaLas, получавших 5-фторурацил ($\bar{X} \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Общее количество кариоцитов	Незрелые нейтрофильные гранулоциты	Зрелые нейтрофильные гранулоциты	Эозинофильные гранулоциты	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
Интактный контроль	13,36 \pm 0,65	1,82 \pm 0,13	4,54 \pm 0,12	0,7 \pm 0,16	0,95 \pm 0,14	2,7 \pm 0,39	2,75 \pm 0,32
3	3,58 \pm 0,34 P<0,001	0,14 \pm 0,03 P<0,001	1,15 \pm 0,17 P<0,001	0,02 \pm 0,01 P<0,001	0,25 \pm 0,03 P<0,001	1,77 \pm 0,2 P<0,001	0,27 \pm 0,08 P<0,001 P<0,01
5	5,59 \pm 1,07 P<0,001	1,56 \pm 0,68	0,15 \pm 0,08 P<0,001	0,07 \pm 0,04 P<0,001 P<0,01	0,86 \pm 0,24	1,37 \pm 0,53 P<0,001	1,79 \pm 0,89 P<0,001 P<0,001
7	8,27 \pm 0,57 P<0,001 P<0,001	3,17 \pm 0,4 P<0,001	1,63 \pm 0,23 P<0,001	0,29 \pm 0,07 P<0,02 P<0,05	0,54 \pm 0,07 P<0,01 P<0,01	1,15 \pm 0,07 P<0,001 P<0,001	1,48 \pm 0,35 P<0,01 P<0,01
9	13,55 \pm 0,91	1,99 \pm 0,26	4,38 \pm 0,39	0,65 \pm 0,06	1,01 \pm 0,18	3,36 \pm 0,55	2,16 \pm 0,16 P<0,001 P<0,001
11	20,73 \pm 0,96 P<0,001 P<0,001	2,28 \pm 0,2 P<0,001 P<0,01	7,3 \pm 0,59 P<0,001	0,59 \pm 0,1 P<0,002	1,02 \pm 0,19	5,93 \pm 0,31 P<0,05 P<0,01	3,72 \pm 0,31 P<0,001 P<0,001
13	14,85 \pm 2,13	3,04 \pm 1,16	6,65 \pm 2,13 P<0,05	0,49 \pm 0,26	1,2 \pm 0,47	1,84 \pm 0,55 P<0,01 P<0,001	1,63 \pm 0,67 P<0,001 P<0,001

Примечание. P<0,05, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения А - у животных интактного контроля, Б – у животных той же модели без препарата

Таблица 4

Влияние препарата иммобилизированных олигонуклеотидов в дозе 250 мг/кг на динамику показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедра) мышей линии SWA/CaLac, получавших 5-фторурацил ($X \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Общее количество кариоцитов	Незрелые нейтрофильные гранулоциты	Зрелые нейтрофильные гранулоциты	Эозинофильные гранулоциты	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
Интактный контроль	13,36 \pm 0,65	1,82 \pm 0,13	4,54 \pm 0,12	0,7 \pm 0,16	0,95 \pm 0,14	2,7 \pm 0,39	2,75 \pm 0,32
3	3,55 \pm 0,45 P<0,001	0,16 \pm 0,03 P<0,001 P<0,05	1,37 \pm 0,19 P<0,001	0,04 \pm 0,02 P<0,001	0,23 \pm 0,02 P<0,001	1,57 \pm 0,32 P<0,001	0,17 \pm 0,06 P<0,001 P<0,02
5	6,7 \pm 0,61 P<0,001 P<0,01	1,99 \pm 0,46 P<0,002	0,03 \pm 0,02 P<0,001 P<0,001	0,22 \pm 0,09 P<0,001	1,11 \pm 0,26 P<0,002	1,9 \pm 0,41 P<0,01 P<0,02	1,44 \pm 0,71 P<0,02
7	11,25 \pm 1,25	3,59 \pm 0,58 P<0,01	2,91 \pm 0,35 P<0,001 P<0,01	0,54 \pm 0,17	0,97 \pm 0,2	2,41 \pm 0,49	1,48 \pm 0,28 P<0,01
9	10,93 \pm 0,66 P<0,02 P<0,01	2,1 \pm 0,3	4,02 \pm 0,38	0,55 \pm 0,1	0,7 \pm 0,06	1,85 \pm 0,22 P<0,01 P<0,001	1,71 \pm 0,2 P<0,01
11	12,84 \pm 0,78	1,98 \pm 0,25	4,89 \pm 0,7	0,15 \pm 0,05 P<0,002	0,56 \pm 0,07 P<0,02	2,95 \pm 0,29	1,9 \pm 0,3
13	12,87 \pm 1,48 P<0,01 P<0,02	2,31 \pm 1,09	6,05 \pm 0,82 P<0,002	0,64 \pm 0,49	1,28 \pm 0,39	1,3 \pm 0,45 P<0,001 P<0,001	1,29 \pm 0,76 P<0,05

Примечание. P<0,05, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения А - у животных интактного контроля, Б – у животных той же модели без препарата

Таблица 5
Влияние 5-фторурацила на содержание лейкоцитов и их отдельных форм ($\times 10^9$ клеток/л) в периферической крови мышей линии СВА/CaLas ($X \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Общее количество лейкоцитов	Палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты	Сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты	Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты
Интактный контроль	12,45 \pm 0,62	0,17 \pm 0,05	3,86 \pm 0,61	0,19 \pm 0,04	0,15 \pm 0,05	8,09 \pm 0,57
3	9,29 \pm 0,36 P<0,001	0,02 \pm 0,01 P<0,001	2,66 \pm 0,23 P<0,001	0,08 \pm 0,01	0,18 \pm 0,03	7,42 \pm 0,28 A
5	9,37 \pm 0,91 P<0,001	0,22 \pm 0,2	3,51 \pm 1,64	0,25 \pm 0,17	0,18 \pm 0,06	5,2 \pm 1,02 P<0,001 A
7	6,5 \pm 0,31 P<0,001	0,24 \pm 0,05	1,54 \pm 0,37 P<0,001	0,07 \pm 0,03 P<0,05	0,14 \pm 0,05	4,5 \pm 0,56 P<0,001 A
9	12,14 \pm 0,45 P<0,001	0,29 \pm 0,1	5,26 \pm 0,59	0,17 \pm 0,06	0,2 \pm 0,05	6,23 \pm 0,48 P<0,05 A
11	8,79 \pm 0,35 P<0,001	0,44 \pm 0,09 P<0,02	3,88 \pm 0,31	0,36 \pm 0,1	0,11 \pm 0,04	3,98 \pm 0,36 P<0,001 A
13	13,67 \pm 1,74	0,25 \pm 0,22	4,62 \pm 0,83	0,28 \pm 0,2	0,26 \pm 0,2	8,24 \pm 2,57 A

Примечание. P<0,05, P<0,02, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения A - у животных интактного контроля

Таблица 6

Влияние препарата иммобилизированных олигонуклеотидов в дозе 10 мг/кг на содержание лейкоцитов и их отдельных форм ($\times 10^9$ клеток/л) в периферической крови мышей линии SWA/CaLac после введения 5-фторурацила ($\bar{X} \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Общее количество лейкоцитов	Палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты	Сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты	Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты
Интактный контроль	12,45±0,62	0,17±0,05	3,86±0,61	0,19±0,04	0,15±0,05	8,09±0,57
3	7,69±0,56 P<0,001 P<0,05	0,05±0,02 P<0,01	2,55±0,22 P<0,001	0,06±0,01 P<0,05	0,12±0,02	4,86±0,2 P<0,001 P<0,002
5	8,28±1,17 P<0,001	0,12±0,07	2,55±1,18 P<0,05	0,12±0,1	0,12±0,09	5,37±0,86 P<0,001
7	8,07±0,35 P<0,001 P<0,01	0,14±0,02	2,62±0,27 P<0,05	0,1±0,05	0,1±0,04	4,82±0,7 P<0,002
9	15,01±0,78 P<0,02 P<0,001	0,58±0,12 P<0,01	6,03±1,01	0,16±0,07	0,25±0,05	8,05±0,65
11	16,04±0,52 P<0,001 P<0,001	0,47±0,11 P<0,05	6,41±0,62 P<0,01 P<0,002	0,6±0,13 P<0,01	0,21±0,07	8,35±0,86 P<0,001
13	11,93±1,76	0,24±0,22	4,18±1,31	0,2±0,17	0,21±0,13	7,1±2,54

Примечание. P<0,05, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения А – у животных интактного контроля, Б – у животных той же модели без препарата

Таблица 7

Влияние препарата иммобилизованных олигонуклеотидов в дозе 50 мг/кг на содержание лейкоцитов и их отдельных форм ($\times 10^9$ клеток/л) в периферической крови мышей линии SWA/CaLac после введения 5-фторурацила ($X \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Общее количество лейкоцитов	Палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты	Сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты	Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты
Интактный контроль	12,45±0,62	0,17±0,05	3,86±0,61	0,19±0,04	0,15±0,05	8,09±0,57
3	7,09±0,39 P<0,001 P<0,002	0,03±0,01 P<0,001	2,06±0,31 P<0,001	0,06±0,31	0,09±0,02	5,57±0,47 P<0,02
5	6,11±1,2 P<0,001 P<0,001	0,13±0,1	1,65±0,66 P<0,001 P<0,02	0,12±0,1	0,08±0,07	4,13±0,77 P<0,001 P<0,05
7	6,0±0,2 P<0,001	0,19±0,04	2,73±0,37 P<0,05	0,07±0,02 P<0,05	0,14±0,05	2,87±0,39 P<0,001 P<0,05
9	15,04±0,78 P<0,02 P<0,001	0,3±0,07	7,19±0,37 P<0,001 P<0,02	0,18±0,07	0,15±0,05	7,21±1,01
11	20,25±1,05 P<0,001 P<0,001	0,7±0,1 P<0,001	9,61±1,25 P<0,001 P<0,001	0,41±0,05 P<0,01	0,21±0,09	9,26±0,82 P<0,001
13	17,74±1,65 P<0,001 P<0,001	0,42±0,27	5,11±1,88	0,3±0,19	0,29±0,18	11,63±3,07 P<0,05 P<0,05

Примечание. P<0,05, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения А – у животных интактного контроля, Б – у животных той же модели без препарата

Таблица 8

Влияние препарата иммобилизированных олигонуклеотидов в дозе 250 мг/кг на содержание лейкоцитов и их отдельных форм ($\times 10^9$ клеток/л) в периферической крови мышей линии SWA/CaLac после введения 5-фторурацила ($X \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Общее количество лейкоцитов	Палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты	Сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты	Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	
Интактный контроль	12,45 \pm 0,62	0,17 \pm 0,05	3,86 \pm 0,61	0,19 \pm 0,04	0,15 \pm 0,05	8,09 \pm 0,57	
3	10,92 \pm 1,23	0,08 \pm 0,02 P<0,002 P<0,05	3,87 \pm 0,33 P<0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,03	6,58 \pm 0,37	A B
5	8,89 \pm 0,72 P<0,001 P<0,001	0,35 \pm 0,17	5,52 \pm 0,77 P<0,001 P<0,001	0,31 \pm 0,27	0,08 \pm 0,07	2,63 \pm 0,53 P<0,001 P<0,001	A B
7	8,5 \pm 0,34 P<0,001 P<0,001	0,34 \pm 0,04 P<0,05	3,27 \pm 0,58 P<0,02	0,1 \pm 0,05	0,11 \pm 0,03	4,69 \pm 0,77 P<0,002	A B
9	14,57 \pm 0,64 P<0,05 P<0,01	0,56 \pm 0,12 P<0,01	6,34 \pm 0,93 P<0,05	0,16 \pm 0,05	0,26 \pm 0,09	7,21 \pm 1,03	A B
11	20,25 \pm 1,09 P<0,001 P<0,001	0,89 \pm 0,17 P<0,002 P<0,05	10,37 \pm 1,25 P<0,001 P<0,001	0,38 \pm 0,17	0,27 \pm 0,13	8,6 \pm 1,62 P<0,02	A B
13	17,14 \pm 0,79 P<0,001 P<0,001	0,45 \pm 0,21 P<0,02	5,51 \pm 0,64 P<0,002 P<0,05	0,34 \pm 0,23	0,25 \pm 0,22	10,54 \pm 2,13	A B

Примечание. P<0,05, P<0,002, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения A – у животных интактного контроля, B – у животных той же модели без препарата

Таблица 9
Влияние препарата иммобилизованных олигонуклеотидов на динамику содержания ретикулоцитов в периферической крови мышей линии СВА/CaLac, получавших 5-фторурацил (X±m)

Сроки исследования, сутки	5-фторурацил	Препарат иммобилизованных олигонуклеотидов		
		10 мг/кг	50 мг/кг	250 мг/кг
Интактный контроль	30,17±1,92	30,17±1,92	30,17±1,92	30,17±1,92
3	16,29±1,38 P<0,001	11,71±1,15 P<0,001 P<0,02	15,14±2,29 P<0,001	13,57±1,19 P<0,001
5	15,5±3,06 P<0,002	10,63±1,47 P<0,001	17,24±3,1 P<0,01	14,78±3,1 P<0,001
7	11,78±1,25 P<0,001	13,57±0,97 P<0,001	16,56±0,83 P<0,001 P<0,05	14,2±1,4 P<0,001
9	17,56±1,23 P<0,001	20,36±1,93 P<0,001	13,17±0,72 P<0,001 P<0,05	18,16±1,36 P<0,001
11	22,85±2,73 P<0,002	21,98±4,23 P<0,01	28,45±4,32 P<0,05	18,65±2,07 P<0,001 P<0,02
13	17,93±5,58 P<0,02	25,18±3,58	33,9±6,99 P<0,01	31,59±3,45 P<0,02

Примечание. P<0,02, P<0,01, P<0,002, P<0,001 -- отмечена достоверность различия показателя от его значения А – у животных в интактном контроле, Б – у животных в той же модели без препарата

Таблица 10

Динамика показателей периферического звена системы эритрона и количество тромбоцитов у мышей линии СВА/СаЛас после введения 5-фторурацила ($\bar{X} \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Эритроциты, Т/л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л	Тромбоциты, Г/л
Интактный контроль	9,46±0,31	48,56±1,4	147,17±4,33	921,2±57,17
3	7,8±0,42 P<0,02	40,93±1,96 P<0,05	128,78±6,62	495,31±45,23 P<0,001
5	8,25±0,76 P<0,05	39,63±4,12 P<0,001	130,12±10,57 P<0,01	470,14±163,17 P<0,001
7	9,58±0,27	41,89±1,22 P<0,001	147,43±5,75	1034,43±71,66 A
9	8,79±0,31	38,33±1,19 P<0,001	134,86±5,41	1320,14±62,84 P<0,001
11	8,52±0,21 P<0,01	42,41±1,11 P<0,001	129,29±3,71 P<0,002	1025,0±49,95 A
13	9,33±0,76	45,97±4,12	149,98±10,57	900,7±163,17 A

Примечание. P<0,05, P<0,02, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения A - у животных интактного контроля

Таблица 11
 Влияние препарата иммобилизированных олигонуклеотидов в дозе 10 мг/кг на динамику показателей периферического звена системы эритрона и количество тромбоцитов у мышей линии SWA/CaLas после введения 5-фторурацила ($\bar{X} \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Эритроциты, Т/л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л	Тромбоциты, Г/л
Интактный контроль	9,46±0,31	48,56±1,4	147,17±4,33	921,2±57,17
3	8,1±0,26 P<0,02	43,03±0,93 P<0,05	135,0±3,42	582,24±20,0 P<0,001
5	8,07±0,39 P<0,05	39,37±2,3 P<0,001	125,6±8,11 P<0,01	469,16±143,16 P<0,001
7	8,44±0,2 P<0,002 P<0,01	37,51±0,83 P<0,001 P<0,01	123,29±2,46 P<0,001 P<0,002	997,57±43,82
9	8,7±0,31	38,19±1,21 P<0,001	137,43±3,01	1382,86±80,79 P<0,001
11	9,49±0,33 P<0,02	48,14±1,43 P<0,01	140,0±4,4	1208,71±87,98 P<0,01
13	8,99±0,68	45,2±2,22 P<0,05	139,02±9,84 P<0,05	1056,83±184,33

Примечание. P<0,05, P<0,02, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения А - у животных интактного контроля

Таблица 12

Влияние препарата иммобилизированных олигонуклеотидов в дозе 50 мг/кг на динамику показателей периферического звена системы эритрона и количество тромбоцитов у мышей линии SWA/CaLas после введения 5-фторурацила ($\bar{X} \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Эритроциты, Т/л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л	Тромбоциты, Г/л
Интактный контроль	9,46±0,31	48,56±1,4	147,17±4,33	921,2±57,17
3	8,01±0,22 P<0,01	42,65±1,23 P<0,05	132,88±3,34	569,18±28,57 P<0,001
5	8,64±0,51 P<0,01	42,08±2,67 P<0,001	134,24±6,67 P<0,01	468,52±186,27 P<0,001
7	7,64±0,24 P<0,001 P<0,001	34,93±1,03 P<0,001 P<0,001	116,43±3,12 P<0,001 P<0,001	884,86±86,91
9	8,37±0,22 P<0,002	38,01±1,02 P<0,001	132,57±4,43 P<0,05	1508,29±58,92 P<0,001 P<0,05
11	9,25±0,26 P<0,05	47,21±1,17 P<0,01	138,0±3,36	1020,29±53,1
13	9,24±0,37	46,23±1,52	145,18±4,76	1161,62±184,31 P<0,02 P<0,01

Примечание. P<0,05, P<0,02, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения А - у животных интактного контроля

Таблица 13

Влияние препарата иммобилизированных олигонуклеотидов в дозе 250 мг/кг на динамику показателей периферического звена системы эритрона и количество тромбоцитов у мышей линии SWA/CaLac после введения 5-фторурацила ($\bar{X} \pm m$)

Сроки исследования, сутки	Эритроциты, Т/л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л	Тромбоциты, Г/л	
Интактный контроль	9,46±0,31	48,56±1,4	147,17±4,33	921,2±57,17	
3	8,12±0,32 P<0,05	42,45±1,39 P<0,05	131,36±3,52	607,24±30,07 P<0,001	А Б
5	8,48±0,61 P<0,01	41,63±3,26 P<0,002	131,33±7,47 P<0,01	515,28±157,97 P<0,001	А Б
7	8,78±0,3	40,36±1,6 P<0,001	133,86±4,8 P<0,05	1085,57±94,53	А Б
9	8,23±0,47 P<0,01	39,64±1,8 P<0,001	125,0±4,09 P<0,001	1591,4±149,53 P<0,001 P<0,05	А Б
11	8,29±0,38 P<0,02	42,01±1,76 P<0,001	125,29±5,41 P<0,01	1097,86±60,72 P<0,05	А Б
13	8,45±0,88 P<0,05 P<0,05	42,95±3,83 P<0,02	132,14±9,58 P<0,01 P<0,002	1222,34±189,66 P<0,01 P<0,002	А Б

Примечание. P<0,05, P<0,02, P<0,01, P<0,001 – отмечена достоверность различия показателя от его значения А - у животных интактного контроля