

Таким образом, неомитилан, обладая иммуномодулирующими, противовоспалительными свойствами и ранозаживляющим действием, может служить основой для получения лекарственных мазей, т.к. в отличие от митилана, благодаря низкому содержанию белковой составляющей, не оказывает провоспалительного действия.

References

1. Bilich G.L., Kolla V.Je. Regulation of regeneration - a cell, material, organism, *Farmakologicheskaja reguljacija regeneratorynyh processov v jeksperimente i klinike: mezhvuzovskij sbornik* GGU. Gorkij, 1978. P. 10–20.
2. Li H., Lu S., Chzhan Sh. et.al. Anti-inflammatory activity of polysaccharide from *Pholiota nameko*, *Biohimija*. 2008. V. 73, no. 6. P. 833–840.
3. Wounds and wound infection: a manual for doctors / eds. M.I. Kuzina, B.M. Kostjuchenok. M.: Medicina, 1990. 592 p.
4. Guidelines for experimental (preclinical) studies of new pharmacological means / ed. R.U. Habrieva. M.: Medicina, 2005. 832 p.
5. Chikalovec I.V., Molchanova V.I., Aminin D.L. et.al. Neomitilane – new immunomodulator from *Crenomytilus grayanus* mussels, *Pacific Medical Journal*. 2009. No. 3. P. 32–35.
6. Alsarra I.A. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds, *Intern. J. Biol. Macromolecules*. 2009. Vol. 45, No. 1. P. 16–21.
7. Ananthi S., Raghavendran H.R., Sunil A.G. et al. In vitro anti-oxidant and in vivo anti-inflammatory potential of crude polysaccharide from *Turbinaria ornata* (Marine Brown Alga), *Food Chemistry and Toxicology*. 2010. Vol. 48. P. 187–192.
8. Lee W.R., Park J.H., Kim K.H. et al. The biological effects of topical alginate treatment in an animal model of skin wound healing, *Wound Repair and Regeneration*. 2009. Vol. 17, No. 4. P. 505–510.
9. Liu C., Lin Q., Gao, Y. et al. Characterization and antitumor activity of a polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs, *Carbohydrate Polymers*. 2007. Vol. 67, No. 3. P. 313–318.
10. Miller T.E., Dodd J., Ormrod D.J., Geddes R. Anti-inflammatory

- activity of glycogen extracted from *Perna canaliculus* (NZ green-lipped mussel), *Agents Actions*. 1993. Vol. 38, No. 2. P. 139–142.
11. Takaya Y., Uchisawa H., Ichinohe H. et al. Antitumor glycogen from scallops and the interrelationship of structure and antitumor activity, *J. Mar. Biotech.* 1998. Vol. 6. P. 208–213.
 12. Xu H., Guo T., Guo Y.F. et.al. Characterization and protection on acute liver injury of a polysaccharide MP-I from *Mytilus coruscus*, *Glycobiology*. 2008. Vol. 18. P. 97–103.
 13. Yao Y., Wei J.Z., Wang J., Zhang J.P. Extraction of *Mytilus coruscus* polysaccharides and study on their immunoactivities, *Acad. J. Sec. Mil. Med. Univ.* 2005. Vol. 26. P. 896–899.
 14. Zhang H., Lin Ye L., Wang K. Structural characterization and anti-inflammatory activity of two water-soluble polysaccharides from *Bellamya purificata*, *Carbohydrate Polymers*. 2010. Vol. 81, No. 4. P. 953–960.
 15. Zhang L., Liu W., Han B. et al. Isolation and characterization of antitumor polysaccharides from the marine mollusk *Ruditapes philippinarum*, *Eur. Food Res. Technol.* 2008. Vol. 227. P. 103–110.

Поступила в редакцию 18.03.2011.

COMPARABLE STUDY OF BIOLOGICAL EFFECTS FROM FAR-EASTERN MUSSEL *CRENOMYTILUS GRAYANUS*-DERIVED BIOGLICANES

V.I. Molchanova, I.V. Chikalovets, O.V. Chernikov, A.M. Popov, O.N. Krivoschapko, P.A. Lukianov
Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of the FEBRAS (159 100 Year Anniversary of Vladivostok Av. Vladivostok 690022 Russian Federation)

Summary – The mice experiment allowed to found out that the Far-Eastern mussel-derived bioglicanes – mitilane and neomitilane – ensured decreasing edema during Carrageenan-induced inflammation in case of intraperitoneal introduction. Besides, in case of external use (cream) at experimental models of thermal burns and scabby wounds they have had vulnerary effect. During experiment, these effects were more considerable.

Key words: mitilane, neomitilane, anti-inflammatory activity, vulnerary effect.

Pacific Medical Journal, 2012, No. 1, p. 47–50.

УДК 615.277.3.06:615.275.2:574.5

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ АСЦИДИИ *HALOCYNTHIA AURANTIUM* НА КРОВЕТВОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ В УСЛОВИЯХ МИЕЛОСУПРЕССИИ, ВЫЗВАННОЙ ЦИТОСТАТИКОМ

Т.И. Пономарева¹, Ю.И. Добряков¹, Е.Ю. Добряков²

¹Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН (690021 г. Владивосток, ул. Балтийская, 43),

²Медицинское объединение ДВО РАН (690021 г. Владивосток, ул. Кирова, 95)

Ключевые слова: миелосупрессия, хаурантин, кроветворные клетки.

В опытах на мышах СВА изучена возможность коррекции хаурантином (экстрактом из морского гидробионта *Halocynthia aurantium*) миелосупрессивного синдрома, вызванного цитостатиком. Показано, что хаурантин стимулирует процессы костномозгового кроветворения в условиях гипоплазии костного мозга, развивающейся под действием циклофосфана (250 мг/кг). Стимуляция процессов регенерации кроветворения под действием хаурантина сопровождается развитием гиперплазии гранулоцитарного и эритроидного ростков, ускоренным восстановлением числа полиморфно-ядерных лейкоцитов и моноцитов с последующим развитием нейтрофилии и моноцитоза в периферической крови. В основе активирующего влияния хаурантина на гемопоэз лежит стимуляция пролиферации и дифференцировки клеток-предшественников гемопоэза.

Пономарева Татьяна Ивановна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории биофизики Тихоокеанского океанологического института; e-mail: pti@poi.dvo.ru

Известно, что при заболеваниях системы крови и целом ряде других патологических процессов может развиваться гемодепрессия. Несмотря на различия в этиологии и патогенезе миелосупрессивного синдрома, в основе подавления кроветворения в большинстве случаев лежат однотипные процессы [6]. Удобной моделью для изучения общих закономерностей развития миелосупрессивного синдрома и разработки методов стимуляции кроветворения являются цитостатические и лучевые гемодепрессии. Согласно современным представлениям, опустошение костного мозга в данных условиях вызывается прямым повреждающим действием радиации или цитостатика на кроветворные клетки-предшественники [4, 6]. При этом установлено, что, кроме поражения родоначальных клеток крови, наблюдаются структурно-

Таблица

Динамика клеточности костного мозга мышц и формирование КОЕс после введения ЦФ и хаурантина

Сутки	Группа	Кол-во клеток, абс. (10 ⁶)				Кол-во КОЕс, абс.
		Миелокариоциты	Незрелые нейтрофилы	Зрелые нейтрофилы	Эритрокариоциты	
2-е	ЦФ	3,70±0,22 ¹	0,30±0,02 ¹	1,00±0,17 ¹	0,20±0,02 ¹	–
	ЦФ+хаурантин	3,40±0,22	0,30±0,03	1,10±0,15	0,20±0,02	–
5-е	ЦФ	5,10±0,40 ¹	2,20±0,07	2,00±0,30 ¹	0,30±0,02 ¹	–
	ЦФ+хаурантин	8,60±0,81 ²	4,20±0,08 ²	3,00±0,27 ²	0,60±0,04 ²	–
7-е	ЦФ	8,80±0,67 ¹	2,40±0,16 ¹	3,00±0,29 ¹	0,80±0,04 ¹	–
	ЦФ+хаурантин	15,00±0,79 ²	5,00±0,29 ²	6,00±0,38 ²	1,80±0,20 ²	–
9-е	ЦФ	12,20±0,77 ¹	3,80±0,21 ¹	6,10±0,22 ¹	2,70±0,22	2,50±0,01
	ЦФ+хаурантин	21,40±0,51 ²	7,50±0,27 ²	8,30±0,51 ²	3,80±0,50	5,50±0,03 ²
12-е	ЦФ	16,00±1,10 ¹	3,70±0,70	6,80±0,27	3,00±0,40	–
	ЦФ+хаурантин	19,30±2,01 ²	5,80±0,29 ²	8,40±0,16 ²	4,80±0,80 ²	–
12-е	Контроль	17,50±0,73	2,70±0,21	7,50±0,23	2,60±0,20	–

¹ Разница с контролем статистически значима.² Разница с группой ЦФ статистически значима.

функциональные нарушения со стороны элементов, составляющих гемопоэз индуцирующее микроокружение. Эти нарушения, очевидно, еще больше дезорганизуют процессы пролиферации и дифференцировки миелоидных клеток-предшественников.

Использование естественных биологически активных веществ в качестве регуляторов кроветворения можно считать одним из перспективных направлений в фармакологии [1, 4]. В последние годы пришло понимание необходимости расширения сырьевой базы для получения лекарственных препаратов за счет богатейшего разнообразия флоры и фауны моря. В работе представлены результаты исследования гемостимулирующих свойств хаурантина (водно-спиртового экстракта из асцидии пурпурной *Halocynthia aurantium*, патент RU № 1522487, ТУ 9169-007-20783642-06, свидетельства на товарный знак «хаурантин» № 236689 и Naurantinum № 236690). Хаурантин – это комплекс биологически активных веществ, включающий фосфолипиды, свободные аминокислоты, полиненасыщенные жирные кислоты семейства n-3, n-6, каротиноиды, макро- и микроэлементы [5]. В исследованиях на лабораторных животных при использовании разных моделей поражения печени (стресс, этиловый спирт, четыреххлористый углерод) показана эффективность профилактического применения хаурантина, и этот эффект связывают с его способностью влиять на метаболические процессы. Показано также, что хаурантин усиливает активность глутатионзависимых механизмов антиоксидантной защиты, проявляет высокую стресс-протективную и иммуномодулирующую активность [2, 3, 7],

Целью исследования явился анализ влияния хаурантина на кроветворные процессы в условиях гипоплазии костного мозга, вызванной цитостатиком.

Материал и методы. Исследования проводили на мышцах-гибридах СВА (60 особей весом 20–22 г). Цитостатическая гемодепрессия воспроизводилась введением циклофосфана (ЦФ, ОАО «Биохимик», Саранск), 250 мг/кг массы внутривенно однократно. Хаурантин перед введением деалкоголизировали в

вакууме и вводили ежедневно внутрижелудочно в дозе 0,4 мл/кг (из расчета 28 мг/кг сухого остатка) в течение всего эксперимента, начиная со дня введения ЦФ. Контрольные (интактные, 10 особей) животные получали эквивалентное количество дистиллированной воды. Животных по 5 особей из каждой группы выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом на 2, 5, 7, 9 и 12-е сутки после введения ЦФ. Контрольных животных выводили из эксперимента на 12-е сутки. Для оценки состояния гемопоэза подсчитывали общее количество клеток и анализировали морфологический состав костного мозга в бедренной кости, изучали гематологические показатели периферической крови и ее морфологический состав [6]. Пролиферативную активность стволовых кроветворных клеток оценивали по формированию колониеобразующих единиц в селезенке (КОЕс) на 9-е сутки после введения циклофосфана [8]. Опыты проводились с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕС). Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования. В ранние сроки после введения ЦФ в костном мозге мышечной резко (на 79%) уменьшилось количество ядродержащих клеток. На 2-е сутки здесь основную массу составляли клетки лимфоидного ряда, введение на этом фоне хаурантина способствовало ускорению процессов репарации (табл.).

Изменениям в картине костномозгового кроветворения под влиянием хаурантина в целом соответствовала динамика абсолютного содержания лейкоцитов и их отдельных форм в периферической крови (данные не приводятся). Позитивная динамика общего количества лейкоцитов регистрировалась с 5-х суток, на 7–12-е сутки различия между этими показателями в группах были статистически достоверны, и начиная с 7-х суток содержание лейкоцитов у мышечной группы «ЦФ+хаурантин» приближалось к значениям контроля. Содержание нейтрофильных гранулоцитов в этой группе к 7-м суткам

также было достоверно повышено, а количество моноцитов на 5-е сутки достигало контрольных значений, с последующим гипертрофированием (до 300%) на 7-е сутки и снижалось до исходных значений к 12-м суткам (табл.). Также в периферической крови зарегистрирована ретикулоцитопения, которая сохранялась в обеих группах до 9-х суток эксперимента.

Обсуждение полученных данных. Однократное введение ЦФ в максимально переносимой дозе закономерно приводило к развитию выраженной гипоплазии костного мозга. Максимальная депрессия общего числа миелокарицитов зарегистрирована на 2-е сутки после введения цитостатика. В указанный период имело место значительное подавление, как гранулоцитопоэза, так и эритропоэза. Известно, что вызванная действием цитостатика гибель кроветворных пролиферирующих клеток приводит к прерыванию пополнения пула не пролиферирующих короткоживущих зрелых элементов. Регенерация обеспечивается за счет стволовых клеток, которые в момент введения ЦФ находились вне клеточного цикла [1, 6]. В норме доля пролиферирующих стволовых кроветворных клеток весьма невелика – около 10%. Однако этого достаточно для поддержания стабильного кроветворения. Особенностью стволовых кроветворных клеток является их способность к дифференцировке и самоподдержанию [6, 8]. При достаточно глубоком поражении кроветворной ткани, когда погибает значительное количество пролиферирующих клеток, стволовые клетки теряют чувствительность к дифференцировочным стимулам, начинается активная пролиферация, увеличивающая их общее содержание. Блок дифференцировки сохраняется до достижения стволовыми клетками определенного критического уровня, и лишь затем включаются дифференцировочные механизмы. На этом основан метод эндогенных колоний, который позволяет оценить пролиферативную активность кроветворной ткани [6]. Стволовые клетки миелоидного ряда, мигрируя из костного мозга в селезенку и проделав более 20 митозов за 8–9 суток после поступления «запроса» на активное кроветворение, образуют КОЕс, состоящие из развивающихся кроветворных клеток (табл.). Хаурантин оказывал положительное влияние на формирование КОЕс у мышей: на 9-е сутки количество эндогенных колоний в селезенке животных, получающих хаурантин после воздействия цитостатика, в 2,2 раза превышало показатели группы ЦФ. Под влиянием хаурантина ускорение процессов репарации также наблюдалось в костном мозге. Общая клеточность костного мозга приближалась к исходным значениям на 9-е сутки, превышая в 1,7 раза группу ЦФ. При этом количество незрелых форм гранулоцитарных нейтрофилов почти в 2 раза превышало значения группы ЦФ и в 2,7 раза – контрольных животных. Процессы восстановления эритропоэза под влиянием хаурантина также начались раньше в группе животных, получающих хаурантин. О темпах регенерации кроветворения можно

судить и по времени увеличения и нормализации числа лейкоцитов в периферической крови.

Таким образом, введение хаурантина животным при гемодепрессии способствует ускоренной пролиферации кроветворных клеток-предшественников и увеличению интенсивности их дифференцировки, что приводит к последовательному возрастанию морфологически дифференцирующихся и зрелых элементов костного мозга и их выходу в периферическое русло. Стимулирующий эффект препарата проявляется в первую очередь на клетках гранулоцитарно-макрофагального ряда и может быть связан как с прямым действием на гемопоэтические клетки, так и опосредован влиянием на метаболические процессы, активируя таким образом функции гемопоэз-индуцирующего микроокружения.

References

1. Goldberg E.D., Dygaj A.M., Agafonov V.I. et al. The creation principles for natural stimulant drugs of hematopoiesis, *Jeksperim. i klin. farmakol.* 1995. Vol. 58, No. 1. P. 3–7.
2. Dobryakov U.I., Dobryakov E.U., Ponomareva T.I. The research of the pharmacological properties the extract from the sea hydrobionts – purple ascidian (*Halocynthia aurantium*). *Dalnevostochnye morja Rossii*. Vol. 2. M.: Nauka, 2007. p. 637–659.
3. Dolmatova L.S., Dobryakov Ju.I., Dardymov I.V. Haurantina influence on the activity of antioxidant system under stress in rats and in model experiments on human neutrophils, *Valeologija*. Vladivostok: Dalnauka, 2000. No. 3. P. 101–105.
4. Zaichkina S.I., Kondakova N.V., Rozanova O.M. et al. Testing antiradiation effect of biological active substances in the medium and low-dose radiation with cytogenetic indicator, *Him.-farm. zhurnal*. 2004. Vol. 38, No. 8. P. 3–8.
5. Kushnerova N.F., Dobryakov Ju.I., Jankova V.I. The chemical components of alcoholic extracts from the ascidian purple tunic *Halocynthia aurantium*, *Valeologija*. Vladivostok: Dalnauka, 2000. no. 4. P. 151–155.
6. Normal hematopoiesis and its regulation / ed. N.A. Fedorova M.: Medicina, 1996. 543 p.
7. Ponomareva T.I., Dobryakov U.I. The study of immune properties haurantina with immunosuppression in the experiment, *Pacific Medical Journal*. 2009. No. 3. P. 52–54.
8. The manual of Hematology. Vol. 1. / ed. A.I. Vorobeva. M.: Medicina, 2002. 235 p.

Поступила в редакцию 05.04.2011.

THE EFFECT OF HYDROBIONT HALOCYNTHIA AURANTIUM EXTRACT ON HEMOPOIESIS UNDER CONDITIONS OF CYTOSTATIC MYELOSUPPRESSION

T.I. Ponomareva¹, Yu.I. Dobryakov¹, E.Yu. Dobryakov²

¹V.I. Il'ichev Oceanological Institute FEB RAS (43 Baltiyskaya St. Vladivostok 690021 Russian Federation), ²Hospital of FEB RAS (95 Kirov St. Vladivostok 690021 Russian Federation)

Summary – The effect of haurantinum (extract of marine hydrobiont *Halocynthia aurantium*) on hemopoietic processes under cyclophosphanum (250 mg/kg) induced bone marrow hypoplasia in CBA mice were investigated. There was shown, that hemopoiesis recovery activated by haurantinum is manifested by the granulocyte and erythrocyte lineage hyperplasia in bone marrow, rapid restoration of the polymorphonuclear leukocyte and monocyte count in the peripheral blood, and development of neutrophilosis and monocytosis. The effect of haurantinum on the bone marrow hemopoiesis is related to accelerate of proliferation and differentiation of the hemopoietic precursor cells.

Key words: haurantinum, hemopoietic cells, myelosuppression.

Pacific Medical Journal, 2012, No. 1, p. 50–52.