

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF A NEW 1,3-DIAZINON-4 DERIVATIVE DURING ITS LONG-TERM ADMINISTRATION ON LEUKOPOIESIS IN RATS

A.V. Voronkov¹, MD; S.A. Luzhnova², PhD;

S.A. Osychenko¹; G.N. Genatullina², PhD; Suda Billel¹ (Tunisia)

¹Pyatigorsk Institute of Medicine and Pharmacy, Branch, Volgograd State Medical University;

11, Kalinin Pr., Pyatigorsk 357500, Russian Federation

²Leprosy Research Institute, Ministry of Health of Russia;

3. Nikolay Ostrovsky Passage, Astrakhan 414057, Russian Federation

Introduction. Diseases, such as leprosy and tuberculosis, require the long-term administration of antibacterial drugs. Dapsone is the primary drug for their treatment. However, it has a serious side effect on blood. A synthesized drug, a diazinon derivative, showed a high antimycobacterial activity and no toxic effect on blood counts in the experiment.

Objective: to investigate the effect of PYATd1 versus Dapsone on leukopoiesis in rats.

Materials and methods. An experiment was carried out in 60 Wistar rats of both sexes. Blood taken from the sublingual vein was stabilized with heparin. White blood cell counts were measured with a Mindray BC 2800vet analysis system used in veterinary hematology.

Results. The long-term use of new 1,3-diazinon-4 derivative versus Dapsone was examined for its impact on white blood cell counts in the rats. The effects of the drugs on the counts of segmented neutrophils and eosinophils, young stab neutrophils and nuclear shift index were considered.

Conclusion. No statistically significant changes in the complete blood count of the animals were observed during 90-day administration of the test compound, suggesting that it had no destructive effect on leukopoiesis in the rats.

Key words: dapsone, diazinon derivative, nuclear shift index, neutrophils, eosinophils, stab neutrophils.

INTRODUCTION

Achievements of modern pharmacology, introduction of new, effective medicines into

medical practice dictate the necessity of detailed studying of their side effect, in particular their influence on blood system. It is especially relevant concerning the

preparations of antibacterial action demanding prolonged use in such diseases as leprosy and tuberculosis as one of the most serious problems connected with their side effect is the development of a medicinal leucocytopenia and agranulocytosis [1,7].

Dapsone has remained the main and effective preparation applied to the treatment of leprosy, and some other diseases so far. However, it is known for its extremely undesirable side effects. According to a number of foreign authors, dapsone is capable of causing agranulocytosis up to the lethal one [9, 10]. In particular, it is shown in experimental works that dapsone – induced decrease in neutrophils in peripheral blood of animals and appearance of a significant amount of their young forms do not depend on gender and age essentially [4, 6], and correlate only with the influence extent of the preparation. In this regard, search and development of new connections capable of becoming a basis for creation of effective preparations with antimicrobial activity remain relevant.

The object of our research was the derivative 1,3-diazinon-4 under code PYATD1 (N-[4-(4-Aminobenzulfanyl)-phenyl]-2-petrolylamino benzamide), synthesized at the department of organic chemistry of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute of SBEE HPE VolgSMU SEI VPO of the Ministry of Health of the Russian Federation showing antimicrobial activity and the lack of toxic influence on morphofunctional indicators of erythrocytes and platelets in the preliminary research of the experiment [2,5].

The purpose of the comparative – study of the effect PYATd1 and drug «Dapsone» on leucopoiesis of rats.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was performed on 60 Wistar rats of both sexes weighing 190–205g. Animals were kept in standard vivarium conditions under natural light, on a standard diet with a free access to food and water. The study was conducted in the winter season. The keeping of animals and the experimentation were corresponded to the Principles of Good Laboratory Practice (Russian National Standard Russian Federation GOST R53434-2009) (2010).

All the specimens were divided into 6 groups, taking into account a gender. The animals of the first group (males) and those of the second group (females) were the control groups and received as a placebo an equivalence volume of distilled water (1ml / 100g body weight). The specimens of the 3 group (males) and of the 4 group (females) were administered the reference preparation – dapsone, the 5 group (males) and 6 group (females) – were administered the compound PYATd1 in a dose 25 mg / kg (minimum effective dose) by gavage into the stomach 1 time per day in the morning time for 90 days.

The blood sampling was carried out from the sublingual vein. The blood was stabilized by heparin (50 U / ml). The

number of white blood cells was determined with using a system of veterinary hematology automatic BC 2800vet analysis (Mindray). Leukogram was counted in smears stained with Romanovsky–Giemsa.

Statistical analysis of results was performed with the help of «BIOSTAT 2009» program. The indicator of differences was determined by Student's t-criterion.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the study showed that rats of both sexes under the influence of dapsone for 90 days demonstrate a statistically significant reduction of polymorphonuclear leukocytes and eosinophils and an increase in the proportion of banded neutrophils (Table 1). This decrease in polymorphonuclear leukocytes is both in males and females slightly more than 30%, eosinophils: for males to 40%, for females to 50%, an increase in the content of young forms of neutrophils for males increased by 130%, and for females by 80%.

Under the action of the compound PYATd1 statistically significant changes didn't reveal in comparison with the control group, but it should be noted that the decreasing tendency was observed in the content of segments. Both in males and females, it was 10–17%, which was significantly less than under the action of dapsone. Increasing the share of band cells in the blood was immaterial: 5–8%. The percentage content of eosinophils in both males and females were comparable with controls, in the content of mononuclear of statistically significant changes were not observed under the effect of administered substances (Table 1).

The quantity of leucocytes in the peripheral blood of male rats after 3 months of injection under the conditions of dapsone was slightly increasing, and while PYATd1 injection it was decreasing. Oscillations in both cases were no more than 13–16% and were not statistically significant. At the same time, a decrease of the absolute number of eosinophils in both cases was noticed; but it was more marked in the group treated with dapsone: 40% and 20% respectively. Under the action of dapsone a multiple increase of young granulocytes was revealed (table 2), while during the PYATd1 injection this value was comparable to the control. The decrease of absolute quantity of radiolo-nuclear neutrophils was observed both during dapsone injection and PYATd1 compounds (in 20–25%), but these values were not statistically significant.

Females under the action of dapsone showed statistically significant decrease in the absolute number of eosinophils and radiolo-nuclear neutrophils (in 60% and 40%) during a significant increase of bacillo-nuclear forms (in 60%–70%); the quantity of leucocytes and lymphocytes was slightly reduced; the absolute quantity of monocytes was lower than the control one in 50%, but this decrease was not statistically significant. Under the conditions of the PYATd1 injection the decrease of

Table 1

INDICATORS OF LEUKOGRAM FOR RATS OF BOTH SEXES WERE TREATED WITH PYATd1 FOR 90 DAYS

Groups	n	Eosinophils, M±m, %	Neutrophils:		Lymphocytes, M±m, %	Monocytes, M±m, %
			band cells, M±m, %	polymorpho nuclear, M±m, %		
<i>Males</i>						
Control	10	3,1±0,35	5,0±0,87	24,9±1,8	65,7±1,6	1,3±0,26
Dapsone	10	1,9±0,27***	11,5±0,6***	17,1±0,8***	67,7±1,6	1,9±0,46
PYATd1	10	3,1±0,3###	5,4±0,9###	22,4±0,3	67,5±2,8	1,6±0,2
<i>Females</i>						
Control	10	2,6±0,3	3,6±0,37	19,4±1,3	73,0±1,9	1,6±0,4
Dapsone	10	1,3±0,21**	6,6±0,5***	13,3±0,96**	77,5±1,1	1,2±0,39
PYATd1	10	2,3±0,3#	3,8±0,55##	16,1±1,1	76,3±1,3	1,5±0,17

Remarks: * – p≤0,05; ** – p≤0,01; *** – p≤0,001 for control, # – p≤0,05; ## – p≤0,01; ### – p≤0,001 for «dapsone».

Table 2

THE ABSOLUTE QUANTITY OF FRACTIONS OF LEUCOCYTES IN RATS OF BOTH SEXES TREATED WITH ПЯТd1 WITHIN 90 DAYS

Groups	n	Leucocits, M±m, ×10 ⁹ /l	Eosinophils, M±m, ×10 ⁹ /l	Neutrophils		Lymphocytes, M±m, ×10 ⁹ /l	Monocytes, M±m, ×10 ⁹ /l
				Bacillo-nuclear, M±m, ×10 ⁹ /l	radialo-nuclear M±m, ×10 ⁹ /l		
<i>Males</i>							
Control	10	13,3±1,7	0,42±0,09	0,67±0,15	3,3±0,3	9,58±1,3	0,21±0,07
Dapsone	10	15,1±1,2	0,29±0,05	1,7±0,18*	2,65±0,3	10,2±0,9	0,29±0,08
PYATd1	10	11,2±0,99	0,34±0,07	0,57±0,12	2,5±0,3	7,56±0,8	0,22±0,05
<i>Females</i>							
Control	10	10,0±1,3	0,28±0,07	0,36±0,05	1,99±0,3	8,33±0,9	0,2±0,07
Dapsone	10	8,97±0,5	0,11±0,02*	0,6±0,07*	1,2±0,13*	6,95±0,4	0,1±0,04
PYATd1	10	9,07±1,1	0,13±0,03	0,36±0,07	1,48±0,14	7,45±0,9	0,14±0,02

Notes: * – p≤0,05; *** – p≤0,001 regarding control, ### – p≤0,001 regarding «dapsone».

the absolute number of eosinophils, radiolo-nuclear neutrophils and monocytes was also noticed, but these changes were less marked in comparison with the group treated with dapsone (within statistical errors). The change in the absolute number of young forms of neutrophils was not noticed.

When assessing changes in the number of leucocytes under the influence of any factors (both endogenous and exogenous), including the influence of drugs, great

importance is attached to a percentage of their individual forms.

The changes in the proportions of young and mature neutrophils gain special importance. The nature of these changes and their intensity may indicate the absence or presence and also the extent of the loading on the blood system and on the marrow caused by cytotoxic effect of the injected substances.

It is extremely important to ascertain the quality of the used compounds influence because blood is an integral system that links together and affects all organs and tissues. Therefore, its state change may affect the work of the functional systems of the organism as a whole [3,8].

The calculation of the index of the nuclear shift in the leucocytic formulae of rats has shown that under the influence of dapsone the animals of both sexes showed a statistically significant increase (slightly more by males); while under the conditions of the injection of a derivative of 1,3-diazinon-4 (with the code PYATd1) within 90 days this not happening (Table 3).

Table 3

THE VALUE OF NUCLEAR INDEX SHIFT IN THE LEUCOCYTIC FORMULAE OF RATS OF BOTH SEXES

Groups/sex	Control	Dapsone	ПЯТd1
Males	0,22±0,05	0,68±0,06***	0,26±0,03###
Females	0,18±0,02	0,54±0,07***	0,25±0,04##

Notes: *** – p≤0,001 regarding control; ## – p≤0,001; ### – p≤0,001 regarding «dapsone».

CONCLUSIONS

Thus, the introduction of the derivative of 1, 3 –diazinon-4 under the code of PYATd1 during 90 days, unlike the preparation of comparison Dapsone has no destructive effect on leucopoiesis in rats that proves the currency of its further studying as a promising compound with antimicrobial activity.

REFERENCES

1. Balkaryova O.V., Fomin V.V., Kozlovskaya L.V. Agranulocytosis associated with the taking of cefoperazone by the patient with renal terminal kidney- failure. Therapeutic archive, 2005; 6: 76–78.
2. Voronkov A.V., Luzhnova S. A., Osychenko S. A. et al. Appraisal of the effect of a new derivative of diazinonPYATd1 on some peripheral blood parameters of rats of both sexes. Vestnik of VolgGMU, 2015; 4 (56): 124–126.
3. Kozinets G.I., Vysotsky V.V., Pogorelov V. M. et al. Blood and infection, Moscow: Triada-pharm, 2001; 456.
4. Luzhnova S.A. Age aspects of the influence of Dapsone on the phagocytosis of white blood cells. Russian allergological journal, 2008;

1: 160–161.

5. Luzhnova S.A., Gabitova N.M., Voronkov A.V. et al. Appraisal of antimicrobial activity of new derivatives of diazinon. Fundamental research, 2015; 2 (11): 2377–2380.
6. Luzhnova S.A., Samotrueva M.A., Yasenyavskaya A.L., Abdreshva R.J. Alpha-tocopherol as the correction of Dapsone-induced changes in indices of leukogram. Fundamental science, 2013; 7: 580–583.
7. Pivnik A.V., Tonkoglav V.N., Boyko D.V. Haptenagranulocytosis: treatment with hematopoietic growth factors. Clinical medicine, 2006; 3: 55–59.
8. Tereshchenko I.P., Kashulina A.P. System role of neutrophilic granulocytes in the formation of features of the pathological process. Pathophysiology and experimental chemotherapy, 1993; 4: 56–60.
9. Ghu G.I., Stiller M.G. Dapsone and sulfones in dermatology overview and update. Journal of the American Academy of dermatology, 2001; 45 (3): 420–434.
10. Wozel G., Blasum C. Dapsone in dermatology and beyond. Arch. Dermatol. Res., 2014; 306 (2): 103–124.

Поступила 24 мая 2016 г.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 1,3- ДИАЗИНОНА-4 НА ЛЕЙКОПОЭЗ КРЫС НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

А.В. Воронков¹, доктор медицинских наук, С.А. Лужнова², кандидат биологических наук, С.А. Осыченко¹, Г.Н. Генатулина², кандидат биологических наук, Суда Биллель¹ (Тунис)

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета; Российская Федерация, 357500, Пятигорск, пр. Калинина, д. 11

²Научно-исследовательский институт по изучению лепры Минздрава России; Российская Федерация, 414057, Астрахань, Николая Островского проезд, д. 3

РЕЗЮМЕ

Введение. При таких заболеваниях, как лепра и туберкулез, необходим длительный прием антибактериальных препаратов. «Дапсон» – основной лекарственный препарат для лечения. Однако он имеет серьезное побочное действие на кровь. Синтезированный препарат (производное диазинона) в эксперименте показал высокую антимикробактериальную активность и отсутствие токсического воздействия на показатели крови.

Цель исследования – сравнительное изучение действия PYATd1 и препарата «Дапсон» на лейкопоз у крыс.

Материал и методы. Эксперимент проводился на 60 крысах линии Wistar обоего пола. Кровь, взятую из подъязычной вены, стабилизировали гепарином. Количество лейкоцитов определяли с помощью системы «BC 2800vetanalysis (Mindray)», используемой в ветеринарной гематологии.

Результаты. Изучено влияние нового производного 1,3-диазинона-4 на показатели белой крови крыс при длительном введении в сравнении с препаратом «Дапсон». Рассматривалось влияние на содержание сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов, содержание молодых палочкоядерных форм и индекс ядерного сдвига.

Заключение. При 90-дневном введении изучаемого соединения статистически значимых изменений в параметрах формулы крови животных не наблюдали, что свидетельствует об отсутствии его деструктивного влияния на лейкопоз крыс.

Ключевые слова: дапсон, производное диазинона, индекс ядерного сдвига, нейтрофилы, эозинофилы, палочкоядерные формы.

Гомотоксикология — одно из натуропатических направлений медицинской науки — представляет собой синтез современных достижений медицины и гомеопатического подхода к лечению больных. Этот метод логически и практически продолжил и развил принципы холистической медицины, предусматривающей комплексный подход к лечению человека как единой биологической системы.

Основателем направления и метода гомотоксикологии как комплексной терапии стал немецкий врач и ученый Ханс-Хайнрих Реккевег. Согласно его теории, организм является открытой и стремящейся к равновесию биологической системой. Однако в нем, как и в любой другой динамической системе, равновесие может быть нарушено: в частности, для биологической системы факторами снижения стабильности, согласно теории гомотоксикоза, считают эндогенные и экзогенные токсины (гомотоксинны).

Воздействие этих химических веществ, различных по происхождению, поступающих в организм извне или вырабатываемых в ходе обменных процессов, вызывает ответные защитные реакции биологической системы, проявляющиеся, по Реккевегу, в форме симптомов заболевания. Поэтому определение заболевания, данное основоположником метода и принятое в гомотоксикологии, сформулировано следующим образом: «Болезнь представляет собой комплекс целесообразных защитных процессов в организме, а также проявлений попыток компенсировать интоксикацию». Антигомтоксические препараты получили название комплексных, так как в их состав входит ряд гомеопатических средств, сочетание которых позволяет обеспечить их обширный детоксикационный эффект. Не менее важным наряду с детоксикацией представляется и другой аспект гомотоксикологии: согласно определению заболевания, его терапия должна не подавлять симптомы, а дополнительно способствовать активации защитных сил организма.

С учетом этих 3 важнейших аспектов — регуляционного воздействия на открытую биологическую систему, связывания и выведения токсичных для организма веществ и стимуляции его защитных сил — был создан целый спектр лекарственных средств: комплексных биологических антигомтоксических препаратов, которые производит основанная Х.Х. Реккевегом компания «Хеель» («Биологише Хайльмиттель Хеель ГмбХ», Германия, Баден-Баден).

Антигомтоксические препараты изготавливают из натуральных природных компонентов: экстрактов растений, вытяжек из органов животных, стерилизованных культур ми-

кроорганизмов, минеральных веществ, микроэлементов, катализаторов и т.п. Все эти компоненты обрабатываются согласно принципам гомеопатической технологии потенцирования, т.е. методами последовательного разведения и динамизации компонентов. Таким образом, в антигомтоксических препаратах, как и гомеопатических, биологически активным началом служат не концентрированные вещества, а их микродозы. Поступающие в организм микродозы не вызывают перегрузки организма, а наоборот, стимулируют его системы и подключают дополнительные защитные механизмы.

Лечение антигомтоксическими препаратами следует лучшим традициям как гомеопатии, так и аллопатической медицины. С обычной медициной эти препараты объединяют нозологический принцип назначения и привычность лекарственных форм. При этом состав биологических препаратов в отличие от аллопатических лекарственных средств связан не с симптоматикой заболевания, а с регуляторным, дезинтоксикационным воздействием, стимулирующим защитные силы организма (см. таблицу)).

Характеристика отдельных групп компонентов антигомтоксических препаратов

В соответствии с происхождением и основными принципами воздействия, можно выделить следующие группы компонентов комплексных антигомтоксических препаратов:

- реакционные средства, предназначенные для непосредственной стимуляции иммунной системы и усиления действия других компонентов;
- органотропные компоненты, активирующие деятельность отдельных органов; исходным материалом для 2 этих составных частей комплексного препарата служат неорганические, растительные вещества, а также продукты животного происхождения;
- суис-органные компоненты, действующие непосредственно на гомологичный орган и активирующие его функции; эти компоненты готовят из тканей свиньи (согласно принципу подобия тканей). По существу они представляют собой биогенные вещества, идентифицируемые по специфическому исходному материалу, составу биохимических веществ, ферментов, минералов. Исходным материалом служат ткани, клетки, органеллы клеток, ферменты, экстракты, гидролизаты, фильтраты, секреты, потенцированные в соответствии с положениями Гомеопатической фармакопеи;
- нозоды — компоненты, изготовленные из продуктов болезни человека (патологические выделения и патологически измененные ткани), а также из микробиологических препаратов, которые перед приготовлением тщательно стерилизуются и проверяются на отсутствие микроорганизмов;
- катализаторы — гомеопатизированные продукты ферментативных реакций, активирующие и регулирующие различные этапы клеточного обмена;
- потенцированные аллопатические средства, для приготовления которых в качестве исходного продукта используются соответствующие синтезированные химические вещества (лекарственные средства, красители, токсины); основное показание к применению этих препаратов — ятрогенные заболевания.

Безопасность применения антигомтоксических препаратов при их доказанной на практике высокой эффективности связана с тем, что низкая концентрация минералов, микроэлементов и гормонов, содержащихся в комплексных препаратах в потенциях от D2 до D14, соответствует их концентрации в организме человека.

В настоящее время концепция гомотоксикологии рассматривается в рамках современной биорегуляционной теории, о которой мы подробно напишем в ближайшем номере.

Антигомтоксические препараты	Аллопатические лекарственные средства
Сравнимая с аллопатическими препаратами эффективность в случаях острых заболеваний	Высокая эффективность в случаях острых заболеваний
Высокая эффективность в случаях хронических заболеваний	Невысокая эффективность в случаях хронических заболеваний
Незначительная частота побочных и аллергических реакций	Частые побочные эффекты (аллергии, дисбактериоз, ятрогенные поражения и др.)
Малое число противопоказаний и возрастных ограничений	Много противопоказаний, ограничения для детей и беременных женщин
Активация иммунитета в процессе лечения	Возможно угнетение иммунитета
Действие по принципу регуляции, иницирования	Действие по принципу замещения, подавления, компенсации