

УДК 576.314

Г. А. Сарибекян, С. А. Баджиян, Т. Н. Арутюнян

О действии липосомальной формы иммунокорректирующего препарата миелопид при экспериментальной острой лучевой болезни

(Представлено чл.-корр. НАН Армении С. С. Оганесяном 20/VIII 1993)

Применение липосом для направленной доставки лекарственных препаратов и биологически активных соединений — одно из наиболее интенсивно развиваемых направлений в биологии и медицине. Преимущества этой транспортной системы определяются отсутствием цитотоксичности, деградацией в биологических системах, иммунологической инертностью. Список препаратов, включаемых в липосомы к настоящему времени, очень велик. К ним относятся антибиотики, цитотоксические вещества, применяемые при лечении новообразований, ферменты, различные вакцины, гормоны и другие соединения (1-4).

В 1974 г. из костного мозга был выделен и охарактеризован медиатор иммунной системы — миелопид, представляющий соединение пептидной природы, обладающий также и способностью восстанавливать показатели иммунитета при вторичных иммунодефицитных состояниях (5,6). Изучено действие различных доз и схем применения этого препарата на выживаемость и параметры иммунного статуса летально облученных животных (7,8). Целью настоящей работы являлось исследование липосомальной формы этого препарата при экспериментально вызванной острой лучевой болезни.

Опыты проводили на 60 мышах линии СВА массой 20—25 г. Животных облучали однократно на цезиевой установке в дозе 6,2 Гр. Миелопид вводили внутривенно после облучения в 1-е и 3-и сутки. Количество лимфоцитов селезенки (спленоцитов) и стволовых клеток костного мозга определяли микроскопически.

Большие однослойные липосомы, состоящие из лецитина и холестерина в соотношении 7:3, готовили методом обращения фаз (9). Полученные липосомы отделяли от невключившегося раствора миелопида центрифугированием 100 000 г 60 мин. Процент захвата миелопида липосомами определяли путем йодирования миелопида. Йодированный миелопид ( $3 \cdot 10^5$  имп/мкг белка) использовали для включения в липосомы. Для счета радиоактивности брали аликвоту ресуспендированного осадка липосом. Захват миелопида липосомами составляет примерно 10—15% от начальной концентрации.

Для исследования биораспределения липосом, содержащих миелопид, полученные липосомы в конечном объеме 200 мкл. общей ра-

диоактивностью  $12 \cdot 10^6$  имп/мин вводили мышам в хвостовую вену. Через 0,5, 1,5 и 20 ч животных декапитировали и определяли распределение липосом в крови, печени, селезенке, почках и костном мозге. Радиоактивность просчитывали на гамма-счетчике «Тракор Аналитик».

В работе использованы яичный лецитин производства Харьковско-го завода бактериальных препаратов, холестерин, йодоген фирмы «Sigma». Миелопид выделен и любезно предоставлен Р. Н. Степаненко из Института иммунологии АМН России.

Результаты, полученные по влиянию миелопида, включенного в липосомы, на некоторые параметры иммунной системы, представлены в табл. 1. Из приведенных данных следует, что уже на 5-й день после облучения у мышей, которым вводили инкапсулированный миелопид, количество спленоцитов выше в 2 раза по сравнению с животными, которым ввели миелопид в свободной форме. На 10-й день число спленоцитов возрастает еще на 36%. К 20-у дню после облучения этот показатель приближается к биоконтрольному уровню. В течение наблюдаемого периода происходит и нарастание количества стволовых клеток костного мозга, также практически приближающееся к биоконтрольному уровню, в отличие от действия свободного миелопида.

Таблица 1

Количество спленоцитов и стволовых клеток костного мозга у животных, которым вводили миелопид в свободной и липосомальной формах

Исследуемые параметры и сроки	Биоконтроль	Контроль (облучение)	Миелопид свободный, 100 мкг	Миелопид в липосомах
Спленоциты $\cdot 10^6$				
5 сутки	$8,04 \pm 0,16$	$2,3 \pm 0,03$	$3,30 \pm 0,22$	$5,74 \pm 0,32$
10 сутки		$1,86 \pm 0,20$	$6,47 \pm 0,18$	$7,84 \pm 0,30$
20 сутки		$1,60 \pm 0,04$	$5,21 \pm 0,28$	$7,95 \pm 0,20$
Стволовые клетки кост. мозга $\cdot 10^6$	$12,0 \pm 0,1$			
5 сутки		$1,25 \pm 0,03$	$1,70 \pm 0,04$	$3,55 \pm 0,80$
10 сутки		$3,75 \pm 0,12$	$6,90 \pm 0,12$	$7,08 \pm 0,81$
20 сутки		$2,55 \pm 0,35$	$6,35 \pm 0,15$	$9,87 \pm 1,2$

Результаты, полученные в экспериментах по исследованию биораспределения липосом, содержащих  $^{125}\text{J}$ -миелопид, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Распределение липосом с включенным  $^{125}\text{J}$ -миелопидом в различные сроки после внутривенного введения

Исследуемый орган	Радиоактивность ткани через 0,5 ч (имп/мин)	Радиоактивность ткани через 1,5 ч (имп/мин)	Радиоактивность ткани через 20 ч (имп/мин)
Кровь	4070	2830	236
Почки	1800	900	1254
Селезенка	3210	4350	4737
Печень	5179	6779	10380
Костный мозг	1980	1867	2865

Измерение радиоактивности различных тканей выявило, что через 30 мин после введения липосом самая высокая активность обнаруживается в крови, печени и селезенке. Через 1,5 ч радиоактивность крови снижена, и самый высокий уровень наблюдается в печени и селе-

зенке. Через 20 ч радиоактивность в крови почти не обнаруживается. В печени она максимальная, в селезенке поддерживается первоначальный уровень, а в костном мозге она повышена.

Полученные нами ранее (7) и в данной работе результаты свидетельствуют о том, что введение миелопида в ранний период после облучения приводит к увеличению выживаемости животных, что обусловлено, по-видимому, ускоренным восстановлением клеточности костного мозга и селезенки. Данные результаты согласуются и с фактами о влиянии миелопида на процессы дифференцировки иммунокомпетентных клеток, являющихся предшественниками фагоцитирующих клеток у необлученных животных и в системах *in vitro* (10).

Включение миелопида в липосомы из лецитина и холестерина приводит к ускорению процессов дифференцировки стволовых клеток костного мозга и лимфоцитов селезенки в 2 раза по сравнению со свободной формой этого препарата. Высокая эффективность действия липосомальной формы миелопида, вещества пептидной природы, обусловлена, по-видимому, защищенностью от протеолитических ферментов, быстрым выведением его из кровотока и накоплением в определенных органах, о чем свидетельствуют полученные нами данные по биораспределению миелопида. Более того, есть и литературные данные, указывающие на значительное накопление липосом в костном мозге, в частности, в его фагоцитирующих клетках (11). Необходимо учесть также, что содержание миелопида в липосомах составляет 8—10 мкг, а наблюдаемый эффект превосходит таковой, оказываемый дозой 100 мкг в свободной форме.

Полученные результаты позволяют предположить, что применение липосомальной формы миелопида может стать перспективным методом в комплексном лечении лучевой болезни.

Институт радиационной и народной медицины МЗ Армении

Գ. Ա. ՍԱՐԻԲԵԿՅԱՆ, Ս. Ա. ԲԱԶԻՆՅԱՆ, Տ. Ն. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

Իմունոկարգավորիչ միելոպիդ դեղանյութի լիպոսոմալ ձևի ազդեցությունը փորձառական սուր ճառագայթային հիվանդության ժամանակ

Ցույց է տրված, որ իմունոկարգավորիչ միելոպիդ դեղանյութը ունի ազդեցությունը ազդեցություն: Ուսումնասիրվել է միելոպիդի ազդեցությունը փայծախի իմֆոցիտների և ոսկրածծի բջիջների վրա:

Ներկայացված են տվյալները կենդանիների օրգանիզմում միելոպիդ պարունակող լիպոսոմների բաշխման մասին: Ցույց է տրված, որ միելոպիդի լիպոսոմալ ձևը 2 անգամ ավելի էֆեկտիվ է վերականգնում նշված բջիջների քանակը ճառագայթային հիվանդության ժամանակ:

#### ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- 1 Finkelstein, Weissman, J. of Lipid Res., v. 19, p. 291 (1978). 2 K. K. Eklund, P. K. Kinnunen, Duodecim, 105 (1), p. 21—28 (1989). 3 J. F. Fidler, J. Immunology v. 127, № 2, p. 1719—1726 (1981). 4 D. A. Tyrrell, T. D. Heath, C. M. Colley, BBA, v. 457, p. 259—302 (1976). 5 Л. А. Захарова, Н. Е. Галкина, Бюл. эксп. биол. № 9, с. 67—69, (1974). 6 А. А. Михайлова, Л. А. Захарова, Журн. Всес. хим. о-ва им. Д. Менделеева, т. 33, № 5, с. 545 (1988). 7 С. А. Баджиян, Г. А. Сарибекян, М. С. Сычева и др., в кн.: Совр. аспекты рад. медицины, с. 59—63. 8 Р. Н. Степаненко, С. А. Баджиян, Б. Б. Мороз и др. Иммунология, № 3, с. 53—60, 1993. 9 F. JR., Szoka, D. Parahadjopoulos, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, v. 75, № 9, p. 4194—4198 (1978). 10 Д. Н. Ливднер, О. Н. Стеценко, Л. В. Талапова, Иммунология, № 4, с. 44—49 (1988). 11 J. Senior, J. C. W. Crawley, G. Gregoriadis, BBA, v. 839, p. 1—8 (1985).