

Паклитаксел-индуцированные нарушения в кроветворных клетках предшественниках как возможная причина развития отдаленной гено- и миелотоксичности у мышей линии СВА

Федорова Е.П., Неупокоева О.В., Ставрова Л.А., Воронова О.Л., Сандрикина Л.А., Чуринов А.А.

НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ РАН
634028, г. Томск, проспект Ленина, 3

Выявлено генотоксическое воздействие паклитаксела на хромосомный материал дифференцированных клеток костного мозга самцов и самок мышей в ранние и отдаленные сроки исследования. Установлено, что в эти же сроки наблюдения паклитаксел вызывает гипоплазию костного мозга и снижает в костном мозге экспериментальных животных количество ранних клеток-предшественников эритропоэза, а также способствует уменьшению их пролиферативного потенциала независимо от пола.

Ключевые слова: генотоксическое действие, гипоплазия костного мозга, клетки предшественники, паклитаксел, хромосомные aberrации

Для цитирования: Федорова Е.П., Неупокоева О.В., Ставрова Л.А., Воронова О.Л., Сандрикина Л.А., Чуринов А.А. Паклитаксел-индуцированные нарушения в кроветворных клетках предшественниках как возможная причина развития отдаленной гено- и миелотоксичности у мышей линии СВА. *Медицинская генетика* 2020; 19(9): 74-76.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.74-76

Автор для корреспонденции: Федорова Е.П.; e-mail: fedorova-elen@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 19-04-00200 А.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Paclitaxel-induced disorders in hematopoietic progenitor cells as a possible cause of the development of distant geno- and myelotoxicity in CBA mice

Fedorova E.P., Nupokoeva O.V., Stavrova L.A., Voronova O.L., Sandrikina L.A., Churin A.A.

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine of Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences
Lenin Avenue, 3, Tomsk, 634028, Russia

The genotoxic effect of paclitaxel on the chromosomal material of differentiated bone marrow cells in male and female mice was revealed in the early and long-term periods of the study. It was found that during the same observation period paclitaxel causes bone marrow hypoplasia and reduces the number of early erythropoiesis progenitor cells in the bone marrow of experimental animals, and also contributes to a decrease in their proliferative potential regardless of gender.

Keywords: genotoxic effect, bone marrow hypoplasia, precursor cells, chromosomal aberrations

For citation: Fedorova E.P., Nupokoeva O.V., Stavrova L.A., Voronova O.L., Sandrikina L.A., Churin A.A. Paclitaxel-induced disorders in hematopoietic progenitor cells as a possible cause of the development of distant geno- and myelotoxicity in CBA mice. *Medical genetics*. 2020; 19(9): 74-76. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.74-76

Corresponding author: Fedorova E. P., e-mail: fedorova-elen@mail.ru

Funding. This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, No. 19-04-00200 A.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Существует патология кроветворной ткани, характеризующаяся диспластическими изменениями в миелокариоцитах, нарушением процессов образования, дифференцировки и запрограммированной гибели клеточных элементов костного мозга (КМ), цитопеническим синдромом в периферической крови (ПК) [1]. Но начальным звеном этих нарушений яв-

ляются мутационные изменения в стволовой кроветворной клетке.

Цель: изучение отдаленных эффектов однократного применения противоопухолевого препарата паклитаксела на наследственный материал клеток костного мозга и систему крови самцов и самок мышей линии СВА (с учетом содержания клеток-предшественников гемопоэза).

Материалы и методы

Все процедуры с животными в исследовании были рассмотрены институтской комиссией по уходу и использованию животных (IACUC) на предмет соответствия регулирующим актам. Эксперименты были проведены на 200 самцах и самках мышей линии СВА. Паклитаксел (Митотакс®, Dr. Reddy's, Индия) вводили мышам однократно внутривенно в максимальной переносимой дозе (МПД) 40 мг/кг. Цитогенетические эффекты исследовали через 6, 12, 24, 48 ч, 5, 14 сут и 3 месяца. В качестве контроля использовали физиологический раствор в эквивалентном объеме. Для оценки цитогенетических нарушений исследовали состояние хромосом метафазных пластинок КМ по модифицированному методу Форда [2]. Состояние костномозгового кроветворения оценивали путем подсчета общего количества миелокариоцитов на бедренную кость (10^6 /бедро). Мазки костного мозга окрашивали по методу Нохта. Подсчет лейкограмм и миелограмм осуществляли по стандартной методике [4]. Содержание колоние- и кластерообразующих единиц эритроидных (КОЕ-Э и КлОЕ-Э) и грануломоноцитарных (КОЕ-Г) определяли методом клонирования в полувязкой культуральной метилцеллюлозной среде (готовые среды «StemCell MethoCult™», содержащих соответствующие стимуляторы). Содержание клеток-предшественников рассчитывали на 10^5 миелокариоцитов. Окрашивание и подсчет колоний и кластеров проводили стандартными методами. Статистический анализ проводился программой StatPlus Pro [Build 6.7].

Результаты

Однократное применение паклитаксела в МПД индуцирует в КМ самцов и самок мышей линии СВА образование структурных aberrаций и появление клеток с кратно увеличенным количеством хромосом. Появление таких клеток на ранних сроках исследования вполне согласуется с механизмом действия цитостатика, который заключается в непосредственном воздействии на клеточный аппарат деления и остановке митоза. В ранее проведенных исследованиях показано, что в КМ после введения паклитаксела на ранних сроках наблюдения развивается гипоплазия, за счет снижения количества миелобластов, незрелых и зрелых нейтрофильных лейкоцитов, эритроидных клеток, отмечается большое количество апоптотических клеток [3]. Предположительно, aberrантные и полиплоидные клетки элиминируются из КМ путем апоптоза. Тем не менее, на отдаленных сроках

исследования (3 месяца) количество поврежденных метафаз и полиплоидов у самцов и самок мышей достоверно превышало значение соответствующих показателей в контрольных группах животных. Кроме того, через 3 месяца после введения паклитаксела в МПД наблюдалось повторное развитие гипоплазии костного мозга. Отмечалось снижение общего количества миелокариоцитов за счет снижения количества миелобластов, незрелых и зрелых нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов. Так же наблюдалось снижение эритроидных клеток. Появление отдаленных гено- и гематотоксических последствий явилось обоснованием исследования системы крови с учетом содержания клеток-предшественников гемопоэза в отдаленные сроки наблюдения (3 месяца).

После введения паклитаксела у самцов и самок мышей линии СВА выявлено значимое снижение количества КОЕ-Э, в то время как содержание КлОЕ-Э возрастало. Соответственно индекс созревания клеток-предшественников по сравнению с контролем увеличился у самок и самцов, что свидетельствует о значительном снижении пролиферативного потенциала клеток-предшественников эритропоэза. Применение паклитаксела в отдаленные сроки наблюдения приводит к значительному снижению в костном мозге экспериментальных животных количества ранних клеток-предшественников эритропоэза и значимо снижает их пролиферативный потенциал независимо от пола. Влияние паклитаксела на грануломоноцитарное звено гемопоэза мышей-самок через 3 месяца после введения препарата было незначительным, содержание КлОЕ-ГМ и индекс созревания достоверно не изменялись. Воздействие цитостатика на миелоидный росток кроветворения самцов сопровождалось специфическими изменениями. Так, количество кластеров в культуре достоверно возрастало, и сопровождалось увеличением индекса созревания грануломоноцитарных клеток предшественников.

Таким образом, было установлено, что однократное применение паклитаксела в МПД 40 мг/кг у самцов и самок мышей линии СВА имеет отдаленные последствия, как на наследственный материал, так и на всю систему крови экспериментальных животных в целом. В нашем исследовании выявлены отдаленные эффекты генотоксичности паклитаксела, сопровождающейся целым комплексом разнообразных нарушений *in vivo*, в частности повторной гипоплазией и количественными изменениями в колоние- и кластерообразующей способности костного мозга.

Литература:

1. Паровичникова Е.Н., Пименова М.А., Кохно А.В., Савченко В.Г. Хромосомные аномалии в кроветворных и стромальных клетках-предшественниках при миелодиспластическом синдроме. Гематол. и трансфузиол. 2013; 58(4): 33–40.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под общей редакцией Мironova A.N. М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Чурин А.А., Гольдберг В.Е., Карпова Г.В. и др. Реакции костномозгового кроветворения на токсическое воздействие паклитаксела. Бюл. exper. биол. и мед. 2008; 145(2): 173–177.
4. Шахов В. П., Хлусов И. А., Дамбаев Г. Ц. и др. Введение в методы культуры клеток, биоинженерии органов и тканей. Томск, Scientific & Technical Translation 2004, 386 с.

References

1. Parovichnikova E.N., Pimenova M.A. Kokhno A.V.I, Savchenko V.G. Khromosomnyye anomalii v krovetvornykh i stromal'nykh

kletkakh-predshestvennikakh pri miyelodisplasticheskom sindrome [Chromosomal abnormalities in hemopoietic stromal precursor cells in myelodysplastic syndrome]. Gematol. i transfuziol. [Russian journal of hematology and transfusiology] 2013; 58(4): 33–40. (In Russ).

2. Rukovodstvo po provedeniu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennih sredstv. Chast pervay / Pod obchey redakciey Mironova A.N. [Methodical recommendations for preclinical studies of drugs. Part One . Ed. by Mironov A.N.]. M.: Grif I K, 2012. 944 p. (In Russ).
3. Churin A.A., Gol'dberg V.E., Karpova G.V., Voronova O.L., Fedodorova E.P., Kolotova O.V., Skurikhin E.G., Pershina O.V. Reakt-sii kostnomozgovogo krovetvoreniya na toksicheskoye vozdeystviye paklitaksela [Reaction of bone marrow hematopoiesis to the toxic effect of paclitaxel]. Byul. eksper. biol. i med. [Bulletin of Experimental Biology and Medicine] 2008; 145(2): 173–177. (In Russ.)
4. Shakhov V.P., Khlusov I.A., Dambayev G. TS. i dr. Vvedeniye v metody kul'tury kletok, bioinzhenierii organov i tkaney [Introduction to methods of cell culture, bioengineering of organs and tissues]. Tomsk, Scientific & Technical Translation 2004, 386 p. (In Russ).