

УДК 619: 615.27: 615.9:636.028

КУЧИНСКИЙ М.П., д-р вет. наук

КАЛЮТА Л.Л., исследователь

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского»

dr.spike@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЗИНТОКСИКАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА ПОЛИВИСОЛ НА МОДЕЛИ ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА У КРЫС

В статье приводятся результаты доклинического исследования дезинтоксикационных свойств экспериментального образца ветеринарного препарата Поливисол. Специфическая активность лекарственного средства оценивалась на модели токсического гепатита у белых крыс, вызванного внутрижелудочным введением тетрахлоркарбона. В результате исследований было установлено, что поливисол при внутрибрюшинном введении крысам в дозе 15 мл/кг, дважды в сутки, снижает смертность грызунов при отравлении четыреххлористым углеродом, способствует сохранению функционального состояния гепатобилиарной системы и фильтрационной функции почек, а также снижению уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в плазме крови.

Ключевые слова: крысы, токсический гепатит, дезинтоксикационная терапия, поливисол, биохимические показатели.

Постановка проблемы. Роль синдрома эндогенной интоксикации в патогенезе различных заболеваний человека и животных в настоящее время является общепризнанной. В его основе лежит накопление в организме токсинов различного происхождения (гипоксического, бактериального, воспалительного, ожогового), а также продуктов нормального метаболизма (мочевина, креатинин, билирубин, молочная кислота) в аномально высоких концентрациях [1].

Значение эндотоксикоза, как фактора, усугубляющего течение основного заболевания, показано при желудочно-кишечных и респираторных заболеваниях молодняка [2, 3], акушерско-гинекологической патологии [4], инфекционных и инвазионных болезнях [5, 6]. Эндотоксины, воздействуя на клеточные структуры, вызывают повреждение мембран, активизируют лизосомальные ферменты, блокируют митохондриальное окисление и рибосомальный синтез, инициируют свободнорадикальные процессы и т.д. Развитие эндогенной интоксикации сопровождается нарушением реологии и свертываемости крови, микро- и макроциркуляции, водно-электролитного баланса и кислотно-основного равновесия [7].

Анализ последних исследований и публикаций. Одним из мощнейших методов детоксикации организма является инфузионная терапия. Этот метод основан на целенаправленном воздействии на морфологический состав и физиологические свойства крови введением неорганических и органических трансфузионных средств [8].

Сотрудниками отдела токсикологии и незаразных болезней животных РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» сконструирован экспериментальный образец ветеринарного препарата с рабочим названием «Поливисол», который представляет собой дезинтоксикационный полиионный раствор для внутривенного введения. В его состав входят: низкомолекулярный поливинилпирролидон, натрия, кальция и магния хлориды, натрия и калия ацетат. Активным компонентом препарата является полимер поливинилпирролидон, обладающий способностью связывать и выводить из организма циркулирующие в крови токсины. Натрия и калия ацетат включены в препарат в качестве носителей резервной щелочности. Солевой состав лекарственного средства подобран таким образом, чтобы концентрация электролитов в нем максимально соответствовала их содержанию в плазме крови животных.

В рамках доклинической фармако-токсикологической оценки разработанного препарата было проведено исследование его специфических (дезинтоксикационных) свойств в условиях оценки эффективности терапии общего токсикоза, развивающегося у крыс при поступлении в организм тетрахлоркарбона (четырёххлористого углерода, CCl_4). Тетрахлоркарбон является гепатотропным ядом, механизм повреждающего действия которого связан с прооксидантным эффектом продукта его метаболизма – *трихлорметильного* радикала – инициатора процессов пероксидного окисления липидов. Липидные перекиси и радикальные продукты тетрахлоркарбона ингибируют биосинтез белка, приводят к дистрофическим изменениям в гепатоцитах и жировому перерождению печеночной ткани [9]. Отравление развивается в результате нарушения детоксикационной

функции печени по биотрансформации продуктов метаболизма, а также повреждения почек, которое протекает по типу токсического нефроза [10].

Цель исследования – изучить специфические (дезинтоксикационные) свойства экспериментального образца препарата Поливисол на модели токсического гепатита у крыс, индуцированного внутрижелудочным введением четыреххлористого углерода.

В рамках поставленной цели решались следующие **задачи**: а) изучить влияние поливисола на клинический статус и выживаемость крыс при отравлении тетрахлоркарбонем; б) изучить влияние препарата на биохимический профиль грызунов с токсическим гепатитом.

Материал и методика исследования. Для проведения эксперимента было сформировано четыре группы крыс (первая, вторая и третья – опытные, четвертая – контрольная) по 12 голов в каждой, массой тела 260–290 г. Токсический гепатит у животных опытных групп моделировали посредством однократного внутрижелудочного введения тетрахлоркарбона в 50 % растворе на оливковом масле, в дозе 5 мл/кг массы тела. Накануне затравки грызунов выдерживали на голодной диете (с доступом к воде) в течение 12 часов. CCl_4 вводили принудительно при помощи шприца-зонда.

Дальнейшие манипуляции проводили по следующей схеме. Грызунов первой опытной группы не лечили. Для дезинтоксикационной терапии крысам второй опытной группы применяли раствор Рингера-Локка, третьей – поливисол. Препараты вводили внутривентрально, в дозе 15 мл/кг массы тела, дважды в сутки (с интервалом между введениями 8–9 часов), двое суток подряд. Контрольную группу составили клинически здоровые особи, не подвергавшиеся каким-либо обработкам, которые содержались на штатном режиме вивария.

В ходе эксперимента регистрировали клинический статус и выживаемость грызунов. Спустя 12 часов от последнего введения лекарственных препаратов крысам второй и третьей групп произвели отбор проб крови у всех находившихся в опыте грызунов (посредством пункции вентральной хвостовой вены). Сыворотку крови исследовали на биохимическом анализаторе «*DIALAB Autolysers 20010D*» (Австрия). В ней определяли концентрацию общего белка, альбуминов, глюкозы, общего билирубина, креатинина, мочевины, а также активность ряда ферментов – гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), аланин- и аспартат-аминотрансфераз (АлАТ и АсАТ). С целью оценки выраженности интоксикационного синдрома в плазме крови грызунов определяли содержание среднемолекулярных олигопептидов (ВНСММ) в соответствии с методикой М.Я. Малаховой [11].

Значения, полученные при лабораторном исследовании сыворотки и плазмы крови от крыс контрольной группы (клинически здоровые особи), рассматривали как физиологическую видовую норму для данной популяции грызунов.

Павших в ходе эксперимента грызунов подвергали патолого-анатомическому вскрытию, внутренние органы и полости тела осматривали макроскопически.

Статистическую обработку проводили на персональном компьютере при помощи программы «*StatBiom 2720*» с определением среднего арифметического (M), ошибки средней (m) и критерия достоверности по Стьюденту (p). Различия определяли при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе наблюдения было установлено, что клинические симптомы отравления тетрахлоркарбонем у крыс опытных групп начали проявляться спустя 6–8 часов после его введения. У животных отмечали угнетение, снижение двигательной активности и реакции на внешние раздражители, отсутствие аппетита, повышенное потребление воды. На следующие после затравки сутки в первой опытной группе пали три крысы, а во второй – две. На третий день эксперимента в первой опытной группе погибло две головы, во второй и третьей – по одному животному. Таким образом, выживаемость крыс в группе, которым применяли поливисол, составила 91,67 %, тогда как в группе животных, которым применяли раствор Рингера-Локка – 75,0 %, а в группе животных без лечения – 58,33 %.

У крыс, павших в ходе эксперимента, при вскрытии обнаруживали патоморфологические признаки жировой дистрофии печени (орган увеличен, дряблой консистенции, светло-коричневого цвета), а также венозную гиперемия почек, селезенки и легких.

Клинический статус выживших грызунов начал восстанавливаться на 4–5-й день после моделирования интоксикации, что проявлялось улучшением внешнего вида, появлением аппетита и восстановлением двигательной активности.

При лабораторном исследовании сыворотки крови от грызунов 1–3 опытных групп регистрировали характерные для токсического гепатита метаболические расстройства: снижение в сыворотке крови общего белка и альбуминов, что свидетельствовало о нарушении

белоксинтетической функции печени; повышение активности цитолокализированных печеночных ферментов, подтверждающее повреждение гепатоцитов под воздействием CCl_4 ; повышение активности энзимов билиарной системы (гамма-глутамилтрансферазы и щелочной фосфатазы), ассоциированное с явлениями холестаза [12]. Также у грызунов опытных групп отмечали повышение в сыворотке крови концентрации креатинина, связанное со снижением фильтрационной функции почек. Нарушение биотрансформации и утилизации продуктов метаболизма приводило к накоплению в плазме крови веществ группы «средних молекул» – маркера эндогенной интоксикации.

При статистической обработке полученных результатов были выявлены некоторые достоверные различия между показателями животных опытных групп. Результаты биохимических исследований сыворотки и плазмы крови грызунов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Биохимические показатели сыворотки и плазмы крови крыс опытных и контрольной групп ($M \pm m$)

Показатель, единицы измерения	Группы животных			
	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная	Контрольная
Общий белок, г/л	49,41±1,62	48,45±1,53	53,06±1,32	62,01±1,62
Альбумин, г/л	21,38±0,88	21,77±0,89	24,42±0,77 [*]	33,81±1,56
АЛТ, МЕ/л	136,90±15,37	130,62±13,54	97,46±3,82 ^{**}	43,56±5,95
АСТ, МЕ/л	117,68±9,36	132,22±15,36	82,52±6,83 ^{***}	61,05±2,84
ЩФ, МЕ/л	176,80±23,32	188,76±15,24	147,07±20,87	72,81±9,68
ГГТП, МЕ/л	17,08±3,65	14,93±1,82	9,87±1,70 [*]	4,67±0,61
Билирубин общ., мкмоль/л	16,18±2,29	12,67±2,89	8,99±0,91 ^{**}	5,93±0,67
Глюкоза, ммоль/л	4,49±0,56	4,77±0,73	7,06±0,36 ^{**}	7,20±0,34
Мочевина, ммоль/л	6,37±1,77	7,73±1,53	5,50±1,02	6,45±0,57
Креатинин, мкмоль/л	106,41±10,13	97,59±5,58	69,62±4,59 ^{***}	43,51±4,43
ВНСММ пл, усл.ед.	19,26±1,20	16,08±0,70	11,75±0,82 ^{***}	8,61±0,43

Примечание. *, **, *** – достоверность различий по отношению к первой и второй опытных групп при уровне значимости соответственно $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$.

Как видно из приведенной таблицы, концентрация альбумина в сыворотке крови крыс, получавших поливисол, была выше, чем у грызунов первой и второй опытных групп соответственно на 14,22 ($p < 0,05$) и 12,17 % ($p < 0,05$), что свидетельствует о меньшем нарушении белоксинтезирующей функции печени у животных, получавших испытуемый препарат. Однако, абсолютное и относительное количество альбуминов оставалось меньше (на 14,4 и 8,5 %), чем у клинически здоровых животных (контрольная группа).

Активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) у крыс третьей группы была ниже соответственно на 28,8 и 25,4 % ($p < 0,05$) при сравнении с показателями грызунов первой и второй опытных групп, аспаратаминотрансферазы (АсАТ) – соответственно на 29,88 и 37,56 % ($p < 0,01$), однако оставалась выше, чем у животных контрольной группы. Более интенсивно восстанавливалась активность АсАТ.

Активность гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) у крыс, для терапии которых применяли поливисол, была на 42,21 % ниже, чем у грызунов первой группы, и на 33,89 % ($p < 0,05$) по сравнению с животными, получавшими раствор Рингера-Локка; концентрация общего билирубина – ниже соответственно на 44,44 ($p < 0,01$) и 29,04 %. Снижение активности ГГТП у грызунов второй и третьей опытных групп свидетельствует о постепенном восстановлении желчевыделения и ликвидации синдрома внутрипеченочного холестаза. Содержание глюкозы в сыворотке крови грызунов, получавших поливисол, было выше, чем у животных первой и второй групп соответственно на 57,23 ($p < 0,01$) и 48,00 % ($p < 0,05$).

Таким образом, введение поливисола крысам при отравлении тетрахлоркарбонem способствовало сохранению функционального состояния гепатобилиарной системы. Поскольку компоненты препарата не обладают непосредственными гепатопротекторными свойствами, выявленные биохимические изменения, на наш взгляд, были связаны с выведением токсинов из организма грызунов и соответственно уменьшением их агрессивного воздействия на печень – основной орган биотранс-формации продуктов нормального и нарушенного метаболизма. Это предположение подтверждают результаты исследования содержания веществ средней и низкой молекулярной массы в плазме

подопытных крыс. Так, уровень «средних молекул» в плазме крови грызунов третьей опытной группы составил $11,75 \pm 0,82$ усл.ед., что было ниже среднего значения у животных первой и второй опытных групп соответственно на 38,99 и 26,93 % ($p < 0,001$).

Дезинтоксикационный эффект поливисола проявлялся также в его положительном влиянии на функциональную активность почек, вероятно, за счет улучшения перфузии и соответственно

гломерулярної фільтрації: у гризунів, получавших поливисол, содержание креатинина в сыворотке крови было на 34,57 % ($p < 0,01$) ниже, чем в группе животных без терапии, и на 28,66 % ($p < 0,01$) меньше, чем у гризунів, которым применяли раствор Рингера-Локка; концентрация мочевины была ниже соответственно на 13,66 и 28,85 %.

Выводы. 1. Внутривентральное введение поливисола в дозе 15 мл/кг массы тела, дважды в сутки в течение 2-х дней снижает смертность животных при отравлении тетрахлоркарбонем на 16,7 % по сравнению с применением раствора Рингера-Локка.

2. Поливисол оказывает протективное действие на гепатобилиарную систему лабораторных животных, что проявляется меньшим нарушением альбуминсинтезирующей функции печени и менее выраженными явлениями цитолиза и холестаза.

3. Парентеральное введение поливисола способствует элиминации из организма веществ группы «средних молекул» и сохранению функциональной активности почек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афанасьева А.Н. Синдромы эндогенной интоксикации и системного воспалительного ответа: общность и различия / А.Н. Афанасьева, И.Н. Одинцова, В.В. Удуд // Анестезиология и реаниматология. – 2007. – № 4. – С. 67–70.
2. Гурова С. В. Оценка эндогенной интоксикации у телят, больных бронхопневмонией / С. В. Гурова, В. М. Аксенова // Ветеринария. – 2008. – № 8. – С. 41–43.
3. Жукова Л.А. Концентрация средних молекул в сыворотке крови новорожденных телят как показатель аутоинтоксикации организма при диспепсии / Л.А. Жукова, С.В. Таныгин // Вестник Курской госуниверситета. – Курск, 2008. – № 3. – С. 24–26.
4. Степанова И.П. Биохимический метод оценки эндогенной интоксикации у коров / И.П. Степанова, Л.М. Дмитриева, В.И. Зайнчковский // Ветеринария. – 2004. – № 7. – С. 35–38.
5. Алехин Ю.Н. Регидратационная терапия новорожденных телят при вирусной диарее (болезнь слизистых оболочек) / Ю.Н. Алехин, Т.И. Жаворонкова // Первый съезд ветеринарных фармакологов России: материалы съезда. – Воронеж, 2007. – С. 71–75.
6. Дубина И.Н. Эндогенная интоксикация при личиночных цестодозах и ее влияние на качество продукции / И.Н. Дубина // Ученые записки [сборник науч. трудов] : научно-практический журнал / Учреждение образования «Витеб. госуниверситет. – Витебск, 2008. – Т. 44, вып. 2. – С. 75–80.
7. Лишневская В.Ю. Постсиндромная инфузионная терапия в практике врача-терапевта / В.Ю. Лишневская // Украин. химиотерапевт. журнал. – 2010. – № 23. – С. 107–111.
8. Фещенко Ю.И. Инфузионная терапия в клинике внутренних болезней / Ю.И. Фещенко, Н.И. Гуменюк // Украин. химиотерапевт. журнал. – 2008. – № 22. – С. 9–13.
9. Raquel K.Z. The carbon tetrachloride hepatotoxicity as a model of liver damage / K.Z. Raquel // Acta hepato-gastroenter. – 1975. – Vol. 22. – P.84–88.
10. Ozturk F. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and protective effect of betain in Sprague-Dawley rats / F. Ozturk, M. Ucar // Urology. – 2003. – Vol. 62. – P. 353–356.
11. Малахова М.Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации: пособие для врачей / М.Я. Малахова. – СПб.: МаПО, 1995. – 33 с.
12. Мейер Д. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика / Пер. с англ. Д. Мейер, Дж. Харви. – М.: Софион, 2007. – 456 с.

Вивчення дезінтоксикаційних властивостей експериментального зразка ветеринарного препарату Полівісол на моделі токсичного гепатиту у щурів

М.П. Кучинський, Л.Л. Калюта

У статті наведені результати доклінічного дослідження дезінтоксикаційних властивостей експериментального зразка ветеринарного препарату Полівісол. Специфічна активність лікарського засобу оцінювалася на моделі токсичного гепатиту у білих щурів, спричиненого внутрішньошлунковим введенням тетрахлоркарбону. В результаті досліджень встановлено, що полівісол за внутрішньочеревного введення щурам у дозі 15 мл/кг маси тіла, два рази на добу, знижує смертність гризунів за отруєння тетрахлориду карбонем, сприяє відновленню функціонального стану гепатобіліарної системи і фільтраційної функції нирок та зменшує рівень речовин низької і середньої молекулярної маси у плазмі крові.

Ключові слова: щури, токсичний гепатит, дезінтоксикаційна терапія, полівісол, біохімічні показники.