

УДК 619:615.27:636.028:612.35

ПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И ВИТАМИНОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ У КРЫС

Белькевич И.А.*, Островский А.В. **

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» г. Минск, Республика Беларусь

**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»

г. Витебск, Республика Беларусь

Целью наших исследований было изучение протекторных свойств опытного образца, нового хелатного препарата, на модели острого токсического поражения печени у крыс. Препарат создан на основе витаминов и микроэлементов. Установлено, что сконструированное лекарственное средство эффективно защищает клеточные мембраны от повреждающего действия четыреххлористого углерода.

In this article we studying tyre-tread properties of the pre-production model new chelated of a preparation, on model of acuted toxic defeat of a liver at rats was the purpose of our researches. The preparation is created on the basis of vitamins and microelements. It is established, that the designed medical product effectively protects cellular membranes from damaging action of four-chloride carbon.

Введение. Живой организм является целостной структурой, в котором все происходящие процессы связаны в единую систему, а изменения в клетке коррелируют с таковыми на органном уровне.

Ценность эритроцитов как экспериментальной модели состоит в том, что изменения в них могут развиваться параллельно сдвигам, происходящим в клетках других тканей организма, причем у млекопитающих они являются почти уникальным легкодоступным клеточным материалом для разного рода исследований [1].

Доказано, что эритроциты чрезвычайно чувствительны к влиянию окружающей среды и быстро реагируют на действие различных повреждающих факторов [2, 3].

Организм сельскохозяйственных животных в условиях интенсивного производства подвержен воздействию большого количества вредных факторов. В частности это неполноценное кормление, нарушение правил содержания, интенсивная эксплуатация и т.д., что приводят к хронической интоксикации.

Кроме этого, неадекватное и неконтролируемое введение в организм различных препаратов, а именно ксенобиотиков (тетрациклин и др.) часто является как причиной интоксикации, так и способствующим фактором для возникновения на ее фоне других тяжелых патологий [4, 5].

Печень, являясь основным детоксицирующим органом, выступая при этом в роли депо значительного количества микроэлементов и жирорастворимых витаминов, становится постоянной мишенью для токсикантов.

В патогенезе токсического поражения печени, вызванного ксенобиотиками, накопление продуктов липопероксидации в гепатоцитах может играть важную роль в перестройке метаболизма и повреждении их ультраструктуры, а в наиболее тяжелых случаях - их некрозом [6] с одновременным разрушением депо микроэлементов и витаминов [7].

Материалы и методы исследований. «Антимиопатик» – препарат на основе микроэлементов и витаминов, находящихся между собой в хелатированном состоянии.

Для выяснения, обладает ли препарат протекторными свойствами на клеточном уровне, нами проведен опыт, целью которого было изучить защитный эффект нового комплексного препарата «Антимиопатик» в условиях генерированного патологического процесса на модели острого гепатита.

Препарат представляет собой интерес для исследований его способности в опытах *in vivo* влиять на состояние осмотической, мочевиной и свободнорадикальной резистентности эритроцитов белых крыс.

Модель острого токсического поражения печени у крыс создавали путем подкожного введения животным четыреххлористого углерода (CCL₄) в 50% растворе растительного масла один раз в день в течение 4 дней в дозе 0,4 мл/100 г массы (курсовая доза 1,6 мл/100 г массы).

Исследование проводили на 40 самках белых нелинейных крыс массой 95-100 г, разделённых по принципу условных аналогов на 3 опытных и 1 контрольную группы.

Выбор доз CCL₄ и схемы введения основывались на данных литературы [8, 9]. Введение CCL₄ производили дробно в два участка туловища животного с соблюдением правил асептики. Применяемые дозы и схема введения CCL₄ были достаточными для создания патологической модели выраженного острого токсического повреждения печени у экспериментальных животных.

На 5-й день эксперимента вводили «Антимиопатик» однократно внутримышечно за 2 часа до введения CCL₄ по следующей схеме:

Таблица 1 – Схема проведения опыта

Группы животных	Количество крыс в группе	Количество вводимого вещества
Опыт 1 (CCL ₄ + без «Антимиопатик»)	10	0,25 мл / 100 г массы крысы
Опыт 2 (CCL ₄ + стерильный раствор «Антимиопатик»)	10	240 мг/кг (терапевтическая доза)
Опыт 3 (CCL ₄ + стерильный раствор «Антимиопатик»)	10	1200 мг/кг (пятикратная терапевтическая доза)
Контроль (стерильный физиологический раствор NaCl)	10	0,5 мл / животное

Затем через 7 дней животных умерщвляли мгновенной декапитацией. Для оценки функционального проявления токсического действия CCL₄ и протекторного действия препарата в эксперименте, регистрировали ряд показателей: мочевиная, осмотическая и свободнорадикальная резистентность эритроцитов.

Изучение *мочевинной резистентности* эритроцитов проводилось по методу В.Н. Колмакова и В.Г. Радченко [10]. *Осмотическую резистентность* эритроцитов исследовали по унифицированной методике в модификации Л.И. Идельсона [11]. *Оценку свободнорадикальной резистентности* эритроцитов проводили по методу И.Е. Ковалева с соавт. [12].

Результаты исследований. При исследовании эритроцитов на предмет резистентности к смеси изотонических растворов мочевины (0,18%) и NaCl (0,85%) установлено, что гемолиз эритроцитов животных в 1 опытной группе, которые были затравлены CCL₄, был самый высокий (рисунок 1).

Он достоверно ($p < 0,001$) превышал гемолиз эритроцитов животных 2, 3 опытной и контрольной групп, в следующих рабочих концентрациях 40:60, 45:55, 50:50, 55:45, 60:40 и 65:55 в 1,08-1,88 раза.

Аналогичный характер изменений состояния эритроцитарных мембран отмечается в 3 опытной группе, по отношению к контрольной и 1 опытной группе крыс, во всех концентрациях мочевины и NaCl. Он достоверно выше степени гемолиза эритроцитов 1 опытной группы животных во всех рабочих концентрациях в 1,15-1,53 раза.

Максимальный протекторный эффект мембран эритроцитов от воздействия смеси мочевины и NaCl «Антимиопатик» проявляет при внутримышечном введении его в дозе 240 мг/кг (терапевтическая доза).

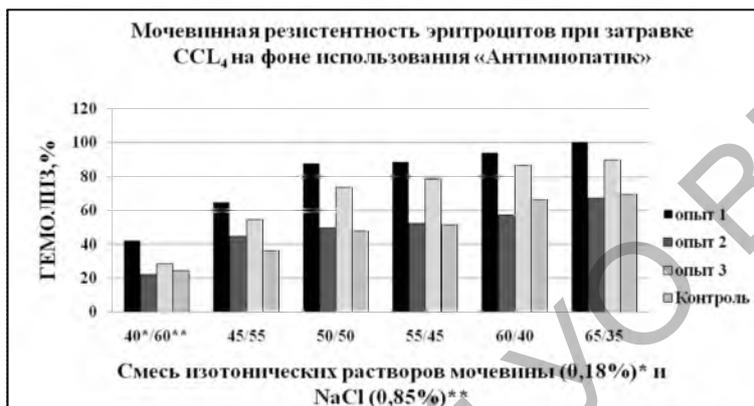


Рисунок 1 – Мочевинная резистентность эритроцитов при затравке CCL₄ на фоне использования препарата «Антимиопатик»

Степень выраженности уровня мочевинового гемолиза 2 опытной и контрольной групп крыс была примерно на одном уровне во всех смесях изотонических растворов мочевины и NaCl.

Опыт показал, что при однократном введении «Антимиопатик» в дозе 240 мг/кг обладает выраженной мембранопротекторной способностью по отношению к эритроцитам лабораторных животных на фоне затравки их CCL₄. Доза 1200 мг/кг является субтоксической и несет значительную нагрузку на клетку, что является причиной не защиты для клеточной мембраны, а причиной ее быстрее разрушения.

При исследовании осмотической резистентности эритроцитов на белых крысах получены следующие результаты.

Внутримышечное введение препарата не дает возможности быстрого лизиса клеток, что проявляется в плавном нарастании степени гемолиза эритроцитов во 2 опытной группе крыс по сравнению с животными 1 и 3 групп во всех рабочих концентрациях NaCl (рисунок 2).

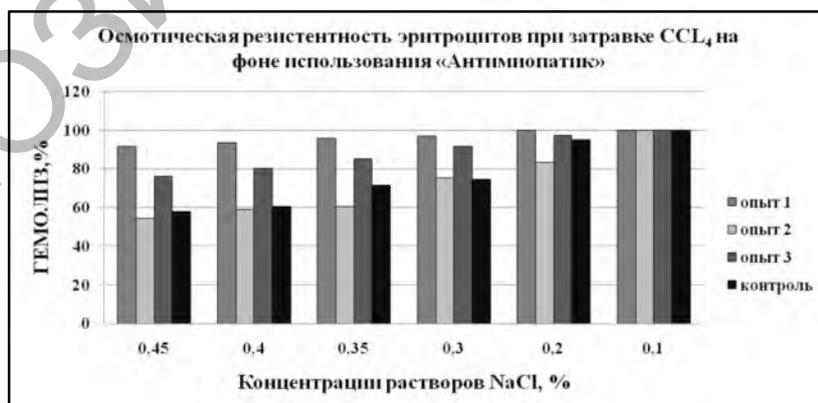


Рисунок 2 – Осмотическая резистентность эритроцитов при затравке CCL₄ на фоне использования препарат «Антимиопатик»

На это указывает статистически достоверное ($p < 0,001$) увеличение степени гемолиза эритроцитов 1 опытной группы в 0,45, 0,4, 0,35, 0,3 и 0,2% рабочих концентрациях NaCl по отношению ко 2 и 3 группам крыс в 1,02-1,68 раза.

Следует отметить, что концентрация NaCl 0,1% вызывает 100%-ый гемолиз эритроцитов, что наблюдалось во 2-ой опытной группе крыс при концентрации NaCl 0,2%. Это, прежде всего, связано с сильными

гемолитическими свойствами CCl_4 . Кроме того, эритроцитарный гемолиз в 3 опытной группе статистически достоверно ($p < 0,001$) превышал таковой во 2 и контрольной группах крыс в 1,39, 1,35, 1,40, 1,21, 1,16 и 1,31, 1,32, 1,19, 1,23, 1,02 раза, соответственно.

Гемолиз эритроцитов животных 2 опытной и контрольной групп животных по отношению друг к другу протекал примерно на одном уровне, без значимых изменений.

Описанный характер изменений состояния мембран эритроцитов, по-видимому, обусловлен особенностями метаболизма хелатных соединений при внутримышечном введении, при котором они подвергаются достаточно быстрой ассимиляции в клеточные мембраны с последующей регенерацией ее поврежденных структур.

Исследования осмотической резистентности эритроцитов у белых крыс характеризуют препарат как активный протектор мембран клеток.

При изучении влияния «Антимиопатик» на свободнорадикальный гемолиз эритроцитов (СРГЭ) белых крыс установлено, что препарат предохраняет эритроциты от лизиса. В условиях однократного внутримышечного введения, CCl_4 на фоне экспериментально вызванного гепатита, отмечено его выраженное ингибирующее действие. Так в 1 опытной группе животных был на уровне 75,35%, что статистически достоверно ($p < 0,001$) выше СРГЭ, чем во 2, 3 и контрольной группах крыс в — 1,74, 1,52 и 1,71 раза, соответственно (рисунок 3).

Интенсивность СРГЭ у 2 и 3 опытных групп животных по отношению друг к другу и контрольной группе была примерно в одних пределах.

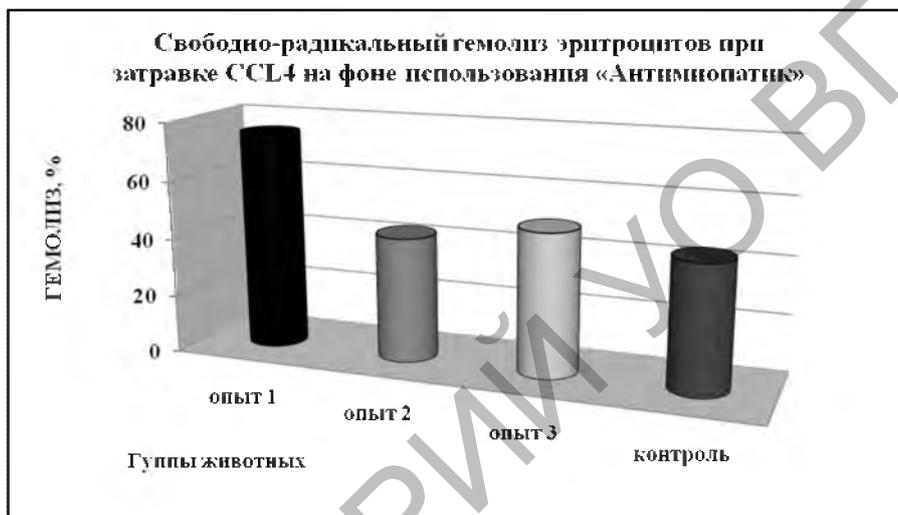


Рисунок 3 – Свободнорадикальный гемолиз эритроцитов при загрузке CCl_4 на фоне использования «Антимиопатик»

Заключение. Сконструированный нами препарат на основе микроэлементов и витаминов проявляет выраженные протекторные свойства и активно предохраняет мембраны клеток от повреждающего действия четыреххлористого углерода при моделировании острого токсического поражения печени у крыс.

Литература. 1. Якубова Р.Р., Мурин А.В. Способ оценки дестабилизации мембран эритроцитов // Лабораторное дело. – 1990. – № 5. – С.26-29. 2. Алексеев С.В., Колмаков В.Н., Свиловый В.И. Влияние низкочастотных акустических колебаний на некоторые свойства мембран эритроцитов // Гигиена и санитария. – 1984. – № 2. – С.82-83. 3. Данильчик В.С., Бовбель Г.В. Изменение липидного спектра плазмы крови и устойчивости эритроцитарных мембран у крыс в отдаленные сроки после лучевого и комбинированного медикаментозного воздействия / В.С. Данильчик [и др.] // Актуальные проблемы медико-биологической науки: матер. научн. сессии Белорусского ин-та усовершенствований врачей, посвященной 25-летию ЦНИЛ. – Минск, 1997. С. – 124-128. 4. Скакун Н.П., Олейник А.Н. Тетрациклиновые поражения печени и их лечение (обзор литературы) // Врачебное дело. – 1984. – №11. – С. 91-95. 5. Климюк Е.В. Функциональное состояние печени и ПОЛ при поражении ее индометацином // Фарм. и токсикология. – 1989. Т-52. – №2. – С. 81-82. 6. Баджинян С.А., Малакян М.Г., Аракелян В.Б., Казарян С.А., Григорян Д.С., Бадирян В.А., Егиазарян Д.Э. Модифицирующее действие хелата $Mn(II)$ с этиловым эфиром салицилиден-тирозина на некоторые биофизические параметры эритроцитарных мембран облученного организма // Радиация биол. Радиоэкол. – 2003. – 43, – №6. – С. 654-657. 7. Виноградова Л.Ф. Теоретические и экспериментальные предпосылки к комбинированному применению природных антиоксидантов при поражении печени разного генеза // Вестник Росс. Унив-та дружбы народов. – 1997. – №2. – С. 33-42. 8. Виноградова Л.Ф. Патогенетические механизмы токсического и аллергического поражения печени и экспериментальная фармакотерапия антиоксидантов: витамином Е, убихиноном, селенидом натрия и их комбинациями: дис. ... д-ра биол. наук: 06.02.02. – Москва, 1990. – 498 с. 9. Кудрин А.Н., Левшин В.И., Мехтиев М.А. Фармакотерапия препаратами селена экспериментального гепатита. – Баку: ЭЛМ, 1982. – 222 с. 10. Колмаков В.Н., Радченко В.Г. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран (ПЭМ) в диагностике хронических заболеваний печени // Терапевтический архив, 1982. – № 2. – С. 59-62. 11. Справочник по лабораторным методам исследования / Под. ред. Л.А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – С. 117-118. 12. Ковалев Н.Е., Данилова Н.П., Андронати С.А. Влияние эноmelанина на гемолиз эритроцитов, вызываемый свободнорадикальными реакциями и другими факторами // Фармакология и токсикология, 1986. – № 4. – С. 89-91.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.