

Параметры печёночных маркеров при моделировании токсического поражения на кроликах

А.Е. Пугатина, аспирантка, ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ

В настоящее время в сфере изучения заболеваний животных происходят значительные изменения, которые неотъемлемы с расширением представлений об этиологии и патогенетических основах нарушений функций печени. Разработка новых подходов корректирующей терапии относится к приоритетным направлениям развития современной ветеринарии. Патогенетическим механизмом химического поражения печени является ишемия [1], которая в свою очередь может усиливать процессы свободнорадикального окисления в мембранах гепатоцитов [2, 3]. С це-

лью профилактики и лечения патологий печени применяют препараты метаболического действия. К числу средств, сочетающих антиоксидантную и противогипоксическую активность, положительно зарекомендовавших себя, относятся препараты, содержащие янтарную кислоту [4–7].

Целью исследования явилось изучение влияния нового препарата Янтовет на некоторые биохимические показатели крови на модели экспериментального гепатита кроликов, содержащего янтарную кислоту и соединение фосфора. Препарат разработан в ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ [8, 9].

Материал и методы исследования. Для моделирования токсического гепатита использовали

кроликов породы Белый великан в возрасте 3 мес. С соблюдением принципа пар-аналогов сформировали четыре группы животных, три из которых были опытные, одна – контрольная. Острый токсический гепатит вызывали путём двухкратного внутривенного введения 50-процентного раствора четырёххлористого углерода на оливковом масле из расчёта 1 мл на кг живой массы тела [10, 11]. В I гр. контрольную входили животные, которым вводили только тетрахлорметан. Кроликам II гр. на фоне отравления, начиная с 5-го дня эксперимента, трёхкратно, через 3 дня, внутримышечно инъецировали исследуемый препарат в дозе 1 мл на животное. Особи III гр. препарат получали как до токсического воздействия, так и после по аналогичной схеме, применяемой во II гр. В IV гр. входили интактные (здоровые) животные [12]. Биохимический анализ крови проводили до начала эксперимента и на 5-е, 15-е, 30-е сут. опыта. Все животные находились в одинаковых условиях содержания с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [13] и «Правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ».

Биохимические исследования включали оценку метаболических эффектов исследуемого гепатотоксиканта на такие показатели, как маркеры функционального состояния печени (активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), глутамилтранспептидазы (ГГТ), уровень общего билирубина).

Полученные в результате исследования данные подвергнуты вариационно-статистической обработке с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследования. Ранее проведёнными исследованиями установлено, что на 5-е сут. эксперимента проявлены патобиохимические изменения, характеризующие нарушения функциональной активности печени и включающие формирование гипопроteinемии, дислипидемии [12].

Для формирования модели токсического поражения печени кроликам вводили в качестве токсиканта тетрахлорметан, после чего были отмечены выраженные изменения активности ферментов-маркеров функционального состояния печени. В сыворотке крови наблюдалось существенное увеличение активности ферментов АСТ и АЛТ уже на 5-е сут. эксперимента соответственно в 7–9 раз по сравнению со значениями у животных контрольной группы. У кроликов I гр. уровень АЛТ увеличился в 7 раз к фоновому значению, II гр. – в 6 раз, III гр. – в 7,6, что указывает на наличие серьёзных функциональных нарушений печени. Изменения показателя АЛТ в сыворотке крови животных I гр. опытной гр. к 15-м сут. носили недостоверный характер и уменьшились незначительно по сравнению с показателями на 5-е сут., II гр. – в 3,6 раза, у III гр. в 5,7 раза. На 30-е сутки эксперимента уровень АЛТ в крови исследуемых животных всех опытных групп уменьшился по отношению к 5-м сут. эксперимента: у I гр. опытной гр. в 1,6 раза с недостоверным характером значений, II гр. – в 4 раза, III гр. – в 3 раза соответственно (табл.).

Изменение печёночных маркеров в сыворотке крови подопытных кроликов (n=5; X±Sx)

Показатель	Группа	Срок исследования, сут.			
		фоновые значения	5	15	30
Общий билирубин, мкмоль/л	I группа	4,52±0,25	15,16±0,53*	14,40±0,44*	12,36±0,71*
	II группа	4,24±0,37	15,20±0,44*	11,36±0,48*	10,94±0,21*
	III группа	4,92±0,41	13,28±0,43*	12,64±0,64*	9,50±0,38*
	IV интактные	4,72±0,47	5,12±0,55	4,42±0,43	4,92±0,58
АЛТ, Е/л	I группа	42,20 ±3,66	348,98±22,91*	331,80±26,83*	278,60±22,35*
	II группа	44,60±5,66	315,00±23,43*	202,00±17,54*	117,00±5,28*
	III группа	40,60±3,67	349,40±24,56*	147,80±12,97*	100,00±4,70*
	IV интактные	39,20±3,66	41,80±4,94	43,20±3,91	45,40±3,27
АСТ, Е/л	I группа	17,20±2,30	178,80±4,83*	133,80±9,03*	99,40±4,35*
	II группа	15,00±1,17	178,20±11,45*	92,20±5,03*	86,60±3,55*
	III группа	16,30±1,37	125,80±8,40*	96,60±4,34*	52,25±3,10*
	IV интактные	14,00±1,84	15,60±0,84	15,80±1,43	15,00±1,0
ЛДГ, Е/л	I группа	184,20±9,60	470,80±30,66*	344,40±19,68*	184,20±11,70*
	II группа	198,80±15,4	442,80±26,62*	303,20±10,33*	261,40±15,56
	III группа	179,20±9,82	424,00±26,20*	255,00±15,15*	176,20±11,71
	IV интактные	178,80±7,81	186,60±9,92	162,60±12,19	158,25±7,61
ГГТ, Е/л	I группа	5,83±0,86	54,54±5,54*	36,30±2,25*	17,48±1,23*
	II группа	4,60±0,27	41,78±2,25*	17,00±1,62*	12,92±0,96*
	III группа	4,96±0,45	29,70±1,59*	20,04±2,08*	7,24±0,64
	IV интактные	6,10±0,33	5,25±0,51	4,96±0,35	6,08±0,54
Щелочная фосфатаза, Е/л	I группа	74,00±6,28	397,00±15,77*	316,20±37,89*	274,60±10,35*
	II группа	75,60±5,71	271,60±22,16*	212,40±7,56*	157,00±7,35*
	III группа	85,20±7,51	264,00±23,21*	161,80±15,36*	129,40±6,41*
	IV интактные	86,20±8,93	98,60±6,93	102,20±7,30	91,60±4,86

Примечание: *P<0,01 по отношению к фону

Уровень АСТ, так же как и уровень АЛТ, на 5-е сут. эксперимента в сыворотке крови кроликов всех опытных групп значительно повысился по отношению к фоновым и контрольным показателям. Так, у особей I гр. уровень АСТ увеличился в 9 раз относительно фона, II гр. – в 10 раз, III – в 7 раз. Уровень содержания АСТ в сыворотке крови кроликов I гр. к 15-м сут. практически не уменьшился и уменьшился в 2,5 раза по отношению к показателям на 5-е сут. эксперимента, у животных II гр. – в 5 раз, у III гр. – в 2 раза. На 30-е сутки исследования уровень АСТ в крови кроликов I, II, III опытных гр. и позитивные изменения носили более заметный характер и снизились у I гр. в 2,6 раза, у II гр. – в 6 раз, у III гр. – в 4,6 раза (табл.).

Показатели активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови животных опытных гр. имели несущественный характер изменений на 5-е сут. эксперимента, однако превысили данные, полученные в контрольной группе, в 1,5 раза. На 15-е сут. исследования уровень ЛДГ в крови кроликов всех групп понизился в 3-4 раза. На 30-е сут. уровень ЛДГ в крови животных I, II, III опытных гр. отличался от фоновых показателей незначительно и был близок к норме физиологических значений.

Уровень ГГТ, как и ЛДГ, в сыворотке крови кроликов на 5-е сут. всех опытных групп повысился. Активность ГГТ в сыворотке крови животных I и II гр. возросла в 8 раз по сравнению с фоновыми значениями, а в III гр., где препарат применяли до начала эксперимента, в 5 раз. На 15-е и 30-е сут. исследования уровень ГГТ понизился в крови особей всех групп.

Показатель щелочной фосфатазы в крови кроликов после начала токсического воздействия повысился в сыворотке животных I, II, III опытных гр. в 4,4; 2,6 и 2 раза соответственно (табл.).

Исследование одного из ключевых показателей пигментного обмена – билирубина крови – позволило зафиксировать достоверное увеличение его содержания в крови кроликов с экспериментальным токсическим поражением печени, вызванным введением тетрахлорметана. Концентрация общего билирубина на 5-е сут. эксперимента в сыворотке крови животных I и II опытных гр. в 3 раза превысила данный показатель по сравнению с фоновыми значениями и значениями у животных контрольной гр. У кроликов III гр., где превентивно применяли испытуемый препарат, данный показатель увеличился в 2 раза по сравнению с фоновыми и контрольными значениями. На 15-е сутки эксперимента в крови кроликов I, II, III гр. концентрация общего билирубина уменьшилась по сравнению с показателями на 5-е сут. в 9; 2,5 и 0,5 раза соответственно, однако его содержание у подопытных животных оставалось достоверно

выше, чем соответствующие показатели у кроликов интактной группы. Так, уровень общего билирубина сыворотки крови на 30-е сутки наблюдения в фоновых значениях варьировался от 0,3 до 0,5, но превышал контрольные данные в 2–2,5 раза у животных II и III групп и в 3 раза – у кроликов I опытной гр., не получавшей терапевтической поддержки.

Выводы. Проведённое исследование позволяет сделать вывод, что изучаемый препарат Янтовет оказывает положительное действие на функциональное состояние печени животных, что характеризуется снижением активности ферментов АСТ, АЛТ, ГГТ и концентрации общего билирубина.

Максимальный терапевтический эффект был получен в третьей опытной группе, где препарат применялся ещё и в качестве профилактического средства до начала эксперимента. У этих животных отрицательная динамика в некоторых показателях была менее выраженной и нормализация происходила в более быстрые сроки, что делает перспективным включение препарата в комбинированную схему терапии больных животных с патологией печени.

Литература

1. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф. Гепатотоксические вещества и современные направления коррекции гепатотоксического действия // Медицинский вестник Башкортостана. 2011. № 6. С. 131–137.
2. Абдуллаев Н.Х., Каримов Х.Я. Печень при интоксикации гепатотропными ядами. Ташкент: Медицина, 1989. 96 с.
3. Оковитый С.В. Исследование гепатопротекторного эффекта бемитила на модели длительного токсического поражения печени / С.В. Оковитый, Н.Н. Безбородкина, И.В. Зарубина [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2006. № 2. С. 52–54.
4. Ивницкий Ю.Ю., Головки А.И., Софронов Г.А. Янтарная кислота в системе метаболической коррекции функционального состояния и резистентности организма. СПб., 1998. 97 с.
5. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы гипоксии // Вестник Российской академии медицинских наук. 2000. № 9. С. 3.
6. Лукьянова Л.Д. Фармакологическая коррекция митохондриальной дисфункции при гипоксии // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. Воронеж, 2004. С. 456.
7. Семиголовский Н.Ю. Клиническая классификация антигипоксантов // Фармакотерапия гипоксии и её последствий при критических состояниях: матер. Всерос. конф. Санкт-Петербург, 7–8 октября 2004 г. СПб., 2004. С. 36–38.
8. Грачева О.А. Коррекция гепатотоксического синдрома при кетозе коров // Ветеринарная патология. 2017. № 1 (59). С. 48.
9. Пугатина А.Е., Грачева О.А. Оценка влияния препарата Янтовет на биохимические показатели крови при экспериментальном гепатите кроликов // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2017. Т. 232. Вып. 4. С. 116.
10. Лызики А.Н. Модель токсического поражения печени у кроликов / А.Н. Лызики, Б.Б. Осипов, А.Г. Скуратов [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. 2015. № 2 (44). С. 45.
11. Александрова Т.В. Разработка наносомных форм флаволигнана силикристина: дис. ... канд. фарм. наук. М., 2010.
12. Пугатина А.Е., Грачева О.А. Динамика морфологических показателей при экспериментальном гепатите кроликов // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2018. Т. 234. Вып. 2. С. 162.
13. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург, 18 марта 1986.