

УДК: 616.36-002:615.35

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРЕПАРАТОВ СЕЛЕНА ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ У КРЫС

Ушаков С.С., Белявский В.Н.

УО «Гродненский государственный аграрный университет», Республика Беларусь

Изучение гепатопротекторных и профилактических свойств новых препаратов органического и полуорганического селена в сравнении с селенитом натрия и селеном.

Методы исследований: клинические, гематологические, патологоанатомические, биохимические, статистические.

Результаты: препараты селена в профилактических дозах не оказали отрицательного влияния на морфологические и биохимические показатели крови. Выраженный гепатопротекторный эффект выявлен при использовании «А-Е-селен» и селенопирана, что указывает на перспективу их применения для профилактики токсического гепатита у домашних и сельскохозяйственных животных.

Studying hepatoprotective and preventive properties of preparations organic and semiorganic selenium in comparison with selenite of sodium and selen.

Methods of researches: clinical, hematological, pathoanatomical, biochemical, statistical.

Results: preparations of selenium in preventive doses have not rendered negative influence on morphological and biochemical parameters of blood. Expressed hepatoprotective effect is revealed at use «A-E-Se» and selenopiran, that specifies prospect of their application for preventive maintenance of a toxic hepatitis at house and agricultural animals.

Введение. Заболевания печени занимают одно из ведущих мест среди незаразной патологии. На их долю приходится до 40% случаев [1]. Недостаточный уровень профилактики и лечения гепатопатий, особенно острых форм, в значительной мере связан с особенностью их течения. Терапия тяжелых поражений печени, как правило, малоэффективна и экономически не выгодна [2].

Пусковым механизмом в патогенезе гепатопатологий является аномальная активизация процессов перекисного окисления, возникающая в цикле ишемия-реперфузия [3]. В результате ускорения перекисидации и оксигенации возрастает титр радикальных форм, которые провоцируют повреждение биологических мембран гепатоцитов [4]. Скорость течения реакций перекисного окисления напрямую коррелируют с интенсивностью воспалительных процессов [5]. Это объясняется нарушением микроциркуляции и развитием гипоксии в очаге воспаления. Антагонистом прооксидантного цитопатического воздействия является антиоксидантная система, от функционального состояния которой зависит степень адаптации организма к радикальному воздействию [6]. Таким образом, между функциональным состоянием антиоксидантной системы и интенсивностью воспалительного процесса прослеживается обратнопропорциональная зависимость.

Основным звеном антиоксидантной защиты является система глутатиона, представленная глутатионредуктазой, глутатионпероксидазой и непосредственно глутатионом. Ее функциональная активность находится в зависимости от концентрации селена, поскольку этот микроэлемент входит в состав активного центра ферментов глутатионовой группы. Установлено, что при развитии патологии печени наблюдается уменьшение количества селена в крови и внутренних органах [7]. Таким образом, логично предположить, что, повышая концентрацию селена в организме животного, можно предупредить развитие тяжелых форм гепатопатий.

В связи с этим особое значение приобретает профилактика гепатопатологий с применением препаратов селена. В литературе описаны данные о хорошем терапевтическом эффекте при использовании селенита натрия [8, 9]. Однако этот способ не получил широкого распространения в виду высокой токсичности препарата. В последние годы ведутся исследования по созданию малотоксичных препаратов селена с высокой степенью биодоступности микроэлемента.

Селен – это микроэлемент, обладающий ярко выраженными антиоксидантными свойствами. Он участвует в нейтрализации свободных радикалов, которые образуются в клетке не только в стресс-условиях, но и в процессе физиологического метаболизма [10]. Учитывая высокий повреждающий потенциал свободных радикалов, можно сказать, что селен в составе антиоксидантной системы участвует в поддержании структурно-функциональной целостности организма.

Целью наших исследований явилось изучение гепатопротекторных и профилактических свойств препаратов органического и полуорганического селена в сравнении с селенитом натрия и селеном, традиционно используемых в ветеринарной практике.

Материалы и методы. «А-Е-селен» - комплексный препарат, включающий полуорганический селен и водорастворимые формы витаминов А и Е, повышающие биодоступность селена [11,12]. Селенопиран - это селеноорганическое, гетероциклическое соединение 9-фенилсимметричный октагидроселеноксантен синтезированный в Пензенской ГСХА. Его действие сопоставимо с метионином, в результате чего он в форме селенометионина способен замещать аминокислоту в белках, не изменяя их свойств. В этой конфигурации селен становится менее токсичным [13].

Для проведения исследований было сформировано 5 групп-аналогов из белых крыс линии «Вистар». Четырем группам животных в корм (из расчета на 100 г) добавляли препараты селена в течение 13 дней. Животные второй и четвертой групп служили контролем и получали вместе с кормом соответственно селен (0,4 мл.) и селенит натрия (0,1 мг). В рацион животных третьей группы вводили «А-Е-селен» (0,4 мл.), а пятой – селенопиран (0,2 мг). Первая группа сохранялась интактной. Для равномерного распределения препаратов в корме, они предварительно растворялись в 50 мл дистиллированной воды, а селенопиран (10 мг) – сначала в 5 мл спирта, из которого использовалась пятидесятая часть.

В конце первого этапа исследований часть крыс оглушали и убивали методом декапитации с отбором крови. Кровь стабилизировалась гепарином из расчета 25 мкл (1мл – 5000 ЕД) на 5 мл и использовалась для проведения общего клинического анализа на автоматическом цитосчетчике «MEDONIC», определения показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы. Основные биохимические показатели определяли с помощью анализатора «AUTOLIZER DIALAB». Крыс вскрывали и проводили патолого-анатомическое исследование органов и систем с экстирпацией и взвешиванием печени, почек и селезенки для определения их абсолютной и относительной массы.

Для исследования профилактических и гепатопротекторных свойств препаратов селена, оставшимся крысам, путем однократного внутривенного введения 50% четыреххлористого углерода на оливковом масле, из расчета 4 мл на килограмм живой массы, индуцировалась острая форма гепатита по общепринятой методике [14].

Через 36 часов после затравки, крыс убивали и проводили аналогичные исследования, как и на первом этапе. Полученные результаты подвергались статистической обработке по методу Стьюдента-Фишера.

Результаты. На первом этапе исследований было установлено, что препараты селена не оказали существенного воздействия на печень и организм в целом, что подтверждается результатами общего клинического и биохимического исследований крови (табл.1;2). Отклонений от нормы выявлено не было. По имеющимся различиям в количественном цитэмическом отношении и уровню гематокрита, можно судить о стимулирующем влиянии селенита натрия на морфологический состав и содержание гемоглобина в крови.

При изучении маркеров печеночного поражения в сыворотке крови животных пятой, четвертой, третьей и второй групп по отношению к интактной до введения четыреххлористого углерода были выявлены колебания, которые находились в пределах нормы (табл.2). Стоит отметить, что у животных, получавших селен и селенопиран уровень билирубина был достоверно выше, чем в интактной группе соответственно в 1.4 и 1.2 раза.

Со стороны аминотрансфераз значительные изменения были обнаружены у животных, получавших селенопиран. Этот препарат привел к снижению энзиматической активности по отношению к интактной группе в среднем на 32,6% аспартатаминотрансферазы (АСТ) и на 20% аланинаминотрансферазы (АЛТ) (табл.2).

Ученые записки УО ВГАВМ, том 43, выпуск 1

По остальным биохимическим показателям существенных изменений по группам не наблюдалось.

Таблица 1 - Клинические показатели крови крыс до затравки

	Интактн	Селед	A-E-Se	Селенит Na	Селенопиран
Эритроц. ($10^{12}/л$)	7,73±0,05	8,65±0,19*	7,91±0,15*	8,25±0,10*	7,61±0,21*
Тромбоц. ($10^9/л$)	416,4±3,66	542,4±3,50*	460,8±14,44*	392,10±5,80*	490,25±13,38*
Лейкоц. ($10^9/л$)	8,66±0,31	8,00±0,23	12,22±1,18*	11,75±0,94*	10,33±0,98
Гемогл. (г/л)	143,2±3,51	162,6±2,66*	147,4±1,96*	154,75±4,61	144,25±3,06
Гематокрит (%)	41,92±0,40	46,72±0,51*	41,32±0,34*	39,08±0,87*	41,63±0,61

Разница достоверна при * $p < 0,05$

Таблица 2 - Биохимические показатели крови крыс до затравки

	Интактн	Селед	A-E-Se	Селенит Na	Селенопир
АЛТ (Е/л)	31,21±4,32	31,30±3,01	28,04±2,17	21,22±2,20	24,94±2,23
Альбумины, (г/л)	39,20±1,32	39,32±0,69	36,84±0,51*	38,25±0,48	37,31±0,47
АСТ (Е/л)	68,17±2,37	87,82±8,90	74,82±11,98	76,93±10,92	45,94±1,62*
Билирубин (мкмоль/л)	12,86±1,34	18,03±1,16*	11,47±1,85*	19,43±1,82*	15,76±3,21
Холестерин (ммоль/л)	1,27±0,08	1,22±0,09	1,31±0,10	1,66±0,07*	1,76±0,17
Глюкоза (ммоль/л)	3,26±0,14	3,44±0,11	2,96±0,06*	3,40±0,14	2,64±0,24*
Протеин (г/л)	77,08±2,41	80,42±2,00	79,60±1,05	80,20±0,59	77,26±0,67*

Разница достоверна при * $p < 0,05$

Анализируя данные биохимических исследований крови крыс первой группы до и после затравки, можно сказать, что введение четыреххлористого углерода (CCl_4) способствовало повышению активности аминотрансфераз: АСТ в 1,2 раза и АЛТ в 4,4 раза, что является чувствительным индикатором цитолитических повреждений гепатоцитов.

Повышение уровня общего билирубина в 1,5 раза в сыворотке крови животных первой группы после затравки (табл.4) позволяют сделать вывод о развитии холестатических явлений в печени. Снижение уровня белков альбуминовой фракции на 21%, незначительное уменьшение количества общего протеина и увеличение числа лейкоцитов (табл.3) в крови указывают на развитие воспалительного и гепатодепрессивного биохимических синдромов.

Таблица 3 - Клинические показатели крови крыс после затравки

	Контроль	Селед	A-E-Se	Селенит Na	Селенопир
Эритроц. ($10^{12}/л$)	7,56±0,31	8,09±0,22	8,63±0,18	8,89±0,15*	7,76±0,76
Тромбоциты ($10^9/л$)	326,20 ±39,72	291,80 ±17,93	364,20 ±19,45*	284,25 ±60,33	316,00 ±51,69
Лейкоц. ($10^9/л$)	13,30±0,77	17,40±3,06	12,76±0,36	11,15±1,181	16,12±2,50
Гемогл. (г/л)	137,80±5,25	141,40±3,57	153,80±2,03*	153,50±2,35*	141,00±11,98
Гематокрит (%)	41,04±1,02	41,70±0,85	44,48±0,95	43,94±0,95*	44,38±0,65

Разница достоверна при * $p < 0,05$

Основываясь на выявленных синдромах и результатах общего клинического и биохимического исследований, был установлен диагноз – острый токсический гепатит, который подтвердился результатами патологоанатомических (печень увеличена в объеме, дряблой консистенции, ярко-песочного цвета, края притуплены) и гистологических исследований.

Опираясь на данные, полученные в интактной и контрольной группах, можно провести сравнительный скрининг гепатопротекторной, профилактической эффективности препаратов селена. Так, биохимически установлено, что селенопиран в профилактических дозах приводит к снижению активности АЛТ на 18,7% и

уменьшению количества билирубина на 32%, но при этом уровень АСТ превосходил показатели первой группы (табл.4). «А-Е-селен» проявил гепатопротекторный эффект касательно цитолитической активности ферментов. У животных этой группы минимальная активность аминотрансфераз, но самый высокий уровень билирубина (табл.4).

Известно, что селенит натрия проявляет положительный терапевтический эффект при лечении заболеваний печени. Профилактическое использование этого препарата, как показывают данные наших исследований, оказалось малоэффективным.

Таблица 4 - Биохимические показатели крови крыс после затравки

	Контроль	Селед	А-Е-Se	Селенит Na	Селенопир
АЛТ (Е/л)	138,08±12,98	147,91±24,99	77,48±4,49*	153,51±11,12	112,84±23,91
Альбумины (г/л)	32,37±4,83	25,41±3,23	31,44±3,54	44,82±1,32	39,61±1,13*
АСТ (Е/л)	81,68±3,87	61,27±12,03	44,78±6,22	112,53±12,72	96,42±5,78
Билирубин (мкмоль/л)	18,48±2,31	12,82±3,31	15,00±2,22	14,60±2,19	12,54±1,35
Холестерин (ммоль/л)	1,25±0,10	1,29±0,09	1,53±0,12	1,66±0,12	1,32±0,06*
Креатинин (мкмоль/л)	67,80±2,87	73,20±1,39	71,20±3,73	61,20±3,09*	69,20±1,66
Глюкоза (ммоль/л)	4,06±0,20	4,04±0,14	3,42±0,05*	4,02±0,20	4,28±0,13
Протеин (г/л)	76,12±3,39	80,60±1,40	84,08±2,38	73,92±3,16	76,68±1,06

Разница достоверна при * $p < 0,05$

Средние значения аминотрансфераз и билирубина по группам колеблются в широких пределах, о чем свидетельствуют показатели ошибки средней m . Это объясняется множеством индивидуальных особенностей животных, в числе которых тип высшей нервной деятельности, уровень метаболизма, активность системы цитохромов, чувствительность организма к ксенобиотикам и т.д. Т.о., анализ результатов исследований индивидуально по каждому животному, указывает на наличие гепатопротекторного эффекта у всех препаратов, но у одних («А-Е-селен», селенопиран) он более выражен, а у других (селенит натрия, селед) менее.

Заключение.

1. Препараты селена в профилактических дозах не оказывают отрицательного влияния на морфологические и биохимические показатели крови.

2. Уменьшение количества общего белка, за счет снижения уровня альбуминов, увеличение концентрации холестерина и билирубина, количества лейкоцитов, возрастание активности АЛТ, АСТ, патоморфологические изменения в печени животных первой группы свидетельствуют о развитии токсического гепатита.

3. Используемые препараты селена оказали профилактическое действие при CCl_4 -гепатите. Более выраженный гепатопротекторный эффект выявлен при использовании «А-Е-селен» и селенопирана, что указывает на перспективу их применения для профилактики токсического гепатита у домашних и сельскохозяйственных животных.

Литература. 1. Багаутдинов, А.М. Экспериментальный и спонтанный гепатоз у свиней: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.02/ А.М. Багаутдинов; Башкир. гос. аграр. ун-т. - Уфа, 1999. - 22 с. 2. Венгеровский, А.И. Гепатозащитное действие концентрата сока из плодов *Hipporrhaea rhamnoides* L. при экспериментальном CCl_4 -гепатите/ А.И. Венгеровский, И.М. Седых, Т.Ю. Мизина, М.Б. Плотникова// Растительные ресурсы. - 2001. - Т. 30, Вып. 4. - С. 53-56. 3. Weiss, J.J. Oxygen, ischemia and inflammation/ J.J. Weiss// *Acta Physiol. Scand.* - 1984. - Suppl. 548. - P.9-37. 4. Davies, K.J. Biochem. Soc. Symp. - 1995. - V.61. - P.1 - 31. 5. Макаренко, Е.В. Антиоксидантная система эритроцитов при хронических заболеваниях печени/ Е.В. Макаренко, И.В. Козловский// *Тер. архив.* - 1989. - Т.61, N.9. - С.115-118. 6. Шувалова, Е.П. Значение систем антиоксидантной защиты крови в адаптации к инфекционному процессу при вирусном гепатите В/ Е.П. Шувалова, Т.В. Антонова, В.Б. Барановская // *Тер. архив.* - 1991. - Т.63, N.11. - С.47-49. 7. Thruluvath, P.J. Selenium in chronic liver disease/ P.J. Thruluvath, D.R. Triger // *J. Hepatol.* - 1992. - Vol. 14. - P.176-182. 8. Виноградов, Л.Ф. Регуляция антиоксидантами изменений экскреторной функции печени при токсическом гепатите/ Л.Ф. Виноградов, Ж.А. Мирзоян // *Эксперим. и клин. фармакол.* - 1993. - Т. 56, N5. - С.50-52. 9. Скакун, Н.П. Гепатозащитный эффект токоферола ацетата и селеносодержащих препаратов при поражении печени тетрациклиновыми антибиотиками/ Н.П. Скакун, И.Ю. Высоцкий// *Антибиотики* - 1984. - Т. XXIX, N3. - С.223-226. 10. Surai, P.F. Selenium in poultry nutrition: 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity/ P.F. Surai// *World's Poultry Science Journal.* - 2002. - V. 58. - С.333-347. 11. Конь, И.Я. Современные представления о биологической роли селена и его значение в питании детей раннего возраста/ И.Я. Конь// Дефицит микроэлементов у детей грудного и раннего возраста: Институт питания Heinz, IV международный симпозиум. - М., 1995. - С.86-92. 12. Решетник, Л.А. Биохимическое и клиническое значение селена для здоровья человека/ Л.А. Решетник, Е.О. Парфенова; *Микроэлементы в медицине*, Т.2, Вып.2. - М.: КМК, 2001. - С.2-8. 13. Папазян, Т. Влияние форм селена на воспроизводство и продуктивность свиней/ Т. Папазян// *Ветеринария*. - 2006. - №11. - С.53-56. 14. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ/ Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева - изд. 2-е доп. и перераб. - М.: «Медицина», 2005. - 832с.