

УДК 616.36 - 002 – 07

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2020.2.116

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА С ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ «ГЕПАТОН» НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Понамарев В.С. - аспирант кафедры фармакологии и токсикологии (orcid: 0000- 0002-6852-3110)

Ключевые слова: периферическая кровь, гепатопротектор, безопасность, грызуны. **Keywords:** peripheral blood, hepatoprotector, safety, rodents.



РЕФЕРАТ

В настоящее время в ветеринарной науке остаётся значительной потребность в средствах с гепатопротективным эффектом, усиливающих способность печени противостоять действию различных химических агентов и стабилизирующих ее метаболизм в условиях увеличивающегося напряжения детоксицирующей функции. Целью работы являлось изучение безопасности гепатопротектора «Гепатон» для животных.

Для проведения эксперимента были сформированы 8 групп (2 контрольных группы, 2 группы интактных животных, 4 опытных группы) крыс по 10 голов в каждой (в указанные группы входили самцы и самки в равных пропорциях). Биохимические и гематологические исследования крови были проведены до начала эксперимента и спустя 90 и 180 дней после введения. Кровь от лабораторных животных была отобрана методом пункции в области хвостовой вены.

Следует отметить, что на 90 и 180 сутки исследования происходило умеренное, но статистически значимое увеличение количества гемоглобина, абсолютного количества эритроцитов, частичное абсолютное и относительное увеличение количества лимфоцитов и тромбоцитов периферической крови. Показатели коагулограммы за весь период наблюдения у подопытных животных достоверно не отличались от таковых в фоновой и контрольной группах.

ВВЕДЕНИЕ

Многофакторность патогенеза поражений печени требует, чтобы и защита осуществлялась на различных уровнях и структурах, что определяет перспективность поиска новых гепатопротекторов, способных обеспечивать восстановление клеточных мембран гепатоцитов, уменьшать воспалительные и дистрофические изменения, усиливать репаративные и морфофункциональные процессы в печени. А поскольку печень обладает высокой регенерационной способностью, фармакологическая коррекция гепатопатологических состояний позволяет не только снизить механизмы мультифакторных повреждение клеток печени до пределов,

не нарушающих функциональную способность органа, но и обеспечить снижение риска формирования метаболических осложнений всего организма животных.

Вот почему, разработка эффективных комплексных средств с направленным действием на гепатоциты, является перспективным направлением ветеринарной фармакологической науки, способным решить одну из важных проблем отечественного животноводства.

Однако многие вопросы, касающиеся разработки и использования таких препаратов, способных восстановить нарушенный гомеостаз, структуру и целостность мембран гепатоцитов, ингибировать процессы перекисного окисления липидов

как одного из звеньев патогенеза гепатопатий, стимулировать антиоксидантную защиту, еще не изучены и требуют проведения дальнейших исследований в этом направлении.

В настоящее время обширное распространение заболеваний печени различного генеза приводит к ситуации, в которой не прекращается поиск новых веществ, обладающих гепатопротективной активностью, которые обладают ярко выраженным действием, но одновременно с этим являются безопасными в ветеринарном отношении [1,5]. Для обеспечения высокого качества и надежности новых лекарственных препаратов необходимо изучать их безвредность для организма, для чего мы исследовали влияние гепатопротектора «Гепатон» на показатели периферической крови грызунов [ГОСТ Р ИСО 10993-11-2011]. Проанализировав литературные данные, было выявлено, что при испытании ветеринарных лекарственных средств наиболее целесообразно использовать методики расчета по Миллеру-Тейнтеру, Личфилду-Уилкингсону [4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на кафедре фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины. Экспериментальная часть работы была выполнена в виварии при университете на крысах из питомника РАМН «Рапполово» Ленинградской области.

Для исследования влияния гепатопротектора на периферическую кровь были отобраны крысы с учетом половозрастных особенностей (самцы, самки), из которых с использованием метода рандомизации были составлены 4 подопытных и 4 контрольных группы по 10 голов в каждой. При отборе животных учитывались такие показатели, как: отсутствие клинических признаков различных заболеваний, при этом погрешность в живой массе тела не превышала 20 процентов. Животным контрольной группы вводили равные объемы бидистиллированной воды.

Биохимические и гематологические исследования проводились до начала введения препарата и через 90 и 180 дней введения. Кровь получали пункцией хвостовой вены или (в конце исследования) после одномоментного гильотинирования.

Полученные в ходе эксперимента данные были статистически обработаны с использованием t – критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

За время всей экспериментальной части исследования грызуны были клинически здоровы: поведение и общее состояние во всех группах животных были схожими и соответствовали половозрастным особенностям.

Полученные данные по влиянию препарата на характер периферической крови представлены в таблицах 1-3.

При микроскопии мазков лимфоциты имеют ощутимо сморщенные нуклеусы с присутствием конденсатов хроматина, при применении азура изредка присутствует выраженная зернистость ярко-пурпурного цвета. Большая часть клеток сегментоядерной формы обладает слабо заметной зернистостью, что оценивается нами как вариант нормы. Нуклеусы эозинофильных клеток округлой формы, а нуклеусы эозинофилов и нейтрофилов кольцеобразны. Моноциты имеют сильное различие от лимфоцитов, обладают нуклеусом бобовидной формы, а также широкую протоплазматическую кайму, обладающую грануляцией. Кровяные пластинки обнаруживаются в виде ограниченных групп. Нами было отмечено, что на 90 и 180 сутки исследования наблюдалось посредственное, но значимое увеличение количества гемоглобина, абсолютного количества эритроцитов, фрагментарное абсолютное и относительное увеличение количества лимфоцитов и тромбоцитов периферической крови. Патологических изменений зафиксировано не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование морфологического состава крови лабораторных крыс по завер-

Таблица 1
Показатели периферической крови у лабораторных животных (крыс) до
начала исследования ($M \pm m$)

Показатели крови	Группы животных							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон» в дозировке 0,5 мг/кг		Препарат «Гепатон» в дозировке 10 мг/кг	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Hgb, г/дл	12.7±0.4	11.7±0.4	12.4±0.4	12.0±0.4	12.7±0.3	12.2±0.4	10.7±0.3	11.8±0.5
Гематокритное число (HCT), %	47.6±2.1	44.8±1.8	47.4±2.1	44.5±1.9	49.3±2.2	44.9±2.1	46.6±2.5	47.0±1.5
RDC, $10^{12}/л$	6.3±0.2	7.2±0.1	6.4±0.2	7.2±0.1	5.8±0.1	6.2±0.1	6.9±0.3	6.7±0.1
MCH, пг	16.9±0.5	19.1±0.3	16.8±0.5	19.2±0.3	17.2±0.4	17.4±0.4	18.5±0.4	17.6±0.6
MCV, μm^3	78.4±0.4	73.8±0.4	78.3±0.4	73.7±0.4	78.3±0.8	73.2±0.5	77.2±0.6	70.7±0.7
MCHC, %	26.1±0.5	25.1±0.4	26.0±0.5	25.1±0.4	27.9±0.5	27.4±0.5	26.9±0.3	25.4±0.5
Реакция оседания эритроцитов (ESR) по Панченкову, мм/ч	5.4±0.4	4.8±0.5	5.3±0.4	4.9±0.5	5.1±0.7	4.7±0.5	4.9±0.4	5.3±0.5
PLT, $10^9/л$	660±13	596±17	659±14	593±16	598±14	666±21	626±25	644±14
RTC, %	21.3±1.0	21.5±0.7	21.4±1.0	21.4±0.7	21.1±0.6	21.8±0.8	21.7±0.9	24.1±1.1
WBC, $10^9/л$	7.3±0.2	6.8±0.1	7.1±0.2	6.8±0.1	6.8±0.3	7.3±0.2	7.0±0.1	6.9±0.1
Палочкоядерные гранулоциты, %	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.6±0.1	0.3±0.1
Нейтрофильные гранулоциты, %	12.4±1.2	11.1±0.1	12.5±1.2	11.3±0.8	12.9±0.9	12.2±1.0	13.0±1.3	13.3±1.3
BAS, %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
EOS, %	2.4±0.3	1.1±0.1	2.4±0.3	1.1±0.1	2.1±0.1	2.5±0.3	3.1±0.5	2.4±0.2
MON, %	2.8±0.3	2.9±0.6	2.7±0.3	2.3±0.4	3.0±0.3	2.5±0.3	2.4±0.4	2.8±0.6
LYM, %	59.1±1.4	61.0±0.9	59.3±1.5	62.4±1.0	59.4±1.3	59.6±1.0	58.0±1.4	55.4±1.8
Плазмоциты, %	1.1±0.2	0.9±0.2	1.2±0.3	1.2±0.2	1.2±0.4	1.2±0.2	1.3±0.3	1.5±0.3
Свертывания, сек	51.5±2.1	56.5±2.1	50.5±1.9	56.0±2.4	48.6±1.8	54.6±2.5	52.5±1.7	50.7±1.9
Начало свертывания, сек	27.6±1.1	23.2±1.0	28.5±0.7	23.4±0.9	25.2±0.9	26.1±0.7	26.1±0.7	23.8±0.9
Окончание свертывания, сек	79.1±1.8	79.7±2.3	79.0±1.8	79.4±2.4	73.8±1.9	80.7±2.1	78.6±1.7	74.5±1.6
Скорость свертывания, оп. ед.	1.5±0.1	1.5±0.1	1.5±0.1	1.5±0.1	1.6±0.1	1.6±0.1	1.5±0.1	1.5±0.1
Начало ретракции и фибринолиза, сек	694±29	700±27	693±30	720±31	661±27	692±53	682±23	643±21
Скорость ретракции и фибринолиза, оп. ед.	4.6±0.1	4.9±0.4	4.7±0.1	4.6±0.1	4.6±0.1	4.3±0.1	4.4±0.1	4.9±0.1

* — достоверные отличия от контроля и фона ($p < 0.05$)

Таблица 2

Влияние препарата «Гепатон» на морфологический состав крови крыс спустя 90 дней после начала исследования ($M \pm m$)

Показатели крови	Группы животных							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон» в дозировке 0,5 мл/кг		Препарат «Гепатон» в дозировке 10 мл/кг	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Hgb, г/дл	10,8±0,2	11,1±0,3	10,7±0,2	11,3±0,3	13,0±0,5*	14,5±0,1*	13,0±0,5*	13,3±0,2*
Гематокритное число (HCT), %	47,8±1,1	48,5±2,1	48,4±1,0	48,7±2,1	55,3±2,1	44,0±2,8	50,9±1,0	49,8±3,0
RDC, $10^{12}/л$	6,5±0,1	6,1±0,2	6,6±0,1	6,2±0,1	7,2±0,1*	8,9±0,1*	8,1±0,1*	8,9±0,4*
MCH, пг	16,9±0,8	18,5±0,4	17,3±0,6	18,6±0,4	22,1±0,4	16,4±0,1	20,7±0,2	17,2±0,7
MCV, μm^3	74,0±0,8	73,6±0,7	74,3±0,9	73,8±0,7	80,0±1,0	76,5±0,7	77,8±0,8	73,5±0,9
MCHC, %	25,9±0,5	25,1±0,2	26,2±0,4	25,2±0,1	25,8±0,1	24,3±0,1	27,5±0,4	27,5±0,3
Реакция оседания эритроцитов (ESR) по Панченкову, мм/ч	4,7±0,6	5,0±0,6	4,8±0,6	5,1±0,6	4,4±0,6	4,7±0,5	4,9±0,6	5,1±0,5
PLT, $10^9/л$	574±13	630±16	575±13	640±19	715±16*	727±21*	706±30*	692±14*
RTC, %	23±0,9	22,1±1,0	22,9±0,9	22,2±1,0	21,7±0,6	22,6±1,0	22,3±0,5	21,5±0,8
WBC, $10^9/л$	7,2±0,1	8,2±0,2	7,3±0,1	8,3±0,2	6,9±0,2	6,7±0,1	6,7±0,2	6,8±0,2
Палочкоядерные гранулоциты, %	0,3±0,01	0,3±0,0	0,2±0,1	0,2±0,0	0,4±0,1	0,4±0,1	0,3±0,1	0,7±0,1
Нейтрофильные гранулоциты, %	13,4±1,6	13,8±1,8	11,9±1,3	13,8±1,5	11,7±0,9	12,8±1,1	9,9±0,6	14,4±1,5
BAS, %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
EOS, %	4,2±0,5	2,5±0,6	4,3±0,5	2,5±0,6	2,3±0,4	3,2±0,4	2,4±0,3	3,9±0,3
MON, %	4,2±0,5	4,0±0,7	4,2±0,5	4,4±0,8	3,0±0,5	4,2±0,9	3,5±0,2	3,0±0,8
LYM, %	54±1,3	56,4±1,5	55,1±1,6	56,6±2,4	59,6±1,0*	55,8±1,6	60,6±0,9*	55,5±1,9
Плазмочиты, %	1,0±0,1	1,0±0,2	1,4±0,3	1,1±0,3	1,3±0,3	1,1±0,3	1,0±0,2	1,0±0,3
Твердьвания, сек	43,8±3,5	43,0±2,9	43,4±2,5	43,2±2,2	45,5±1,9	40,7±1,5	45,9±3,5	45,0±2,1
Начало свертывания, сек	27,6±1,6	28,7±1,0	28,1±1,6	29,2±0,9	27,2±1,0	27,4±0,9	25,7±1,2	27,6±0,8
Окончание свертывания, сек	71,4±2,5	71,7±2,4	71,5±2,5	72,4±2,1	72,7±1,3	68,1±1,4	71,6±2,9	72,6±1,8
Скорость свертывания, отн. ед.	1,7±0,1	1,4±0,1	1,6±0,1	1,6±0,1	1,9±0,1	1,6±0,1	1,5±0,1	1,8±0,1
Начало ретракции и фибринолиза, сек	67,2±2,4	66,5±2,4	67,4±2,3	67,2±2,6	64,3±1,8	64,8±1,8	67,5±2,1	69,1±2,5
Скорость ретракции и фибринолиза, отн. ед.	4,5±0,1	4,5±0,1	4,74±0,1	4,7±0,1	5,1±0,1	4,9±0,1	4,7±0,1	4,1±0,1

* — достоверные отличия от контроля и фона ($p < 0.05$)

Таблица 3
Влияние препарата «Гепатон» на морфологический состав крови крыс
спустя 180 дней после начала исследования ($M \pm m$)

Показатели крови	Группы животных							
	Инактивные		Контроль		Препарат «Гепатон» в дозировке 0,5 мг/кг		Препарат «Гепатон» в дозировке 10 мг/кг	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Hgb, г/дл	12,5±0,1	11,8±0,3	12,4±0,1	12,0±0,2	13,6±0,1*	13,5±0,3*	13,4±0,3*	13,9±0,1*
Гематокритное число (HCT), %	50,8±1,0	54,0±1,3	50,7±1,0	54,6±1,0	51,6±1,9	48,8±1,0	52,6±1,9	51,3±1,9
RDC, $10^{12}/л$	6,4±0,3	5,9±0,2	6,2±0,1	6,1±0,1	7,6±0,1*	8,1±0,1*	8,2±0,1*	7,6±0,2*
MCH, пг	19,2±1,0	19,0±0,3	20,1±0,3	19,2±0,3	18,6±0,2	18,8±0,3	19,0±0,6	17,4±0,7
MCV, мкм ³	79,5±0,7	73,9±0,8	78,9±1,0	74,0±0,7	77,1±1,0	75,9±1,1	77,0±1,3	80,2±0,6
MCNC, %	26,3±0,3	24,4±0,7	26,1±0,2	24,8±0,5	26,6±0,3	27,0±0,2	27,7±0,1	23,9±0,2
Реакция оседания эритроцитов (ESR) по Панченкову, мм/ч	5,1±0,9	4,3±0,5	4,9±0,8	4,4±0,5	4,6±0,6	4,9±0,6	4,8±0,6	4,5±0,7
PLT, $10^9/л$	668±31	608±24	648±18	610±23	724±13*	786±21*	707±17*	709±30*
RTC, %	25,0±1,2	22,4±0,9	24,2±1,2	22,6±0,8	22,5±0,8	24,1±1,0	21,7±1,1	24,9±1,1
WBC, $10^9/л$	7,6±0,1	6,4±0,4	7,5±0,1	6,5±0,3	6,4±0,2	8,0±0,2	6,7±0,1	7,5±0,3
Палочкоядерные гранулоциты, %	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,5±0,2	0,3±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1
Нейтрофильные гранулоциты, %	16,0±1,7	15,2±1,3	13,5±1,3	13,4±1,1	9,6±0,5*	14,1±1,3	9,3±0,5*	14,3±1,2
BAS, %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
EOS, %	2,1±0,2	2,0±0,2	2,1±0,2	2,2±0,3	2,1±0,3	2,4±0,4	2,6±0,2	1,9±0,3
MON, %	4,2±0,6	3,2±0,4	3,6±0,6	3,4±0,4	3,9±0,6	3,1±0,1	4,6±0,2	2,7±0,4
LYM, %	51,6±2,3	55,6±0,9	55,1±1,7	56,9±1,1	60,3±1,0*	55,0±1,5	60,3±0,9*	54,7±1,8
Плазмоциты, %	0,7±0,1	1,2±0,1	1,2±0,3	1,2±0,2	1,0±0,5	1,0±0,2	1,1±0,2	1,1±0,2
Т свертывания, сек	52,1±3,1	49,4±1,5	52,5±1,7	48,7±1,1	53,8±2,6	49,3±2,2	49,5±1,5	51,9±2,2
Начало свертывания, сек	24,7±1,1	27,0±1,5	24,9±1,2	27,9±1,3	26,1±0,9	27,8±0,7	28,7±1,4	25,0±0,7
Окончание свертывания, сек	76,9±2,1	76,4±1,7	77,4±1,4	76,6±1,6	79,9±2,4	77,1±2,4	78,2±1,9	76,9±2,2
Скорость свертывания, отн. ед.	1,9±0,1	1,4±0,1	1,82±0,1	1,6±0,1	1,72±0,1	1,7±0,1	1,73±0,1	1,6±0,1
Начало ретракции и фибринолиза, сек	734±21	666±20	740±25	670±19	714±27	691±26	654±20	752±15
Скорость ретракции и фибринолиза, отн. ед.	4,0±0,2	4,4±0,2	4,2±0,1	4,6±0,1	4,4±0,1	4,6±0,1	4,6±0,1	4,7±0,1

* — достоверные отличия от контроля и фона ($p < 0.05$)

шению эксперимента показало, что различия в определяемых параметрах между опытными и контрольной группами были незначительными (на уровне тенденции) и находились в пределах физиологической нормы.

Результаты исследования показателей периферической крови, полученные при применении исследуемого гепатопротектора у животных, свидетельствует о переносимости ими препарата. Основные показатели периферической крови в ходе исследования находились в пределах видовой нормы, каких-либо патологические изменения зафиксированы не были. Таким образом, препарат «Гепатон» в контексте данного показателя можно считать безвредным.

The effect of the drug with hepatoprotective activity "Hepaton" on the peripheral blood parameters of laboratory animals. V. S. Ponomarev, postgraduate student of the department of pharmacology and toxicology

ABSTRACT

Today we can observe leak of hepatoprotective agents, which increase the resistance of the liver to the damage by chemical agents and stabilize their metabolism in cases of tension detoxifying function, together with a high need in them. The goal of this article was to find out the harmlessness of the hepatoprotector "Hepaton" in laboratory conditions.

For the experiment, were organized 8 groups, either for experiment and for control, of rodents (rats), which include 10 animals each (both genders). Biochemical and hematological analyzes were ran out before the injection of the drug, 90 and 180 days after start of the experiment. Blood was obtained by puncture of the tail vein or (at the end of the study) after simultaneous guillotination.

It should be mentioned that on the 90th and 180th day of the experiment, there was a mild, but statistically significant increase in the amount of hemoglobin, the absolute number of erythrocytes, a partial absolute and relative increase in count of white blood cells and platelets of peripheral

blood. Blood clotting tests parameters for the whole observation period in experimental animals didn't significantly differ from those at the start and in the control groups.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.Л., Лунегов А.М., Барышев В.А., Глушкова О.С., Большаков К.И. Учебное пособие к практическим занятиям по фармакогнозии для студентов ветеринарного факультета очной и заочной формы обучения.- СПб, 2017 г.-147 с.

2. Васькова, Л. Б. Методы и методики фармакоэкономических исследований : учеб. пособие / Л. Б. Васькова, Н. З. Мусина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 112 с.

3. ГОСТ 32296-2013. Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы. Межгосударственный стандарт.

4. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. Межгосударственный стандарт.

5. Оценка клинического состояния животных и применение лекарственных препаратов при болезнях пищеварительного аппарата/ А.В. Яшин, Г.В. Куляков, Г.Г. Щербаков, А.М. Лунегов, В.А. Барышев, И.И. Калужный.- СПб.; Саратов, 2019.- 160 с.