

Э.К. Рахматуллин, доктор ветеринарных наук

О.Д. Скляр, доктор ветеринарных наук

Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов
РФ, 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, 5

Ф.Г. Гизатуллина, доктор биологических наук

С.Г. Курин

Южно-Уральский государственный аграрный университет
РФ, 457100, Челябинская область, г. Троицк, ул. Гагарина, 13

E-mail: amil59@yandex.ru

УДК 577.1+619:615

DOI:10.30850/vrsn/2021/2/60-63

СОСТОЯНИЕ ДЕТОКСИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ «СТАРТИН-ФИТО»

Энтеротоксикоз при диспепсии обусловлен токсинами микроорганизмов микробной ассоциации и биогенными аминами, образующимися в просвете кишечника, в результате нарушения не только полостного, но и пристеночного пищеварения. Поражение печени при воздействии различных токсикантов связано с метаболизмом и активностью цитохрома P450-показателя монооксигеназной системы. В последние десятилетия внимание ученых привлекает проблема лекарственных поражений печени. «Стартин-фито» — комбинированный препарат, направленный для снятия эндогенной интоксикации при лечении диспепсии молодняка сельскохозяйственных животных. Изучали влияние препарата на монооксигеназную и антиоксидантную функции печени, применяя методику Д.Г. Розина (1964). В ее основе лежит способность различных химических веществ влиять на продолжительность сна лабораторных грызунов (мыши, крысы), вызванного гексеналом, который, как известно, инактивируется в печени. Были сформированы пять групп самок крыс двухмесячного возраста. Животным опытных групп (15 гол.) вводили «Стартин-фито» перорально 1 раз в дозе 6,3 мл/кг. Для контрольной группы (6 гол.) применяли дистиллированную воду. Общее состояние животных характеризовали биохимические показатели крови: количество общего белка, мочевины, глюкозы, общего билирубина, креатинина и активность ферментов аспартат- и аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы. Общий белок находили по биуретовой реакции; глюкозу — унифицированным глюкозооксидазным методом по окислению ортотолидина; концентрацию креатинина в сыворотке крови теллят — унифицированным способом по цветной реакции Яффе; мочевины — уреазным методом. Проведенные комплексные экспериментальные исследования показали, что препарат «Стартин-фито» при однократном введении крысам усиливает дезинтоксикационные процессы в печени, безопасен и не оказывает токсического действия.

Ключевые слова: телята, диспепсия, энтеротоксикоз, общий белок, мочевина, глюкоза, билирубин, ферменты аспартат- и аланинаминотрансфераза, лактатдегидрогеназа.

E.K. Rakhmatullin, *Grand PhD in Veterinary sciences*

O.D. Sklyarov, *Grand PhD in Veterinary sciences*

Federal State Budgetary Institution «The Russian State Center for animal feed and drug standardization and quality»

RF, 123022, g. Moskva, Zvenigorodskoe shosse, 5

F.G. Gizatullina, *Grand PhD in Biological sciences*

S.G. Kurin

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South Ural State Agrarian University»

RF, 457100, Chelyabinskaya oblast', g. Troick, ul. Gagarina, 13

E-mail: amil59@yandex.ru

STATUS OF A LIVER DETOXING SYSTEM WHEN USING «STARTIN-PHYTO»

Enterotoxemia in dyspepsia is caused by the microorganisms toxins of microbial association and biogenic amines formed in the intestinal lumen, as a result of a violation of not only cavity, but also parietal digestion. Liver damage when exposed to various toxicants is associated with the metabolism and activity of cytochrome P450, an indicator of the monooxygenase system. In recent decades, the attention of scientists has been receiving the problem of medicinal liver damage. «Startin-phyto» is a combined preparation aimed to removing endogenous intoxication in the treatment of dyspepsia in farm animal young stock. The effect of the drug on monooxygenase and antitoxic liver functions was studied using D.G. Rosin method (1964). It is based on the ability of various chemicals to affect amounts sleep of laboratory rodents (mice, rats) caused by hexenal, which is known to be inactivated in the liver. Five groups of two-month-old female rats were assembled. The animals of the experimental groups (15 animals) have been injected with «Startin-phyto» orally one time at a dose of 6.3 ml/kg. Distilled water for the control group (6 animals) has been used. The general condition of animals was characterized by the biochemical parameters of the blood: the amount of total protein, urea, glucose, total bilirubin, creatinine and the activity of the enzymes aspartate and alanine aminotransferase, lactate dehydrogenase. Total protein was analyzed by biuret reaction; glucose — by the unified glucose oxidase method for orthotolidine oxidation; the creatinine concentration in the blood serum of calves — in according to the Jaffe color reaction unified method; urea — by the urease method. The carried out complex experimental studies have shown that the drug «Startin-phyto», when administered once to rats, enhances detoxification processes in the liver, is safe and does not have a toxic effect on the liver.

Key words: calves, dyspepsia, enterotoxemia, total protein, urea, glucose, bilirubin, aspartate and alanine aminotransferase enzymes, lactate dehydrogenase.

Диспепсию новорожденных телят по этиологии считают одним из самых сложных заболеваний. Энтеротоксикоз при этом обусловлен и токсинами микроорганизмов микробной ассоциации, и биогенными аминами, образующимися в большом количестве в просвете кишечника, в результате нарушения не только полостного, но и пристеночного пищеварения.

Поражение печени при воздействии различных токсикантов, в том числе лекарственных препаратов, связано с метаболизмом и активностью цитохрома P450 — показателя монооксигеназной системы.

Многие лекарственные вещества, попадая в организм на стадии биотрансформации, превращаются в активные формы и оказывают необходимый лечебный, эффект. Известны ксенобиотики, которые не детоксицируются, а токсифицируются с участием монооксигеназной системы и становятся реакционноспособными. [1]

«Стартин-фито» — комбинированный препарат, направленный на снятие эндогенной интоксикации при лечении диспепсии молодняка сельскохозяйственных животных. Внимание ученых привлекает проблема безопасности ветеринарных препаратов, с точки зрения риска развития лекарственных поражений печени.

Цель работы — изучить наличие гепатотоксического действия рекомендованных средств для лечения телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

«Стартин-фито» — комбинированный препарат, представляющий собой порошкообразное вещество. Препарат массой 558 г расфасовывают в четыре полиэтиленовых пакета. «Стартин-фито» применяют новорожденным телятам в форме раствора для профилактики и лечения острых желудочно-кишечных болезней.

Изучали влияние препарата на монооксигеназную и антиоксидантную функцию печени, применяя методику Д.Г. Розина (1964). В ее основе лежит способность различных химических веществ влиять на продолжительность сна лабораторных грызунов (мыши, крысы), вызванного гексеналом, который, как известно, инактивируется в печени. Были сформированы пять групп самок крыс двухмесячного возраста. Животным опытных групп (15 гол.) вводили «Стартин-фито» перорально 1 раз в дозе 6,3 мл/кг. Для контрольной группы (6 гол.) применяли дистиллированную воду. Раствор гексенала готовили непосредственно перед употреблением и инъектировали белых крыс внутрибрюшинно в дозе 80 мг/кг массы тела через час, три, пять часов

и сутки после обработки препаратом. Продолжительность сна белых крыс фиксировали с момента принятия ими «бокового положения» до первых попыток изменить его. После гексеналового сна все экспериментальные крысы были подвергнуты эвтаназии и патоморфологическому исследованию. Для определения биохимических показателей отбирали пробы крови.

Шести крысам самцам вводили максимальную дозу «Стартин-фито» — 21400 мг/кг однократно внутривенно. Через 14 дней проводили эвтаназию, изучали массу животных, массу и весовой коэффициент печени, биохимические показатели крови: количество общего белка, мочевины, глюкозы, общего билирубина, креатинина и активность ферментов аспартат- и аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы. Общий белок находили по биуретовой реакции; глюкозу — унифицированным глюкозооксидазным методом по окислению ортолидина; концентрацию креатинина в сыворотке крови телят — унифицированным способом по цветной реакции Яффе; мочевины — уреазным методом. [3, 4]

Активность АлАТ и АсАТ определяли унифицированным динитрофенилгидразиновым способом Райтмана-Френкеля; содержание лактатдегидрогеназы в сыворотке крови — по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (метод Севела — Товарека).

Данные экспериментальных исследований обрабатывали методом вариационной статистики, используя прикладное программное обеспечение STATISTICA. В работе руководствовались рекомендациями для пользователей. [6] Статистическую значимость различий устанавливали по величине критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Организм новорожденного животного в ранний постнатальный период особенно подвержен влиянию неблагоприятных факторов внешней среды. Функциональная незрелость органов и систем может обуславливать возникновение неонатальной патологии, в том числе и развитие заболеваний печени. [5]

Однократное внутривенное введение крысам «Стартин-фито» в дозе 6,3 мл/кг не вызывало у животных токсических явлений. Установлено достоверное снижение продолжительности гексеналового сна через пять часов после введения препарата (табл. 1). Затем животные всех групп были подвергнуты эвтаназии. У них изучены масса и весовой коэффициент печени, биохимические показатели крови.

Установлено достоверное повышение массы и весового коэффициента печени через час и пять часов

Таблица 1.

Показатели подопытных животных после энтерального введения «Стартин-фито» в дозе 6,3 мл/кг

Показатель	Контроль	Введение препарата через			
		час	три часа	пять часов	сутки
Длительность сна, мин.	23,7±2,85	22,3±6,36	27,7±0,88	12,3±1,2*	17,0±0,58
Масса печени, г	5,81±0,51	7,93±0,33*	7,85±0,94	9,49±0,37*	7,0±0,66*
Весовой коэффициент печени	33,5±1,37	38,7±1,32*	37,1±6,38	38,9±1,62*	33,8±1,59

* — P<0,05 (то же в табл. 2, 3).

Таблица 2.

Биохимические показатели крови крыс после энтерального введения «Стартин-фито» в дозе 6,3 мл/кг

Показатель	Контроль	Ведение препарата через			
		час	три часа	пять часов	сутки
Общий белок, г/л	77,7±2,4	67,5±2,43*	72,9±1,93	69,1±2,42	72±0,5
Глюкоза, ммоль/л	4,03±0,42	3,77±0,12	3,67±0,38	4,4±0,15	5,1±0,8
Билирубин, мкмоль/л	1,76±0,26	2±0,1	1,33±0,68	1,47±0,09	1,8±0,27
Мочевина, ммоль/л	3,81±0,29	2,95±0,45	3,86±0,84	3,11±0,49	3,37±0,19
Креатинин, мкмоль/л	64±3,85	55,3±2,03	61,3±4,1	60,7±0,67	63,7±3,38
АлАТ, Е/л	100,3±9,1	109,3±12,3	118,7±4,37	120,3±8,95	104±2,89
АсАТ, Е/л	309,3±18,1	350±15,5	338,3±24,7	362,7±53,7	460,7±172
ЛДГ, Е/л	3111±154,4	3052±400,1	3663±534	2837,7±662	2468,7±199*

после введения «Стартин-фито», что свидетельствует об усилении дезинтоксикационных процессов. Препарат обладает выраженной ферментиндуцирующей активностью в отношении монооксигенозной системы печени: сокращает длительность гексеналового сна. Происходит индукция монооксигеназной системы печени, осуществляющей метаболизм гексенала и других ксенобиотиков, поступающих и образующихся в организме.

В мембранах эндоплазматического ретикулума катализируются монооксигеназная система. Первая стадия в системе выведения из организма гидрофобных молекул – реакции окисления, восстановления или гидролиза. Они превращают вещества в полярные водорастворимые метаболиты. В дальнейшем продукты метаболизма чужеродных веществ подвергаются конъюгации, катализируемой глутатион-S-трансферазой, сульфотрансферазой и UDP-глюкуронилтрансферазой. Конъюгацию с глутатионом принято рассматривать в качестве основного механизма детоксикации. [2]

Монооксигеназная система цитохрома P450 участвует в окислении многочисленных соединений как эндогенных, так и экзогенных. Ферменты этой группы играют важную роль в обмене стероидов, желчных кислот, ненасыщенных жирных кислот, фенольных метаболитов, а также в нейтрализации лекарств и ядов. [1, 7] У экспериментальных животных достоверно снижается количество общего белка через час и уменьшается активность ЛДГ через сутки после введения препарата (табл. 2). При изучении количества общего белка, глюкозы, билирубина, мочевины, креатинина, активности ферментов АлАТ и ЛДГ через три и пять часов достоверной разницы между показателями опытной и контрольной групп не обнаружено. Метаболизм «Стартин-фито», в первую очередь, в печени снижает белковый обмен через час после введения, через три часа уменьшается содержание глюкозы, билирубина (углеводный обмен), повышается активность ЛДГ. Снижение количества глюкозы, по всей вероятности, связано с повышением активности гликолитического фермента ЛДГ. Через пять часов уменьшается содержание мочевины и повышается активность АлАТ, что свидетельствует о снижении азотистого обмена, которое длится в течение суток эксперимента, в конце опыта достоверно уменьшается активность ЛДГ.

В результате экспериментальных исследований установлено, что препарат «Стартин-фито» при од-

нократном введении крысам усиливает дезинтоксикационные процессы в печени. Через пять часов после введения снижается продолжительность сна опытных крыс, увеличивается масса печени и весовой коэффициент печени, следовательно, усиливаются дезинтоксикационные процессы. Снижается количество общего белка через час и уменьшается активность ЛДГ через сутки. В содержании общего белка, глюкозы, билирубина, мочевины, креатинина, активности ферментов АлАТ и ЛДГ через три и пять часов после введения «Стартин-фито» достоверной разницы между группами не обнаружено. При метаболизме «Стартин-фито» в печени снижается белковый обмен (через час после введения), через три часа уменьшается количество глюкозы, билирубина, то есть снижается углеводный обмен и повышается активность ЛДГ. Снижение глюкозы, по всей вероятности, связано с повышением активности гликолитического фермента ЛДГ. Через пять часов уменьшаются показатели мочевины и повышается активность АлАТ, что свидетельствует о снижении азотистого обмена, которое длится в течение суток эксперимента.

Однократное внутрижелудочное введение крысам «Стартин-фито» в дозе 21400 мг/кг не вызывало у животных токсических явлений.

У экспериментальных животных через 14 дней после введения препарата достоверно повышаются масса печени и активность АлАТ соответственно на 31,4 %, 75,2 % (табл. 3). Отмечено недостоверное повышение массы животных на 31,4 %, весового коэффициента – 29,2 %, содержания общего белка –

Таблица 3. Биохимические показатели крови крыс через 14 суток после энтерального введения «Стартин-фито» в дозе 21400 мг/кг

Показатель	Контроль	«Стартин-фито»
Масса крыс	138,4±8,9	145,8±9,3
Печень, г	5,6±0,26	7,36±0,63*
Весовой коэффициент печени	40,7±1,22	52,6±6,21
Общий белок, г/л	55,1±2,27	57,14±0,98
Глюкоза, ммоль/л	4,06±0,38	3,98±0,31
Билирубин, мкмоль/л	2,56±0,18	2,22±0,07
Мочевина, ммоль/л	1,77±0,27	1,56±0,25
Креатинин, мкмоль/л	37±2,43	38,2±0,86
АлАТ, Е/л	63,8±3,07	111,8±20,4*
АсАТ, Е/л	283,8±38,3	293,4±34,9

3,7 %, активности АсАТ – 3,4 %, количества креатинина – 3,2 %. Выявлено недостоверное снижение показателей билирубина, мочевины и глюкозы соответственно на 13,3, 11,9 и 1,97 %. Разницы между группами не обнаружено.

При макроскопическом исследовании влияние препарата на структуру и состояние печени не установлено.

Таким образом, через две недели после введения «Стартин-фито» животные, пережившие интоксикацию, не отличались по этим показателям от контрольных.

Экспериментальные исследования показали, что препарат «Стартин-фито» при введении крысам не оказывает токсического действия на печень, максимально возможные дозы не приводят к гибели животных, не вызывают макроскопических изменений печени животных, ее отек, что подтверждается массовыми коэффициентами.

Необходимо отметить, что, несмотря на доминирующую роль печени в метаболизме «Стартин-фито», другие органы также принимают участие в этом процессе. Легкие и почки содержат ферменты фаз метаболизма. Особенно велика роль почек, имеющих специфическую систему захвата и катаболизма продуктов конъюгации, образующихся в печени. [2] Активность других органов, таких как кишечник, селезенка, мышечная ткань, мозг – значительно ниже.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кольман, Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем. – М.: Мир, 2000. – 470 с.
2. Куценко, С.А. Основы токсикологии / С.А. Куценко. – СПб.: Наука, 2002. – С. 147–396.
3. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др.; под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 174–275.
4. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник / И.П. Кондрахин, А.В. Ар-

- хипов, В.И. Левченко и др.; под ред. проф. И.П. Кондрахина – М.: КолосС, – 2004. – 88 с.
5. Роменский, Р.В. Гепатопатии телят в возникновении вторичных иммунодепрессивных состояний / Р.В. Роменский, П.И. Бреславец, А.В. Хмыров, Н.В. Роменская // Практик. – 2004. – № 9–10. – С. 30–35.
6. Солнцева, О.В. Анализ статистических данных в пакете STATISTICA / О.В. Солнцева, А.В. Севастьянов // Практическое руководство для пользователей. – Ульяновск: ГСХА, 2004. – 43 с.
7. Ortiz de Montellano, Paul R. Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry / Ortiz de Montellano, Paul R // 3rd edition. – New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. – ISBN 0-306-48324-6.

LIST OF SOURCES

1. Kol'man, Ya. Naglyadnaya biohimiya / Ya. Kol'man, K.-G. Rem. – M.: Mir, 2000. – 470 s.
2. Kucenko, S.A. Osnovy toksikologii / S.A. Kucenko. – SPb.: Nauka, 2002. – S. 147–396.
3. Laboratornye metody issledovaniya v klinike: Spravochnik / V.V. Men'shikov, L.N. Delektorskaya, R.P. Zolotnickaya i dr.; pod red. V.V. Men'shikova. – M.: Medicina, 1987. – S. 174–275.
4. Metody veterinarnoj klinicheskoy laboratornoj diagnostiki: Spravochnik / I.P. Kondrahin, A.V. Arhipov, V.I. Levchenko i dr; pod red. prof. I.P. Kondrahina – M.: KolosS, – 2004. – 88 s.
5. Romenskij, R.V. Gepatopatii telyat v vzniknovenii vtorichnyh immunodepressivnyh sostoyanij / R.V. Romenskij, P.I. Breslavec, A.V. Hmyrov, N.V. Romenskaya // Praktik. – 2004. – № 9–10. – S. 30–35.
6. Solnceva, O.V. Analiz statisticheskikh dannyh v pakete STATISTICA / O.V. Solnceva, A.V. Sevast'yanov // Prakticheskoe rukovodstvo dlya pol'zovatelej. – Ul'yanovsk: GSKHA, 2004. – 43 s.
7. Ortiz de Montellano, Paul R. Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry / Ortiz de Montellano, Paul R // 3rd edition. – New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. – ISBN 0-306-48324-6.