

На правах рукописи



СУЛАЙМАНОВА ГУЛЬНАРА ВЛАДИМИРОВНА

**Коррекция лекарственных поражений печени у собак
антиоксидантами растительного происхождения**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

16.00.01 – диагностика и терапия животных

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук**

Барнаул - 2005

Работа выполнена на кафедрах анатомии и физиологии сельскохозяйственных животных и внутренних незаразных болезней сельскохозяйственных животных ФГОУ ВПО «Красноярский государственный аграрный университет».

Научный руководитель:

доктор ветеринарных наук
Донкова Наталья Владимировна

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, профессор
Эленшлегер Андрей Андреевич

кандидат ветеринарных наук
Смирнова Валентина Васильевна

Ведущая организация – Иркутская государственная сельскохозяйственная академия

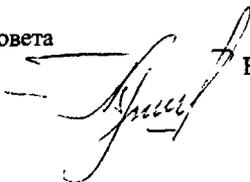
Защита состоится 28 сентября 2005 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 220.002.02 в Алтайском государственном аграрном университете по адресу:

656922, г. Барнаул, ул. Попова, 276, т/факс (3852) 31-30-48.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института ветеринарной медицины Алтайского государственного аграрного университета.

Автореферат разослан «25» августа 2005 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор ветеринарных наук, профессор



Барышников П.И.

2006-4
16230

2182679

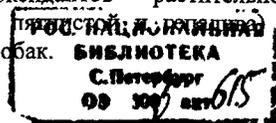
3

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последние годы возросла актуальность проблемы лекарственных поражений печени у животных в связи с широким применением в ветеринарии разнообразных лекарственных препаратов. Большинство из них для животного организма являются чужеродными, то есть ксенобиотиками, поэтому их применение в первую очередь вызывает повреждение печени – органа, выполняющего роль биологического фильтра на пути поступления экзогенных токсикантов в системный кровоток организма (Байматов В.Н., Волкова Е.С., Багаудинов А.М., 2001; Соколов В.Д. и др., 2002; Буверов А.О., 2002; Донкова Н.В., 2004). Спектр лекарственных препаратов, вызывающих поражения печени, насчитывает более 1000 наименований (Змушко Е.И., Белозеров Е.С., 2001). Выраженным гепатотоксическим действием обладают макроциклические лактоны – препараты нового поколения эндо- и эктоцидов биологического происхождения, к которым относится ивомек (Старченков С.В., 2001; Жуленко В.Н., Таланов Г.А., 2002). Однако в настоящее время отсутствуют четкие представления о механизме гепатотоксического действия макроциклических лактонов и характере морфофункциональных изменений, что имеет принципиальное значение в научном поиске и подборе препаратов для их коррекции.

Известно, что в основе патогенеза большинства лекарственных поражений печени лежат процессы активации свободно-радикального окисления, что вызывает дестабилизацию и деструкцию субклеточных мембран гепатоцитов, нарушение метаболизма с развитием ферментемии и цитотоксических эффектов (Ажунова Т.А., 1998). Поэтому для защиты печени от токсического действия ксенобиотиков, восстановления и нормализации ее функции используют гепатопротекторные средства, обладающие антиоксидантными свойствами и улучшающие обменные процессы в гепатоцитах. В современной медицине с этой целью применяют антиоксиданты растительного происхождения: препараты солянки холмовой и расторопши пятнистой, которые благодаря гармоничному сочетанию биологически активных веществ способны ингибировать перекисное окисление липидов, стабилизировать структуру и улучшать функцию мембран гепатоцитов (Саратиков А.С., Венгеровский А.И., 2000; Куркин В.А., 2003; Altoriau J. et al., 1992). Вместе с тем сведения о механизме лекарственных поражений печени у собак, в том числе при применении макроциклических лактонов и коррекции развивающихся морфофункциональных изменений антиоксидантами растительного происхождения в литературе отсутствуют.

Цель и задачи исследований. Основная цель представленной работы заключалась в изучении влияния антиоксидантов растительного происхождения (солянки холмовой, расторопши пятнистой) на лекарственные и спонтанные поражения печени у собак.



Были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать влияние препаратов солянки холмовой и расторопши пятнистой на морфофункциональное состояние печени у собак при экспериментальном токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом.
2. Изучить морфобиохимические показатели крови и гистоструктуру печени при применении препарата из группы макроциклических лактонов – ивомека у собак.
3. Исследовать гепатопротекторное действие экстракта солянки холмовой и гепалива на фоне применения ивомека у собак.
4. Изучить влияние антиоксидантов растительного происхождения (препаратов солянки холмовой и расторопши пятнистой) на морфофункциональное состояние печени у собак при спонтанном гепатозе.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование по изучению гепатозащитного действия препаратов растительного происхождения (солянки холмовой, расторопши пятнистой и гепалива) при экспериментальном (вызванным четыреххлористым углеродом) и лекарственном (вызванным ивомеком) поражении печени у собак.

Получены новые данные о механизме гепатотоксического действия ивомека у собак. Установлено, что применение препарата повышает активность щелочной фосфатазы и уровень билирубина и приводит к развитию холестаза.

Выявлена специфика морфофункциональных изменений в печени у собак под воздействием четыреххлористого углерода и ивомека.

Показано выраженное гепатопротекторное действие при гепатозе у собак растительных антиоксидантов – экстракта солянки холмовой и карсила.

Практическая значимость. Данная работа является фрагментом темы «Структурно-функциональные основы гомеостаза сельскохозяйственных животных при экстремальных состояниях» основных научных исследований факультета ветеринарной медицины Красноярского государственного аграрного университета.

Практическое значение работы состоит в использовании научно-практических рекомендаций: «Коррекция лекарственных гепатопатий у плотоядных растительными препаратами», утвержденных НТС КрасГАУ от 12 июля 2005г. (протокол № 9) в работе ГУ «Городская станция по борьбе с болезнями животных» г. Красноярска, УНЦВМ «Вита» КрасГАУ и в ветеринарных клиниках: «Красветмедика», «Синто-Красноярск», «Багира» при лечении лекарственных и спонтанных поражений печени у собак.

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедрах: «Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных» и «Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных» Красноярского государственного аграрного университета.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Антиоксидантные и гепатопротекторные свойства растительных препаратов (экстракта солянки холмовой и масла расторопши пятнистой) при экспериментальном токсическом гепатите у собак, вызванном четыреххлористым углеродом.
2. Сравнительный анализ терапевтической эффективности применения антиоксидантов растительного происхождения (экстракта солянки холмовой и масла расторопши пятнистой) при экспериментальном токсическом гепатите у собак.
3. Механизм гепатотоксического действия и морфофункциональные изменения печени у собак при применении ивомека – препарата из группы макроциклических лактонов.
4. Коррекция препаратами растительного происхождения (экстрактом солянки холмовой и гепаливом) лекарственного поражения печени у собак, вызванного ивомеком.
5. Фармакотерапевтическая эффективность экстракта солянки холмовой и карсила при спонтанном гепатозе собак.

Апробация работы. Основные материалы исследований доложены и получили одобрение на заседании Красноярского отделения Всероссийского общества физиологов им. И.П. Павлова (Красноярск, 2002); XI Международном симпозиуме «Гомеостаз и экстремальные состояния организма» (Красноярск, 2003); Всероссийской научной конференции «Аграрная наука на рубеже веков» (Красноярск, 2004); Международном съезде терапевтов, диагностов «Актуальные проблемы патологии животных» (Барнаул, 2005); Всероссийской конференции молодых ученых «Современные тенденции развития АПК» (Красноярск, 2005); Международной научно-практической конференции «Вузовская наука – сельскому хозяйству» (Барнаул, 2005) и ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава Красноярского государственного аграрного университета (2000-2005гг.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано шесть печатных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Список литературы включает 258 наименований, из них 90 зарубежных источников. Материалы диссертации иллюстрированы 25 рисунками и 9 таблицами.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования и обработка экспериментального материала проведены на базе учебно-научного центра ветеринарной медицины (УНЦВМ) «Вита» и на кафедрах: «Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных» и «Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных» Красноярского государственного аграрного университета в период с 2000 по 2005 г. Экспериментальная работа выполнена на собаках, клинически здоровых и больных гепатозом.

Экспериментальные животные и схема опытов. В первой серии опытов было сформировано четыре группы клинически здоровых собак четырехмесячного возраста, живой массой 6-8 кг, по пять голов в каждой. Животных содержали в индивидуальных клетках на стандартном рационе. Первая группа – интактный контроль; вторая группа – экспериментальный токсический гепатит (ЭТГ), вызванный внутрижелудочным введением 50%-го масляного раствора CCl_4 в дозе 1 мл/кг пятикратно через сутки; третья группа – ЭТГ + 5% водный раствор экстракта солянки холмовой (ЭСХ) в дозе 2 мл/кг; четвертая группа – ЭТГ + масло расторопши пятнистой (МРП) в дозе 0,2 мл/кг. ЭСХ и МРП вводили с первого дня затравки перорально три раза в день в течение 30-ти дней. Интервал между введением лекарственных ксенобиотиков и гепатопротекторов составлял 1,5-2 часа – время, необходимое для полного всасывания лекарственных препаратов из кишечника. На пятые, 10-е, 20-е и 30-е сутки опыта у собак исследовали морфобиохимические показатели крови; на 10-е и 30-е сутки – проводили биопсию печени.

Вторая серия опытов была проведена на клинически здоровых собаках породы немецкая овчарка пяти-, шестилетнего возраста, живой массой 45-50 кг, по пять голов в группе. Первая группа – интактный контроль; вторая группа – ивомек (1% раствор ивермектина в глицериноформальдегидной среде) подкожно в дозе 0,4 мг/кг двукратно с интервалом 14 дней; третья группа – ивомек+5% водный раствор экстракта солянки холмовой в дозе 2 мл/кг; четвертая группа – ивомек+гепалив в дозе 10 мг/кг. ЭСХ и гепалив вводили с первого дня применения ивомека перорально три раза в день в течение 30-ти дней. Собаки контрольных групп получали в эквивалентных количествах физиологический раствор. На 15-е и 30-е сутки у собак исследовали морфобиохимические показатели крови.

— — — Третья серия опытов была проведена на 20-ти собаках, больных гепатозом, поступающих в УНЦВМ «Вита». В качестве гепатопротекторов первой группе собак применяли 5% водный раствор экстракта солянки холмовой в дозе 2 мл/кг; второй группе – карсил внутрь в дозе 10 мг/кг. Препараты применяли три раза в день в течение 30-ти дней. На протяжении всего опыта проводили клиническое наблюдение за общим состоянием, с ежедневным измерением температуры, пульса и дыхания. На 15-е и 30-е сутки

исследовали морфобioхимические показатели крови; биопсию печени проводили до лечения и на 30-е сутки.

Методика оценки морфофункционального состояния печени. Для оценки морфофункционального состояния печени собак в ходе экспериментальных исследований были проведены:

– оценка состояния свободно-радикальных процессов в организме по уровню малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови по методике Л.И. Андреевой и соавт. (1988);

– определение в сыворотке крови активности органоспецифических маркеров цитолиза гепатоцитов – аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (АСТ); щелочной фосфатазы (ЩФ), общего белка, белковых фракций, глюкозы, мочевины, общего билирубина и показателей тимоловой пробы. Активность АЛТ и АСТ в сыворотке крови определяли методом Райманда-Френкеля; ЩФ – методом «конечной точки»; содержание общего белка в сыворотке крови – биуретовой реакцией; белковые фракции сыворотки крови – нефелометрическим методом; уровень глюкозы – глюкозооксидазным методом; мочевины – ферментативным методом; общий билирубин – методом Йендрашека; тимоловую пробу – методом Лахема;

– определение общетоксического действия химиопрепаратов: по количеству лейкоцитов, эритроцитов в крови и уровню гемоглобина. Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в счетных камерах Горяева; уровень гемоглобина определяли гемоглобинцианидным методом;

– ультразвунографическое исследование печени у собак проведено на приборе «Elmascan-911» с применением высокочастотного трансдуктора;

– биопсию правой доли печени у собак проводили с помощью режущей иглы (для биопсии печени и щитовидной железы);

– для гистологического анализа биопсийного материала печени биоптаты фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по методу ван-Гизон и просматривали под микроскопом МБИ-15.

Полученные цифровые данные обработаны методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента (Лакин Г.Ф., 1990) с помощью компьютерной программы BIostat.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Влияние экстракта солянки холмовой и масла расторопши пятнистой на морфофункциональное состояние печени собак с экспериментальным токсическим гепатитом, вызванным четыреххлористым углеродом

Перекисное окисление липидов и активность аминотрансфераз. Введение собакам CCl_4 индуцировало перекисное окисление липидов (ПОЛ), о чем свидетельствовало увеличение количества МДА в сыворотке крови: на пятые сутки опыта – на 48,2%; на 10-е сутки – на 92,6% по сравнению с

показателями интактной группы (табл. 1). С интенсификацией процессов ПОЛ нарастал синдром цитолиза гепатоцитов, о чем свидетельствует повышение уровня аминотрансфераз в сыворотке крови собак: активность АЛТ на пятые сутки опыта возрастала в 3,7 раза, а на 10-е сутки – в 9,2 раза; активность АСТ увеличивалась в 3,8 и 6,3 раза соответственно.

Экстракт солянки холмовой и масло расторопши пятнистой при ЭТГ у собак, вызванном CCl_4 , снижали активность процессов перекисного окисления липидов, что выражалось в уменьшении количества МДА в сыворотке крови, и обеспечивали стабилизацию клеточных мембран гепатоцитов, что проявлялось снижением активности аминотрансфераз. На пятые сутки эксперимента у собак с ЭТГ, получавших экстракт солянки холмовой, уменьшалась концентрация МДА в сыворотке крови на 14,3%; на этом фоне наблюдалось уменьшение цитолитического синдрома: активность АСТ снижалась на 25,9%. А при применении масла расторопши пятнистой достоверное снижение этих показателей отмечалось с 10-го дня эксперимента. В последующие сроки наблюдения положительная динамика от применения данных препаратов нарастала. Более выраженным антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием при ЭТГ у собак, вызванном CCl_4 , обладает экстракт солянки холмовой, по сравнению с маслом расторопши пятнистой.

Белок и белковые фракции. При экспериментальном токсическом гепатите собак, вызванном CCl_4 , нарушалась синтетическая функция печени, что проявлялось снижением уровня общего белка, преимущественно за счет альбуминов и α -глобулинов.

Применение растительных препаратов ограничивало изменения белковой картины крови, возникающие в результате действия CCl_4 (табл. 1). Под влиянием экстракта солянки холмовой в сыворотке крови собак с ЭТГ на 10-е сутки опыта уровень общего белка становился выше на 13,6%, приближаясь к значениям интактной группы, что происходило в основном за счет альбуминов и α -глобулинов, концентрация которых на 10-е сутки увеличилась на 33,9 и 44,9% соответственно. На этом фоне уровень γ -глобулиновой фракции белка снизился в 1,3 раза. Применение масла расторопши пятнистой собакам с ЭТГ приводило к достоверному повышению уровня альбуминов на 10-е сутки на 16,6% и α -глобулинов на 36,8%.

Мочевина и билирубин. Под действием CCl_4 у собак нарушаются мочевинообразовательная функция печени и пигментный обмен, что проявляется снижением в сыворотке крови уровня мочевины и повышением концентрации билирубина. Экстракт солянки холмовой и масло расторопши пятнистой сдерживали понижение концентрации мочевины и препятствовали избыточному образованию билирубина у собак с ЭТГ (табл. 1). Этот эффект проявился уже на пятые сутки эксперимента и сохранялся весь период наблюдения.

Таблица 1 Влияние экстракта солянки холмовой и масла расторопши пятнистой на биохимические показатели крови собак с ЭТГ

№	Условия опыта	МДА, мкмоль/л	АЛТ, ммоль/(ч·л)	АСТ, ммоль/(ч·л)	Общий белок, г/л	Билирубин, мкмоль/л	Мочевина, мкмоль/л
5-е сутки							
1	Интактные	4,44±0,12	0,79±0,07	0,45±0,03	54,0±0,79	10,4±0,27	5,22±0,04
2	ЭТГ	6,58±0,12***	2,91±0,21***	1,70±0,13***	50,6±0,57*	12,6±0,45**	4,68±0,10**
3	ЭТГ+ЭСХ	5,64±0,23**	2,63±0,40	1,26±0,09*	53,2±2,51	11,5±0,27	4,98±0,07*
4	ЭТГ+МРП	5,90±0,18	2,43±0,30	1,40±0,02	51,0±2,03	11,8±0,13	4,98±0,07*
10-е сутки							
1	Интактные	4,53±0,12	0,79±0,07	0,45±0,03	54,0±1,06	10,4±0,22	5,22±0,02
2	ЭТГ	8,55±0,15***	7,25±0,43***	2,83±0,15***	47,2±2,10**	14,6±0,41***	4,50±0,24*
3	ЭТГ+ЭСХ	6,24±0,19***	5,03±0,84*	1,79±0,08***	53,6±2,05**	12,2±0,45**	5,8±0,27**
4	ЭТГ+МРП	6,67±0,12***	5,35±0,61*	1,89±0,12**	49,6±2,86	13,4±0,02*	5,12±0,13
20-е сутки							
1	Интактные	4,61±0,18	0,79±0,06	0,45±0,03	54,2±1,08	10,4±0,23	5,20±0,04
2	ЭТГ	6,24±0,24***	3,72±0,52***	1,28±0,27*	48,0±1,00**	12,6±0,24***	4,40±0,20*
3	ЭТГ+ЭСХ	5,22±0,10**	1,68±0,24**	1,05±0,13	54,2±2,05*	11,8±0,21*	5,00±0,47**
4	ЭТГ+МРП	5,47±0,18*	2,18±0,52	1,06±0,04	51,2±2,97	11,2±0,25**	4,50±0,05
30-е сутки							
1	Интактные	4,61±0,10	0,79±0,07	0,45±0,05	55,0±0,50	10,4±0,27	5,20±0,04
2	ЭТГ	5,73±0,24**	1,12±0,19	0,79±0,13*	49,2±0,42***	10,6±0,45	2,30±0,04***
3	ЭТГ+ЭСХ	4,70±0,15***	0,73±0,14	0,52±0,05	54,6±2,05*	10,2±0,45	3,30±0,27**
4	ЭТГ+МРП	5,00±0,12*	0,98±0,16	0,71±0,10	51,0±2,03	10,4±0,45	4,76±0,03***

Примечание: достоверность отличий второй группы по сравнению с первой; третьей и четвертой – по сравнению со второй : *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001.

ЭТГ – экспериментальный токсический гепатит, ЭСХ – экстракт солянки холмовой.

МРП – масло расторопши пятнистой.

Эритроциты, лейкоциты, гемоглобин. Воздействие CCl_4 приводило к снижению количества эритроцитов и концентрации гемоглобина крови собак, увеличению количества лейкоцитов. На пятые сутки эксперимента уменьшалось количество эритроцитов с $5,32±0,12 \cdot 10^{12}/л$ до $3,68±0,06 \cdot 10^{12}/л$, то есть на 30,8% (P<0,001); на 10-е сутки – с $5,30±0,08 \cdot 10^{12}/л$ до $3,21±0,08 \cdot 10^{12}/л$, то есть на 39,4% (P<0,001) по сравнению с показателями интактной группы. Концентрация гемоглобина была достоверно ниже на протяжении всего эксперимента в среднем на 14,0-26,3%. Количество лейкоцитов возрастало на 10-е сутки опыта с $10,42±0,20 \cdot 10^9/л$ до $16,28±0,87 \cdot 10^9/л$, то есть в 1,6 раза (P<0,001); на 20-е сутки – с $10,49±0,22 \cdot 10^9/л$ до $12,78 \cdot 10^9/л$, то есть на 21,8%

($P < 0,05$) соответственно. Применение ЭСХ достоверно повышало уровень гемоглобина с крови собак с ЭТГ на протяжении всего опыта; при использовании МРП достоверное повышение этого показателя отмечалось только на 30-е сутки опыта. Применение экстракта солянки холмовой предотвращало развитие лейкоцитоза у собак с ЭТГ, а использование масла расторопши пятнистой уровень лейкоцитов не снижало.

Гистологический анализ биоптатов печени В биоптатах печени собак после затравки CCl_4 на 10-е сутки выявлялись признаки гидропической дистрофии гепатоцитов. Последние часто имели гигантские размеры, прозрачную вакуолизированную цитоплазму и пикнотические гиперхромные ядра. Признаки жировой дистрофии гепатоцитов были выражены в разной степени от мелкокапельного ожирения до диффузного вовлечения цитоплазмы печеночных клеток. Микроскопически выявлялись уницеллюлярные и фокальные некрозы, чаще в центролобулярной зоне печеночных долек. Отмечали полнокровие центральных отделов долек и умеренно выраженную инфильтрацию портальных зон полиморфноядерными лейкоцитами, макрофагами, лимфоцитами.

К 30-м суткам наблюдения в биоптатах печени собак с ЭТГ выявляли гидропическую дистрофию гепатоцитов, их очаговое крупнокапельное ожирение, очаги некроза со скоплением полиморфноядерных лейкоцитов, лимфоцитов и макрофагов. Определялись склеротические изменения перипортальной стромы.

При микроскопическом исследовании препаратов печени собак третьей группы, защищенных от токсического действия CCl_4 экстрактом солянки холмовой, признаки гидропической и жировой дистрофии гепатоцитов были менее выражены, количество некротизированных гепатоцитов значительно уменьшилось, а также исчезали признаки лимфоцитарно-макрофагальной и полиморфноядерной инфильтрации портальной стромы.

Применение собакам с ЭТГ масла расторопши пятнистой также позволило снизить количество гепатоцитов с признаками гидропической и жировой дистрофии и некротизированных участков, однако отмечалось полнокровие центральных отделов долек и сохранялись инфильтраты в портальной зоне и паренхиме печени.

3.2. Коррекция гепатотоксического действия ивомека у собак антиоксидантами растительного происхождения

Морфобиохимические показатели крови собак при применении ивомека

Введение ивомека собакам характеризовалось нарушением гликогенсинтезирующей функции печени, изменением соотношений белковых фракций, явлениями холестаза и цитолиза гепатоцитов (табл. 2). Применение ивомека собакам приводило к повышению активности аминотрансфераз. На 15-е сутки опыта активность АЛТ увеличивалась в 2,6 раза, а активность АСТ – в два раза; на 30-е сутки уровень АЛТ возрастал в 2,8 раза, а уровень АСТ – в 2,7 раза, что свидетельствовало о развитии цитолитических процессов в

печени собак. Уровень эритроцитов снижался на 15-е сутки опыта на 44,8%, а концентрации гемоглобина – в среднем на 28,4-31,2% на протяжении всего опыта.

Таблица 2 Морфобioхимические показатели крови собак при применении ивомека

Показатель	15-е сутки	30-е сутки
АЛТ, ммоль/(ч·л)	<u>0,77±0,03</u>	<u>0,78±0,09</u>
	2,02±0,09***	2,2±0,08***
АСТ, ммоль/(ч·л)	<u>0,48±0,08</u>	<u>0,5±0,06</u>
	0,98±0,21*	1,36±0,02***
Эритроциты, 10 ¹² /л	<u>6,70±0,56</u>	<u>6,64±0,96</u>
	3,7±0,24**	5,02±0,47
Гемоглобин, г/л	<u>176±1,41</u>	<u>177,6±3,63</u>
	120,8±1,67***	127,2±1,67***
Общий белок, г/л	<u>77,0±0,61</u>	<u>76,8±1,56</u>
	74,4±1,75	78,0±1,46
Альбумины, г/л	<u>42,36±1,08</u>	<u>44,30±1,72</u>
	28,69±1,29***	31,29±0,26***
α-глобулины, г/л	<u>11,35±0,44</u>	<u>11,91±0,76</u>
	8,00±0,67***	8,90±0,68**
β-глобулины, г/л	<u>15,32±0,76</u>	<u>13,95±1,73</u>
	20,85±1,22**	24,78±1,04***
γ-глобулины, г/л	<u>7,97±0,71</u>	<u>6,60±0,93</u>
	16,86±1,74**	13,03±0,86**
Тимоловая проба	<u>0,5±0,00</u>	<u>0,5±0,00</u>
	1,76±0,04***	1,2±0,05***
Глюкоза, ммоль/л	<u>5,0±0,43</u>	<u>5,0±0,37</u>
	3,02±0,27**	3,12±0,23**
Билирубин, мкмоль/л	<u>4,5±0,21</u>	<u>4,46±0,25</u>
	10,2±0,89***	13,6±1,03***
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	<u>100,0±4,31</u>	<u>100,4±1,79</u>
	471,4±13,5***	502,4±11,73***

Примечание: в числителе – контроль, в знаменателе – опыт. Достоверность отличий контроля по сравнению с опытом. *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001

Введение ивомека приводило к нарушению соотношения белковых фракций: понижался уровень альбуминов на 15-е сутки на 32,3%, α-глобулинов на 29,5%; на 30-е сутки – на 29,4% и на 25,3% соответственно. Содержание β-глобулинов во второй группе постепенно увеличивалось: на 15-е сутки на 36,1%, на 30-е – на 77,6%. Содержание γ-глобулинов вдвое превышало контрольные значения во все исследуемые периоды. У собак после введения ивомека отмечалось повышение тимоловой пробы в 3,5 раза, что свидетельствует о нарушении коллоидно-осмотического соотношения.

Количество билирубина на 15-е сутки опыта повышалось в 2,3 раза, а на 30-е сутки – в три раза. Активность ЩФ возрастала к 15-м суткам опыта в 4,7 раза, к 30-м – в пять раз. Таким образом, введение ивомека приводило

к проявлению выраженного холестатического синдрома, который усиливался к 30-м суткам наблюдения. Содержание глюкозы снижалось на 15-е сутки опыта на 39,6%, на 30-е сутки – на 37,6%, что свидетельствует о нарушении гликогенсинтезирующей функции печени.

Гистологический анализ биоптатов печени собак при применении ивомека Применение ивомека приводит к развитию признаков холестаза, воспалительной реакции и дегенерации гепатоцитов. В биоптатах печени собак, получавших ивомек, выявляли в расширенных желчных капиллярах зелено-коричневые желчные цилиндры. Наибольшее их количество обнаруживалось в центре печеночных долек. В печеночных клетках были видны капли и зерна, в некоторых местах желчь окрашивала всю цитоплазму. Холестаз приводил к пролиферации желчных протоков, уницеллюлярному некрозу гепатоцитов и воспалительной реакции перипортальных трактов.

Коррекция гепатотоксического действия ивомека экстрактом солянки холмовой и гепаливом. ЭСХ и гепалив оказывали выраженное гепатозащитное действие, снижая проявления холестатических и цитолитических эффектов, развивающихся при применении ивомека. При совместном введении ивомека и ЭСХ активность АЛТ уменьшалась на 15-е сутки на 51,49%, на 30-е сутки – на 61,4%. Активность АСТ достоверно снижалась у собак третьей и четвертой групп только к 30-му дню опыта (табл.3).

Наиболее выражено действие растительных препаратов на активность ЩФ. Так, исходный ее уровень в группе собак, получавших ивомек, превышающий в несколько раз нормальные величины под действием антиоксидантов, снижался в обеих группах. Активность ЩФ у собак, получавших ивомек и ЭСХ, на 15-й день опыта снизилась по сравнению с показателями второй группы в 2,6 раза ($P<0,001$), на 30-е сутки – в 3,8 раза; у собак четвертой группы – в 3,8 раза ($P<0,001$) и почти в пять раз приблизившись к значениям интактной группы (табл. 3).

Таблица 3. Влияние экстракта солянки холмовой и гепалива на активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы сыворотки крови собак на фоне введения ивомека

№	Группа	АСТ, ммоль/(ч·л)		АЛТ, ммоль/(ч·л)		ЩФ, Ед/л	
		15-е сутки	30-е сутки	15-е сутки	30-е сутки	15-е сутки	30-е сутки
1	Интактные	0,48±0,08	0,5±0,06	0,77±0,03	0,78±0,09	100,0±4,31	100,4±1,79
2	Ивомек	0,98±0,21*	1,36±0,02***	2,02±0,09***	2,2±0,08***	471,4±13,5***	502,4±11,73***
3	Ивомек+ ЭСХ	1,03±0,08	0,98±0,17*	0,98±0,11***	0,85±0,07***	182,3±3,18***	131,66±8,57***
4	Ивомек+ гепалив	0,93±0,12	0,66±0,20**	0,72±0,01***	0,72±0,03***	123,0±1,18***	111,98±18,67***

Примечание: достоверность отличий второй группы по сравнению с первой; третьей и четвертой – по сравнению со второй: * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$.

Уровень билирубина у собак, которым применяли ивомек и экстракт солянки холмовой, на 15-е сутки был ниже, чем во второй группе на 40,8% ($P<0,01$), на 30-е сутки – в 3,2 раза, приближаясь к показателям интактной

группы ($P < 0,001$). В четвертой группе, где применяли ивомек и гепалив, уровень билирубина был ниже, чем во второй группе, в 2,2 раза ($P < 0,001$) на 15-е сутки опыта и 3,5 раза ($P < 0,001$) на 30-е сутки опыта, приблизившись к значениям интактной группы.

Таким образом, применение экстракта солянки холмовой и гепалива предотвращало повышение уровня билирубина и активности ЩФ в сыворотке крови собак, возникающее под действием ивомека. Эффективнее препятствовал проявлению холестатического синдрома комплексный растительный препарат – гепалив.

Применение растительных препаратов нормализовало уровень гемоглобина и эритроцитов на фоне применения ивомека. Концентрация гемоглобина у собак, которые совместно с ивомеком получали экстракт солянки холмовой, превышала показатели второй группы на 15-е сутки на 22,5% ($P < 0,001$), а на 30-е сутки – на 38,4% ($P < 0,001$); а при получении гепалива – на 20,8% ($P < 0,001$) и 32,0% ($P < 0,001$) соответственно.

Растительные антиоксиданты – экстракт солянки холмовой и гепалив – на фоне введения ивомека нормализовали соотношение белковых фракций в сыворотке крови собак. На 15-е сутки опыта содержание альбуминов у собак, которым применяли ЭСХ, превышало показатели второй группы на 30,9% ($P < 0,001$), а у животных, которым применяли гепалив – на 29,0% ($P < 0,001$); на 30-е сутки опыта – на 28,9% ($P < 0,001$) и 22,7% ($P < 0,001$) соответственно. Достоверное превышение уровня α -глобулинов в третьей и четвертой группах, по сравнению с показателями второй группы, отмечалось лишь на 15-е сутки опыта. Уровень γ -глобулинов на 15-е сутки опыта составлял в третьей группе $7,83 \pm 0,61$ г/л, в четвертой – $7,36 \pm 0,40$ г/л, что почти вдвое меньше по сравнению с показателями второй группы ($P < 0,001$). К 30-м суткам наблюдения достоверно ниже была концентрация γ -глобулинов в четвертой группе, где применяли гепалив. Нормализация соотношения белковых фракций в сыворотке крови собак, получавших растительные антиоксиданты на фоне введения ивомека, согласовывалась с показателями тимоловой пробы (рис.1).

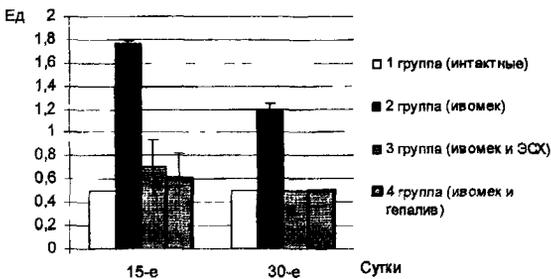


Рис. 1. Влияние растительных препаратов на показатели тимоловой пробы у собак на фоне введения ивомека

Введение растительных гепатопротекторов ограничивало негативное влияние ивомека на уровень глюкозы в сыворотке крови. У собак, получавших ЭСХ, уровень глюкозы был выше, чем при применении и гепалива, что свидетельствует о нормализации процессов гликогенеза у собак на фоне введения ивомека (рис.2).

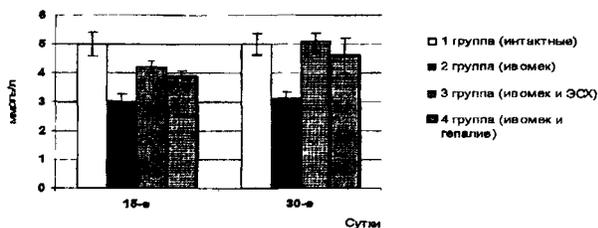


Рис. 2. Влияние растительных препаратов на уровень глюкозы в сыворотке крови собак на фоне введения ивомека, ммоль/л

Экстракт солянки холмовой и гепалив предотвращали развитие холестаза и дистрофических изменений в печени собак. Микроскопически в биоптатах печени собак, получавших вместе с ивомеком ЭСХ и гепалив, выявляли наряду с дистрофическими изменениями в гепатоцитах и регенераторные процессы, выражающиеся в увеличении доли двуядерных клеток и гипертрофии ядер гепатоцитов, что связано с развитием компенсаторно-приспособительных реакций, в частности, с усилением белково-синтетической функции клеток.

3.3. Влияние растительных антиоксидантов на течение спонтанного гепатоза собак

У собак, поступающих в УНЦВМ «Вита», диагноз гепатоз ставили на основании клинических признаков, морфобиохимических исследований крови, ультразвукографического обследования и гистологического анализа биоптатов печени. В крови собак отмечали низкое содержание гемоглобина, лейкопению, высокий уровень аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, билирубина и общего белка. При УЗИ устанавливали гепатомегалию. Эхоструктура печени однородная, мелкозернистого типа, повышенной эхогенности, звукопроводимость органа понижена, обеднение сосудистого рисунка. В биоптатах печени собак выявляли гидропическую и жировую дистрофию гепатоцитов, чаще в центрлобулярной зоне.

После проведения курса лечения ЭСХ и карсилем у собак нормализовалось общее состояние и улучшались биохимические показатели крови (табл.4).

Таблица 4 Влияние экстракта солянки холмовой и карсила на биохимические показатели крови собак больных гепатозом

№	Группа	До лечения	15-е сутки	30-е сутки
АЛТ, ммоль/(ч.л)				
1	Гепатоз +ЭСХ	1,66±0,05	1,44±0,06**	1,29±0,04***
2	Гепатоз +карсил	1,66±0,04	1,48±0,04**	1,39±0,04**
АСТ, ммоль/(ч.л)				
1	Гепатоз +ЭСХ	1,40±0,03	1,31±0,05***	1,12±0,04***
2	Гепатоз +карсил	1,41±0,04	1,30±0,03**	1,16±0,04**
ЩФ, ЕД				
1	Гепатоз +ЭСХ	135,0±3,46	123,0±2,43*	100,1±2,49***
2	Гепатоз +карсил	133,0±3,21	123,0±3,18*	115,0±3,46**
Билирубин, мкмоль/ч				
1	Гепатоз +ЭСХ	7,34± 0,24	6,30±0,31*	5,60±0,38**
2	Гепатоз +карсил	7,32±0,42	6,80±0,32	6,10±0,39*

Примечание: достоверность отличий для 15-х и 30-х суток с данными до лечения. *P <0,05; **P <0,01, *** P <0,001.

Так, активность АЛТ у собак первой группы к 15-м суткам снизилась на 13,25%, к 30-м – на 22,3%; во второй группе – на 12,43 и 17,8% соответственно; уровень АСТ снизился на 15-е сутки в первой группе на 6,43%, на 30-е – на 20%, во второй группе – на 7,8 и 17,7% соответственно. Терапия гепатопротекторами способствовала уменьшению проявления холестатического синдрома. Активность ЩФ уменьшилась у собак первой группы на 9% к 15 суткам и на 26% к 30-м суткам; во второй группе – на 7,5 и 13,5% соответственно. Уровень билирубина при применении ЭСХ достоверно снижался к 15-м суткам на 14,2%, а к 30-м суткам – на 23,7%; при применении карсила – к 30-м суткам на 16,7% (табл.4).

Растительные препараты оказывали положительное влияние на белковую картину крови собак, больных гепатозом. К 30-му дню лечения ЭСХ уровень общего белка снизился на 25,5% (P<0,001), а при лечении карсилем – на 21,0% (P<0,001), что происходило в основном за счет γ -глобулиновой фракции.

Результаты гистологического исследования биоптатов печени больных гепатозом собак, получавших растительные антиоксиданты, свидетельствовали об уменьшении числа дистрофически измененных гепатоцитов.

ВЫВОДЫ

1. Экстракт солянки холмовой и масло расторопши пятнистой при экспериментальном токсическом гепатите собак, вызванном CCl_4 , в значительной степени снижают ПОЛ, уменьшают диффузию в кровь цитолитических ферментов, снижают явления холестаза, восстанавливают

синтетическую функцию печени, препятствуют развитию некрозов гепатоцитов, устраняют лимфоцитарно-макрофагальную инфильтрацию портальной стромы. Наиболее выраженным гепатопротективным действием обладает экстракт солянки холмовой по сравнению с маслом расторопши пятнистой.

2. Применение собакам ивомека, препарата из группы макроциклических лактонов, характеризуется нарушением гликогенсинтезирующей функции печени, изменением соотношений белковых фракций, явлениями холестаза и цитолиза гепатоцитов, что лежит в основе его гепатотоксического действия.

3. В биоптатах печени собак, после применения ивомека, выявляются внутripеченочный холестаз, дистрофия гепатоцитов и уницеллюлярные некрозы в центральной части печеночных долек, а также незначительная перипортальная инфильтрация гранулоцитами и лимфоидно-гистиоцитарными элементами, что является следствием развивающегося внутripеченочного холестаза.

4. Препараты растительного происхождения (экстракт солянки холмовой и гепалив) на фоне введения ивомека уменьшают гепатотоксическое действие последнего у собак: устраняют явления холестаза, цитолиза гепатоцитов, нормализуют синтетическую функцию печени, причем гепалив обладает более выраженным действием по сравнению с экстрактом солянки холмовой.

5. Экстракт солянки холмовой и карсил при гепатозе собак в значительной степени уменьшают диффузию в кровь цитолитических ферментов, снижают явления холестаза, восстанавливают синтетическую функцию и структуру печени.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения токсических и лекарственных поражений печени у собак рекомендуется применять внутрь 5%-й водный раствор экстракта солянки холмовой в дозе 2 мл/кг, масло расторопши пятнистой в дозе 0,2 мл/кг и гепалив в дозе 10 мг/кг три раза в день в течение 30 дней.

2. Ветеринарным врачам при лечении собак, больных гепатозом, рекомендуется использовать экстракт солянки холмовой в форме 5% водного раствора в дозе 2 мл/кг три раза в день и карсил в дозе 10 мг/кг в течение 30 дней.

3. Для постановки диагноза при поражении гепатобилиарной системы у собак ветеринарным специалистам рекомендуем проводить наряду с клиническим осмотром биохимический анализ крови, с исследованием ферментов – АЛТ, АСТ и ЩФ, тимоловой пробы и уровня билирубина; ультрасонографическое исследование и гистологический анализ биоптатов печени.

4. Материалы по коррекции лекарственных поражений печени у собак растительными антиоксидантами предлагаются использовать при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по курсам внутренних незаразных болезней на факультетах ветеринарной медицины.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

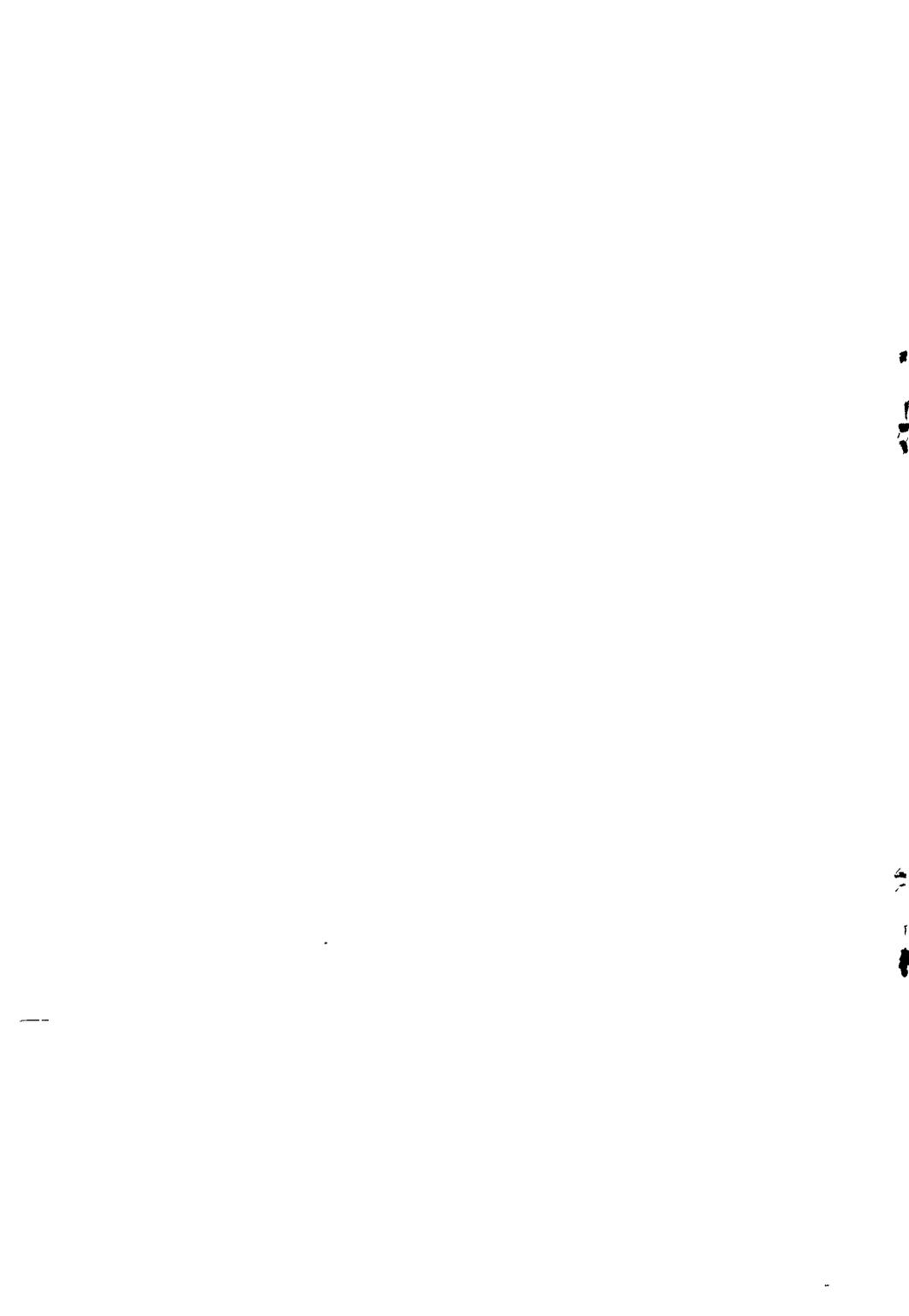
1. Сулайманова, Г.В. Динамика клинико-биохимических показателей у животных при применении гепатопротекторов растительного происхождения / Г.В. Сулайманова // Гомеостаз и экстремальные состояния организма: Мат-лы XI-го Междунар. симп. – Красноярск, 2003. – С. 142.
2. Сулайманова, Г.В. Влияние экстракта солянки холмовой и масла расторопши пятнистой на уровень МДА и активность аминотрансфераз сыворотки крови собак с экспериментальным токсическим гепатитом / Г.В. Сулайманова // Аграрная наука на рубеже веков: Тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. / Красноярск. гос. аграр. ун-т. Красноярск, 2004. – С. 308-309.
3. Сулайманова, Г.В. Коррекция гепатотоксического действия ивомека у собак препаратами растительного происхождения / Г.В. Сулайманова, И.В. Морозова // Современные тенденции развития АПК: Мат-лы Всерос. конф. молодых ученых. – Красноярск, 2005. – С.175-178.
4. Донкова, Н.В. Сравнительная эффективность гепатопротекторов растительного происхождения при экспериментальном токсическом гепатите собак / Н.В. Донкова, Г.В. Сулайманова // Ветеринария Сибири. – 2005. – №5. – С.43-46.
5. Сулайманова, Г.В. Гепатотоксичность ивомека у собак / Г.В.Сулайманова // Вузовская наука сельскому хозяйству (Междунар. науч.-практ. конф.): Сб. ст. В 2 кн. – Барнаул: Изд-во АГАУ, 2005. Кн.2. – С. 124-125.
6. Донкова, Н.В. Коррекция морфофункциональных изменений при экспериментальных лекарственных поражениях печени у собак / Н.В. Донкова, Г.В. Сулайманова // Актуальные проблемы патологии животных: Мат-лы Междунар. съезда терапевтов, диагностов. – Барнаул: Изд-во АГАУ, 2005. – С. 53-54.

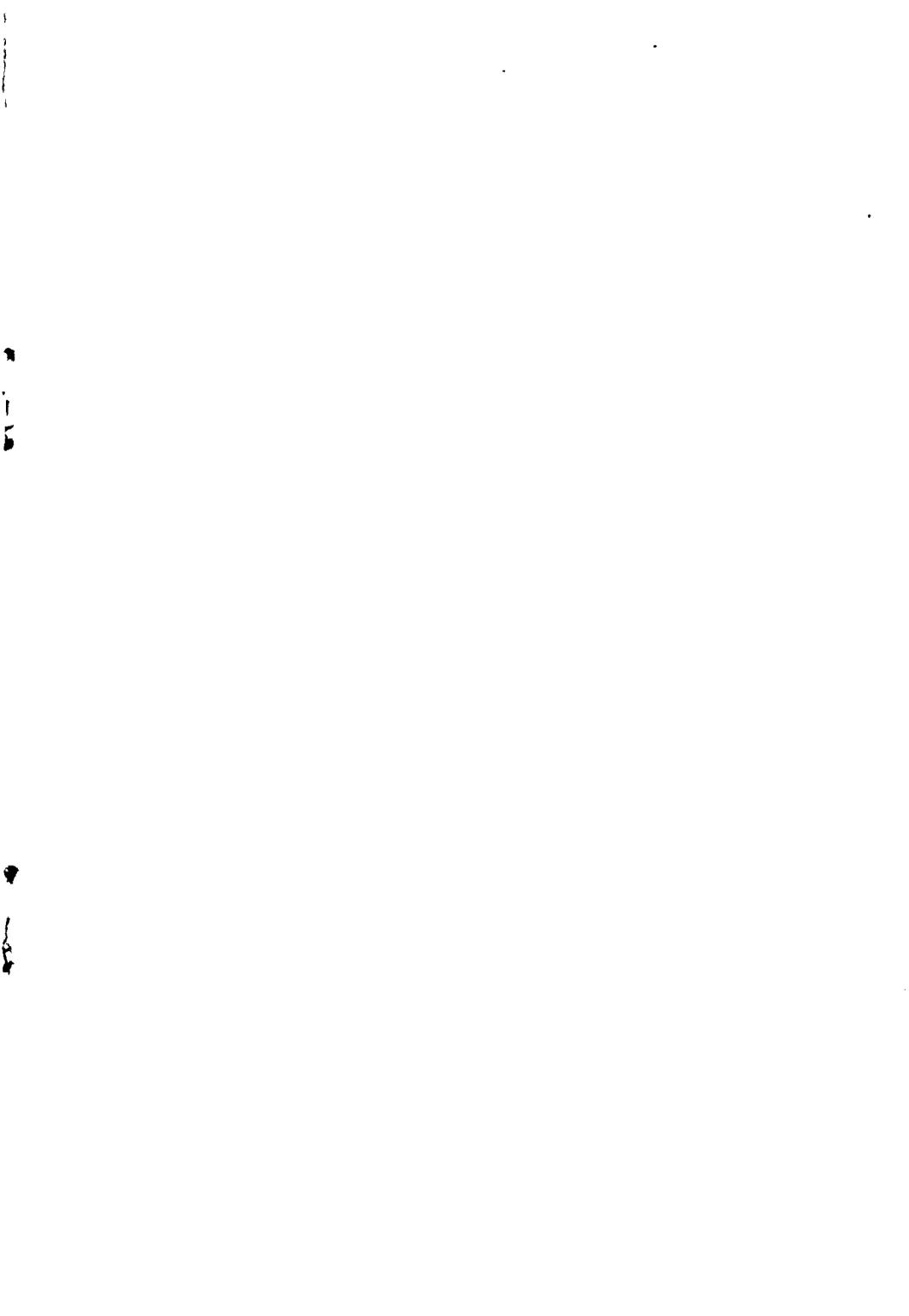
Санитарно-эпидемиологическое заключение № 24.49.04 953.П. 000381.09.03 от 25 09 2003 г.

Подписано в печать 23 08.2005. Формат 60x84/16. Бумага тип. № 1

Офсетная печать. Объем 1,0 п л Тираж 100 экз. Заказ № 2

Издательство Красноярского государственного аграрного университета
660017, Красноярск, ул. Ленина, 117





№ 15354

РНБ Русский фонд

2006-4

16230