

Ю.Ю. Шаура, Г.Г. Юшков, А.А. Гущина, В.В. Бенеманский

**ФОРМИРОВАНИЕ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ
НА МНОГОКРАТНОЕ ВВЕДЕНИЕ ПОЛИВИТАМИННОГО КОМПЛЕКСА**

ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (Ангарск)

Получены данные о возникновении существенных изменений показателей состояния организма животных при трёхмесячном ежедневном внутрижелудочном введении поливитаминного препарата сложного состава в дозе 600 мг/кг и об отсутствии таковых при введении в рекомендованной терапевтической дозе. Препарат не обладает мутагенными свойствами.

Ключевые слова: поливитаминный препарат, формирование ответной реакции организма животных при многократном введении

**FORMATION OF RESPONSE OF ANIMALS' ORGANISMS ON THE REPEATED
ADMINISTRATION OF POLYVITAMINIC COMPLEX**

Yu.Yu. Shaura, G.G. Yushkov, A.A. Gushchina, V.V. Benemanskiy

Angarsk State Technical Academy, Angarsk

The article presents the data on the appearance of significant changes in the condition of animals' organisms during quarterly daily intragastric administration of polyvitaminic preparation of compound composition in a dose of 600 mg/kg and also on the lack of the changes at the administration in recommended therapeutic dose. The preparation is not mutagenic.

Key words: polyvitaminic preparation, formation of response of animals' organisms at repeated administration

ВВЕДЕНИЕ

Развитие фармакологии витаминов долгие годы шло преимущественно по пути изолированного изучения каждого из каталитических факторов обмена веществ, в то же время высокоспецифичных по химическому строению и характеру биологического действия. В последние два десятилетия довольно остро встал вопрос о выявлении условий оптимального, сбалансированного воздействия витаминов на процессы жизнедеятельности как в норме, так и в патологии [5, 6]. Появился большой перечень поливитаминных препаратов, назначаемых для профилактики и лечения множества болезненных состояний, сопровождающихся авитаминозами [1]. Более того, к числу витаминов начали условно относить целый ряд пищевых и эндогенных факторов, родственных витаминам лишь по признаку высокой биологической активности в сравнительно малых дозах. Такая тенденция вполне оправдана, даже если она и умаляет первоначальную определённую понятия «витамин». Однако с этим возник целый ряд проблем, связанных с побочными эффектами применения витаминов в оздоровительной и лечебной практике, особенно в сложных комплексах, что стимулирует развитие токсикологических исследований, направленных на реальную оптимизацию состава и свойств действительно необходимых организму биокатализаторов [7]. Одной из подобных попыток является и данная работа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнялись с учётом рекомендаций и требований нормативных документов по доклиническому исследованию новых фарма-

кологических веществ [4]. В экспериментах использованы нелинейные крысы (самцы и самки отдельно) массой 160 – 170 г, беспородные собаки массой 4,5 – 6,0 кг, находившиеся в условиях специализированного вивария (ветудостоверение 238 № 0018942). Исследования проводились в соответствии с этическими требованиями к работе с экспериментальными животными, изложенными в «Правилах лабораторной практики» (приложение к Приказу МЗ РФ № 708н от 23.08.2010 г.) [3]. Все животные были разделены на группы: крысы – по 10 особей в каждой, собаки – по 2. Препарат, содержащий в своём составе набор витаминов: тиамин гидрохлорид, рибофлавин, пиридоксин гидрохлорид, цианкоболамин, никотинамид, кальция пантотенат, фолиевую кислоту, биотин, аскорбиновую кислоту. Вводился внутривнутрижелудочно (крысам), собакам – в кусочках мяса ежедневно в течение трёх месяцев в различных дозах: 600 мг/кг, 300 мг/кг, 6 мг/кг; собакам – в дозах 60 и 6 мг/кг. Расчёт доз производился на массу всех компонентов. В экспериментах использован динамический контроль.

Регистрируемые показатели: общее состояние (масса тела, потребление воды, выделение мочи, температура тела, частота сердечных сокращений); поведенческие реакции (спонтанная двигательная активность, исследовательский рефлекс); гематологические показатели (содержание гемоглобина, эритроцитов, ретикулоцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, СОЭ, гематокрит, показатель анизоцитоза); биохимические показатели (содержание мочевины, общего белка, аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, глюкозы и общего

холестерина в сыворотке крови). Гематологические и биохимические исследования проводились по стандартным прописям с использованием автоматических анализаторов Nemolux (Китай) и В9-300 Mindrey (Китай). Тестирование на мутагенность проводилось на основе учёта доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей.

Обследование животных проводилось ежемесячно. Объективизацию количественных показателей осуществляли с помощью программного комплекса Статистика и Excel. Статистически достоверными отличиями считались результаты при величине $p \leq 0,05$ [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Измерение ректальной температуры у крыс не показало существенных отличий от контроля, лишь к концу третьего месяца наблюдений отмечена более высокая температура у животных, получавших поливитаминный комплекс в дозе 600 мг/кг. В процессе наблюдения за теми же животными отмечено некоторое снижение массы тела самок к концу эксперимента, при этом у самцов наметился даже её прирост, особенно в группе, получавшей рекомендованную однократную суточную дозу препарата.

При введении комплекса животным в дозе 600 мг/кг спонтанная двигательная активность статистически достоверно снижалась у самок к концу третьего месяца введения: $70,2 \pm 5,9$, в контроле — $97,9 \pm 3,0$ пересеч./3 мин ($p \leq 0,05$), и отчётливо — у отдельных самцов. При введении в дозе 6,3 мг/кг на тот же срок спонтанная двигательная активность даже несколько возросла — $104,5 \pm 4,1$, но не достигала статистически значимого уровня. Одновременно у самок затормаживался исследовательский рефлекс при введении комплекса в дозе 600 мг/кг: $3,4 \pm 0,3$, в контроле — $6,3 \pm 0,9$ загляд./3 мин ($p \leq 0,05$). У самцов этот показатель не спускался ниже $4,0 \pm 0,5$. Комплекс, вводимый в дозе 6,3 мг/кг, у тех же самок несколько повышал величину исследовательского рефлекса — $7,4 \pm 0,4$. Примечательным оказалось и то, что у самок к концу трёхмесячного срока введения комплекса повысилась частота сердечных сокращений, не имеющая серьёзного клинического значения, но достигающая статистической значимости — $467 \pm 3,4$ уд./мин, в контроле — $457 \pm 1,4$ уд./мин ($p \leq 0,05$). Следует отметить и то обстоятельство, что обнаруженные изменения формировались постепенно, способствуя и обнаружению некоей дозовой зависимости, поскольку при введении испытуемого комплекса в промежуточной дозе — 300 мг/кг — к концу срока наблюдения наметилась аналогичная тенденция в динамике физиологических показателей. Статистически достоверные отличия от контроля были получены и по ряду гематологических показателей, и то же у самок именно к концу третьего месяца наблюдения: снижение содержания гемоглобина в периферической крови — $129,7 \pm 2,6$, в контроле — $141,4 \pm 1,2$ г/л ($p \leq 0,05$); снижение количества эритроцитов — $5,9 \pm 0,2$, в

контроле — $7,6 \pm 0,1 \times 10^{12}/л$ ($p \leq 0,5$); повышение количества ретикулоцитов — $26,8 \pm 0,4$, в контроле — $22,4 \pm 0,5\%$ ($p \leq 0,05$). Количество лейкоцитов повысилось до значения лейкоцитоза — $12,4 \pm 1,1$, в контроле — $7,2 \pm 0,8 \times 10^9/л$ ($p \leq 0,05$). Количество тромбоцитов несколько снизилось — $575,2 \pm 6,0$, в контроле — $593,2 \pm 2,1$ ($p \leq 0,05$). Как у самцов (мнее), так и у самок снизилась величина гематокрита: самцы — $37,9 \pm 1,8$, самки — $32,8 \pm 1,6$, контроль — $47,5 \pm 1,1$ и $47,9 \pm 0,9$ соответственно ($p \leq 0,05$). У самок произошло существенное снижение среднего содержания гемоглобина в эритроцитах до $20,7 \pm 1,4$, в контроле — $31,7 \pm 0,3$ рд ($p \leq 0,05$), и повысился показатель анизоцитоза до $14,9 \pm 0,2$, в контроле — $13,5 \pm 0,3\%$ ($p \leq 0,05$). При этом заслуживает внимания факт торможения активности фагоцитоза у животных (самцы), получавших комплекс в дозе 600 мг/кг — $39,4 \pm 5,8$, в контроле — $50,0 \pm 3,0\%$ ($p \leq 0,05$). При этом препарат в дозе 6,3 мг/кг вызвал у самцов возрастание процента фагоцитирующих клеток — $71,6 \pm 4,2$, в контроле — $52,0 \pm 3,0\%$ ($p \leq 0,05$).

Статистически достоверные отличия от контроля биохимических показателей отмечены только к концу третьего месяца наблюдений. В той или иной степени они были свойственны как самцам, так и самкам, но только при введении комплекса в дозе 600 мг/кг. Так, повысилось содержание аланинаминотрансферазы в сыворотке крови — $62,7 \pm 3,0$, в контроле — $54,4 \pm 2,2$ ед./л ($p \leq 0,05$); повысилось содержание глюкозы — $7,1 \pm 0,13$, в контроле — $5,7 \pm 0,1$ ммоль/л ($p \leq 0,05$) и общего холестерина — $2,0 \pm 0,08$, в контроле — $1,7 \pm 0,03$ ммоль/л ($p \leq 0,05$) в сыворотке крови. О стимулирующем действии комплекса на обменные процессы при его введении в меньших дозах можно было судить только по величине ошибки среднего значения каждого показателя. У собак, получавших комплекс в дозах 60 мг/кг и 6 мг/кг, эти же изменения были выражены лишь в тенденциях.

При некропии крыс по окончании периода трёхмесячного введения комплекса видимых отличий от контроля не обнаружено: лишь у отдельных животных, получавших 600 мг/кг, отмечены незначительные гемодинамические расстройства в виде кровенаполнения печени, селезёнки, почек. При микроскопии препаратов внутренних органов тех же животных в печени обнаружены нарушения структур цитоплазмы гепатоцитов вплоть до появления баллонной дистрофии, просветления перинуклеарной зоны, полиморфизма гепатоцитов, увеличения количества клеток Купфера, полинуклеаров и лимфоцитов, полнокровия межбалочных капилляров. Также отмечено умеренное полнокровие сосудов коркового слоя почек у отдельных животных, слабовыраженное полнокровие межальвеолярных капилляров в лёгких, умеренное полнокровие селезёнки. В то же время не обнаружено изменения структур сердца, головного мозга, желудочно-кишечного тракта и внутренних половых органов. Относительная масса внутренних органов у животных была в пределах

физиологических колебаний. При гистохимическом исследовании (доза 600 мг/кг) отмечены очаги снижения содержания гликогена в печени вплоть до полного их отсутствия в цитоплазме гепатоцитов. Одновременно отмечено повышение активности щелочной фосфатазы как в стенках сосудов, так и в эндотелии желчных капилляров. В значительно меньшей степени, но у отдельных животных, получавших комплекс в промежуточной и терапевтической дозах, также обнаружено очаговое повышение активности щелочной фосфатазы в печени.

Изменений в активности моноаминоксидазы, сукцинатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы в печени не отмечено.

Проведённое тестирование мутагенности комплекса на основе учёта доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей позволило установить, что ни одна из испытанных доз не увеличила количества мёртвых эмбрионов ни на одной из стадий сперматогенеза. В то же время было обнаружено угнетение фертильности у самок при введении самцам комплекса в чрезвычайно высокой дозе — 5000 мг/кг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые экспериментальные исследования многократного введения поливитаминного комплекса позволили выявить ряд характерных изменений состояния организма животных, получавших препарат в дозе 600 мг/кг, особенно самок, у которых к концу третьего месяца ежедневного воздействия произошли серьёзные функциональные и морфологические сдвиги, выражающиеся в статистически достоверных отличиях от контроля зависимых показателей, позволяющие выделить их в особенность проявления ответной реакции организма на воздействие поливитаминным препаратом в крайне высокой дозе. Это же позволяет рекомендовать полученные эффекты для использования в экспериментальных исследованиях витаминных препаратов похожего состава. В медицинской практике едва ли возможен приём витаминов в такой дозе и такой продолжительности, но результаты работы могут быть использованы как судебно-медицинский феномен.

Следует отметить, что поливитаминный комплекс ни в промежуточной, ни в терапевтической дозе не вызвал принципиальных отличий от контроля, но всё же отдельные животные оказались чувствительными к воздействию даже при введении препарата в инструктивных дозах. Очевиден и факт стимулирующего влияния терапевтической дозы на обменные процессы и фагоцитарное звено клеточного иммунитета, однако при введении в дозе 600 мг/кг и то, и другое существенно подавляется. Не установлено и проявления у препарата мутагенных свойств, но при его введении в мегадозе — 5000 мг/кг — фертильность самок значительно снижалась. Полученные данные являются основанием для продолжения начатых исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова О.А., Половинко А.Е., Жиглявская О.А. Современные лекарственные средства, витамины и минералы. — М.: АСТ, Сова, 2009. — 896 с.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика; пер. с англ. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
3. Об утверждении правил лабораторной практики: Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 г. № 708. — Режим доступа: <http://www.sogamn.ru>.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева; 2-е изд., перераб. и дополн. — М.: ОАО «Медицина», 2005. — 832 с.
5. Спиричев В.Б., Шатнюк Л.Н. Проблемы: эффективность и безопасность обогащения пищевых продуктов микронутриентами // Сб. матер. VII Всерос. конгр. «Здоровое питание населения России». — М., 2003. — С. 491 — 492.
6. Торшхоева Р.М., Намазова Л.С., Громов И.А. и др. Приём витаминов: реальная необходимость или опасное излишество? // Педиатрическая фармакология. — 2007. — Т. 4, № 2. — С. 58.
7. Циттлау Й., Гримм Х.-У. Витаминный шок. Почему витамины вредят нашему здоровью?. — М. — СПб., 2011. — 272 с.

Сведения об авторах

Шаура Юлия Юрьевна — инженер, соискатель кафедры экологии и безопасности деятельности человека ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (665835, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60; тел.: 8 (3951) 51-29-50; e-mail: yulya.shaura@mail.ru)

Юшков Геннадий Георгиевич — кандидат медицинских наук, профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека, заместитель директора по науке НИИ биофизики ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (665830, г. Ангарск, ул. Партизанская, 2; тел.: 8 (3955) 95-70-68; e-mail: prof_ushkov@mail.ru)

Гущина Алла Анатольевна — заведующая лабораторией токсикологической биохимии отдела токсикологии НИИ биофизики ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (665830, г. Ангарск, ул. Партизанская, 2; тел.: 8 (3951) 95-70-68)

Бенеманский Виктор Викторович — доктор медицинских наук, профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (665830, г. Ангарск, ул. Партизанская, 2; тел.: (3955) 95-70-68; e-mail: emil09.42@mail.ru)