

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ**

УДК 615.9:615.375

**ИССЛЕДОВАНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА  
В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА БЕЛЫХ КРЫСАХ****Ю. Д. Коваленко<sup>1</sup>, Н. М. Чашина<sup>1</sup>, М. И. Завадская<sup>2</sup>, А. В. Адамович<sup>2</sup>, Н. Н. Вейalkина<sup>2</sup>,  
Т. М. Юрага<sup>1</sup>, А. Н. Бычкова<sup>1</sup>, Е. В. Рыжова<sup>1</sup>, Т. А. Жуковец<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования<sup>2</sup>Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси

В статье приведены данные по исследованию потенциального токсического действия субстанции 24-эпибрассинолида в ходе хронического 60-суточного эксперимента. Установлено, что при длительном введении в составе корма 24-эпибрассинолид оказывает влияние на липидный, белковый и пигментный обмен, изменяет ряд гематологических показателей.

**Ключевые слова:** 24-эпибрассинолид, токсикологические, биохимические и гематологические исследования.

**STUDY OF 24-EPIBRASSINOLID SUBSTANCE  
IN CHRONIC EXPERIMENT ON WHITE RATS****Y. D. Kovalenko<sup>1</sup>, N. M. Chaschina<sup>1</sup>, M. I. Zawadskaya<sup>2</sup>, A. V. Adamovich<sup>2</sup>,  
N. N. Veyalkina<sup>2</sup>, T. M. Yuraga<sup>1</sup>, A. N. Bychkova<sup>1</sup>, E. V. Ryzhova<sup>1</sup>, T. A. Zhukovets<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education<sup>2</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus

In the course of the 24-epibrassinolide substance toxicological study during a period of 60 days chronic experiment. It has established that adding in the diet over a long period of time 24-epibrassinolide exert influence on lipidic, albuminous and pigmental metabolism, change a number of hematology indices including granulocytes and a granulocytes ratio.

**Key words:** 24-epibrassinolide, toxicological, biochemical and hematology study.

**Введение**

Вещества стероидной структуры широко представлены в природе, в том числе в качестве физиологически активных веществ, таких как гормоны и витамины. Широкий спектр их действия уже в микроконцентрациях, а также возможность оказывать влияние на различные типы организмов обуславливают активный интерес к ним, в том числе с целью разработки препаратов для применения в медицине, спорте, сельском хозяйстве.

В последние годы большое внимание уделяется изучению группы фитогормонов — брассиностероидов, выполняющих регуляторную функцию на различных этапах жизни растений: рост и деление клетки, формирование и созревание семян, прирост биомассы, приспособление растений к условиям окружающей среды и т. д. [1, 2].

Препараты, разработанные на их основе, широко применяются в растениеводстве в качестве регуляторов роста и развития растений с ярко выраженным антистрессовым и адаптогенным действием [2–4].

Помимо безусловного влияния брассиностероидов на растительный организм имеется

достаточное количество публикаций об их активности (в частности, 24-эпибрассинолида) в отношении некоторых микроорганизмов, насекомых, рыб и млекопитающих [4–7]. Это определяется их сходством с гормонами, вырабатываемыми в животном организме: по структуре брассиностероиды наиболее близки к экдизонам — стероидным гормонам насекомых [4].

Использование препаратов, содержащих вещества стероидной структуры, сходной с гормонами животных, может быть сопряжено с развитием токсических и нежелательных последствий. Данное обстоятельство обуславливает необходимость всестороннего изучения подобных веществ и препаратов в отношении безопасности их длительного применения, особенно у млекопитающих.

**Целью** работы было исследование возможных токсических эффектов субстанции 24-эпибрассинолида у лабораторных животных (белые крысы) при многократном пероральном введении в течение 30 и 60 суток.

**Материал и метод исследования**

Эксперимент осуществлен на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории БелМАПО в рамках выполнения иннова-

ционного проекта «Разработать технологию и организовать производство биологически активных добавок к пище на основе растительных стероидов, повышающих адаптивность организма к физическим нагрузкам», при выполнении этапа по оценке токсикологических свойств разрабатываемой биологически активной добавки к пище.

Исследования проводили на белых беспородных крысах, во время опыта находившихся в условиях стационарного вивария БелМАПО на стандартном рационе, в соответствии с требованиями и рекомендациями, изложенными в нормативных и научно-методических документах [8–12]. Использованы активные животные без видимых признаков заболевания, охотно поедавшие корм, с гладким и блестящим шерстным покровом и нормальной окраской видимых слизистых оболочек. Группы из 20 животных были сформированы с учетом пола и веса животных (разброс по массе тела внутри группы не превышал 10 %).

Поскольку исследуемое вещество имеет высокую биологическую активность уже в микродозах, исходная субстанция 24-эпибрассинолида исследовалась в смеси с порошком глюкозы (в целях стандартизации приготовления суточных навесок). Принимая во внимание необходимость ежедневного введения значительного количества глюкозы и, как следствие, вероятность проявления самостоятельных эффектов, не связанных с действием 24-эпибрассинолида, кроме контрольной группы (интактные животные) была сформирована группа сравнения из животных, получавших эквивалентную дозу глюкозы (6 г/кг) в течение всего срока эксперимента. Действие смеси исследовано в трех дозах, которые составили в пересчете на 24-эпибрассинолид 0,078, 0,388 и 0,775 мг/кг (соответственно группы Д1, Д2 и Д3).

При расчете минимальной исследуемой дозы (Д1) исходили из предполагаемой максимальной эффективной суточной дозы для человека, поскольку при исследовании потенциальной опасности острого отравления полулетальную дозу ( $LD_{50}$ ) установить не удалось (ввиду отсутствия летальных исходов). Коэффициенты запаса для более высоких доз (Д2 и Д3) составили, соответственно, 50 и 100.

При пересчете доз для лабораторных животных использовали коэффициент соотношения поверхности тела к массе, который для крыс равен 6,2 [13].

Введение исследуемой порошкообразной смеси осуществляли путем ежедневного контролируемого индивидуального скормливания, смешивая ее с небольшой порцией еды (вязкая каша).

В ходе всего срока эксперимента периодически проводилась оценка общего состояния животных по следующим критериям: внешний вид (состояние шерстного покрова, окраска кожных покровов и видимых слизистых оболочек), двигательная активность, пищевое поведение, потребление воды, экскреторная функция.

По истечении 30 и 60 суток животных выводили из эксперимента путем одномоментной декапитации на фоне тиопенталового наркоза, после чего отбирали биоматериал (кровь) для биохимических и гематологических исследований.

При проведении биохимического анализа использовали методы количественного определения в сыворотке крови следующих компонентов: концентрация общего холестерина (энзиматический метод Триндера), триглицеридов (энзиматический колориметрический метод), общего белка (биуретовый метод), мочевины (ферментативный уреазный метод), креатинина (метод Поппера), глюкозы (ферментативный метод), активность аспартат- (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ) (кинетический метод).

Для исследования общего анализа мочи использовали утреннюю порцию, хорошо перемешанную, не центрифугированную, без консервантов. Сбор осуществлялся в специальные пластиковые емкости во время нахождения животных в индивидуальных клетках комплекса мониторинга метболизма.

Общие свойства мочи — количество, цвет, прозрачность, наличие осадка определяли визуально; относительную плотность, pH, наличие глюкозы, кетоновых тел, нитритов, белка, уробилиногена, билирубина, крови, гемоглобина, лейкоцитов — экспресс-тестом с помощью диагностических тест-полосок ФАН (Чехия) для полуколичественного анализа мочи.

Гематологические исследования проводили на автоматическом анализаторе крови «Medonic CA 620» («Boule Medical AB», Швеция) с расчетом 13 параметров: количество эритроцитов, тромбоцитов и показатели, характеризующие их: ширина распределения и среднечелочный объем, гематокрит, тромбоцит, относительное содержание больших тромбоцитов, концентрация гемоглобина, среднечелочное содержание и концентрация гемоглобина.

Лейкоцитарная формула определялась путем визуального подсчета количества форменных элементов в мазке; СОЭ — общеклиническим методом.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Statistica» 6.0. Результаты статистической обработки данных представлены в таблицах в виде средней арифметической и ошибки средней арифметической.

Лейкоцитарная формула определялась путем визуального подсчета количества форменных элементов в мазке; СОЭ — общеклиническим методом.

### **Результаты и обсуждение**

#### **Часть 1**

При введении в составе корма субстанции 24-эпибрассинолида белым крысам в течение 30 суток во всех исследованных дозах гибели животных не происходило.

За весь период наблюдения не были выявлены отличия по общему состоянию животных опытных и контрольных групп: шерстный покров, цвет кожи и видимых слизистых оболочек, а также поведение животных всех групп заметно не различались. К концу эксперимента все животные имели положительный прирост массы тела.

Результаты биохимического исследования крови представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, изменение биохимических показателей имело место в крови животных как опытных групп, так и группы сравнения. В частности, наблюдалось снижение уровня общих липидов во всех исследованных дозах, при этом снижение в группах Д1 и Д2 было достоверным относительно контроля.

Уровень общего холестерина заметно вырос только в группе сравнения и в группе с

минимальной дозой субстанции. В остальных группах данный показатель был на уровне контрольных значений.

Принимая во внимание увеличение уровня триглицеридов у животных, получавших только глюкозу, его изменение в опытных группах носило разнонаправленный характер, но в целом концентрация триглицеридов была выше во всех группах по сравнению с контролем.

К концу эксперимента достоверное снижение во всех группах было отмечено для таких показателей, как уровень общего белка и мочевины. При этом степень снижения несколько отличалась как между опытными группами и группой сравнения, так и внутри опытных групп. Колебания концентрации креатинина имели сходную динамику с изменением уровня мочевины (с тенденцией к ее увеличению), но были недостоверными.

Таблица 1 — Биохимические показатели сыворотки крови белых крыс после введения субстанции в течение 30 суток

Наименование показателей	Контрольная группа	Группа сравнения	Д1	Д2	Д3
Общие липиды, г/л	4,3 ± 0,05	4,2 ± 0,17	4,05 ± 0,09*	4,1 ± 0,12*	4,0 ± 0,23
Общий холестерин, ммоль/л	1,0 ± 0,07	1,2 ± 0,06*	1,2 ± 0,08	1,0 ± 0,09	1,0 ± 0,07
Триглицериды, ммоль/л	0,6 ± 0,06	0,9 ± 0,13*	0,7 ± 0,05	1,2 ± 0,14*	0,7 ± 0,07
Общий белок, г/л	69,9 ± 1,33	61,4 ± 1,60*	65,3 ± 1,29*	66,2 ± 1,39*	62,1 ± 1,53*
Мочевина, ммоль/л	8,1 ± 0,09	7,1 ± 0,30*	7,4 ± 0,33	6,4 ± 0,37*	6,7 ± 0,21*
Креатинин, мкмоль/л	54,1 ± 2,87	59,6 ± 5,08	63,1 ± 4,42	52,2 ± 1,62	56,5 ± 2,98
Глюкоза, ммоль/л	8,2 ± 0,14	6,0 ± 0,64*	6,5 ± 0,23*	7,9 ± 0,25	7,0 ± 0,38*
Билирубин, мкмоль/л	9,3 ± 0,12	9,7 ± 1,04	12,7 ± 0,56*	10,6 ± 0,37*	11,9 ± 0,51*
ЛДГ, Е/л	2417 ± 112,7	3545 ± 363,9*	3481 ± 286,26*	3432 ± 257,3*	4012 ± 236,2*
АлАТ, Е/л	85,1 ± 2,73	83,3 ± 3,57	71,65 ± 3,30***	83,9 ± 1,91	77,7 ± 4,31
АсАТ, Е/л	211,9 ± 7,70	196,2 ± 11,53	210,77 ± 9,51	217,1 ± 13,58	227,7 ± 7,24
ЩФ, Е/л	160,9 ± 6,34	209,4 ± 21,96	169,23 ± 10,08	189,6 ± 21,49	206,8 ± 14,36

\* Различия достоверны по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ); \*\* различия достоверны по сравнению с группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

На 30 сутки уровень глюкозы заметнее всего снизился в группе сравнения, несколько выше он был в опытных группах, хотя и оставался достоверно ниже контроля. Исключение составила только группа Д2, где концентрация глюкозы в сыворотке крови была на уровне контрольных показателей. Концентрация билирубина повысилась во всех группах, причем в опытных группах это изменение было достоверно.

Изменение активности лактатдегидрогеназы, аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы по сравнению с контролем, вероятно, носит дозозависимый характер. Однако достоверное увеличение имеет место только в случае с лактатдегидрогеназой; для аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы эти изменения остаются на уровне тенденций.

Изменение активности аланинаминотрансферазы было достоверно только в группе Д1 (причем как относительно контроля, так и

группы сравнения), хотя некоторое снижение данного показателя заметно и для группы Д3.

Как видно из приведенных данных, субстанция, содержащая 24-эпибрассинолид, при многократном введении оказывает влияние практически на все виды обмена: липидный, белковый, пигментный, углеводный. Хотя, что касается последнего, в частности, снижения уровня глюкозы, то оно, вероятно, в большей степени связано с длительным приемом достаточно высоких доз глюкозы либо совместным влиянием глюкозы и 24-эпибрассинолида.

Изменение многих показателей внутри опытных групп (Д1-Д3) носило разнонаправленный характер как по сравнению с контролем, так и с группой сравнения. Наиболее выделяющейся оказалась группа Д2, в которой изменение анализируемых показателей часто не соответствовало общей тенденции. Учитывая гормональную природу брассиностерои-

дов, можно предположить, что различные концентрации 24-эпибрассинолида могли вызвать разнонаправленные реакции или что доза, вводимая животным группы Д2, была близка к физиологически значимой.

Суточный диурез животных контрольной группы, группы сравнения и групп Д1, Д2, Д3 составил, соответственно,  $8,6 \pm 1,7$ ;  $12,6 \pm 2,0$ ;  $8,2 \pm 0,9$ ;  $9,1 \pm 1,0$ ;  $9,4 \pm 2,0$  мл.

Моча интактных животных имела соломенно-желтый цвет, в то время как у трети животных, получавших глюкозу и исследуемую субстанцию во всех дозах, цвет мочи был значительно светлее, что, возможно, связано с повышенным диурезом у данных животных. Потребление воды во всех группах по сравнению с контролем было также повышено (в группе сравнения на 40 %, в опытных группах в среднем на 30 %), хотя и не достоверно.

Имела место тенденция к повышению удельного веса мочи в группе сравнения и опытных группах: от  $1,005 \pm 0,001$  у интактных животных до  $1,027 \pm 0,001$  у животных, получавших глюкозу, и  $1,025 \pm 0,001$ ,  $1,027 \pm 0,001$  и  $1,028 \pm 0,001$  у животных групп Д1, Д2 и Д3 соответственно. Наблюдалось также повышение показателя pH у животных всех групп по сравнению с интактными животными.

При исследовании мочи полуколичественными методами установлено, что в 2 из 8 проб в группе сравнения и 1 — в группе Д1 была обнаружена глюкоза. В группе сравнения и всех опытных группах были отмечены единичные случаи наличия кетонов и нитритов в моче. Белок, уробилиноген, билирубин, кровь, гемоглобин, лейкоциты обнаружены не были.

Результаты гематологического исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Гематологические показатели белых крыс, определяемые гематологическим анализатором, после введения субстанции в течение 30 суток

Наименование показателей	Контрольная группа	Группа сравнения	Д1	Д2	Д3
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	$8,3 \pm 0,1$	$8,0 \pm 0,2$	$8,0 \pm 0,2$	$8,0 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,4$
Средний объем эритроцита, фл	$49,8 \pm 0,3$	$50,5 \pm 0,8$	$50,8 \pm 0,4$	$50,3 \pm 0,4$	$52,0 \pm 1,2$
Ширина распределения эритроцитов (коэффициент анизотропии), %	$13,7 \pm 0,2$	$14,1 \pm 0,4$	$14,0 \pm 0,5$	$13,8 \pm 0,4$	$15,2 \pm 1,3$
Ширина распределения эритроцитов, фл	$41,0 \pm 0,4$	$42,3 \pm 0,6$	$42,4 \pm 0,7$	$41,8 \pm 0,4$	$45,6 \pm 3,0$
Гематокрит, %	$41,4 \pm 0,7$	$40,1 \pm 0,7$	$40,6 \pm 0,9$	$40,2 \pm 1,2$	$39,5 \pm 1,6$
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	$515,7 \pm 33,0$	$501,3 \pm 67,7$	$580,9 \pm 51,0$	$644,2 \pm 57,1$	$563,6 \pm 45,9$
Средний объем тромбоцита, фл	$6,7 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,1^*$	$6,4 \pm 0,1^*$	$6,6 \pm 0,1^{**}$	$6,4 \pm 0,1^*$
Ширина распределения тромбоцитов, фл	$8,2 \pm 0,9$	$8,5 \pm 0,2$	$8,4 \pm 0,1$	$8,8 \pm 0,1$	$8,5 \pm 0,1$
Тромбокрит, %	$0,34 \pm 0,01$	$0,3 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,0$
Большие тромбоциты, %	$10,4 \pm 0,5$	$8,7 \pm 0,6^*$	$7,7 \pm 0,5^*$	$9,4 \pm 0,3^*$	$8,3 \pm 0,5^*$
Гемоглобин, г/л	$141,3 \pm 1,9$	$139,1 \pm 2,3$	$144,1 \pm 2,9$	$140,4 \pm 3,7$	$138,9 \pm 5,8$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	$17,0 \pm 0,2$	$17,5 \pm 0,4$	$18,1 \pm 0,2^*$	$17,6 \pm 0,2^*$	$18,3 \pm 0,3^*$
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	$342,2 \pm 2,6$	$347,5 \pm 2,3$	$355,6 \pm 2,5^{**}$	$350,0 \pm 2,8$	$352,0 \pm 2,2^*$
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч	$1,4 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,8$	$4,4 \pm 1,5$

\* различия достоверны по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ); \*\* различия достоверны по сравнению с контрольной группой и группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

Как видно из таблицы 2, к концу эксперимента достоверно увеличилось среднее содержание и концентрация гемоглобина в эритроците. В литературе имеются сведения о подобных изменениях: повышение концентрации гемоглобина под действием 24-эпибрассинолида наблюдали Л. А. Наджарян с соавторами [7]. Они связывали это с увеличением осмотической резистентности эритроцитов в результате изменения структуры и свойств мембран клеток.

Достоверные изменения были зарегистрированы также по таким показателям, как средний объем тромбоцита и относительное содержание больших тромбоцитов.

Кроме того, можно отметить тенденцию к некоторому снижению гематокрита в группе контроля и опытных группах, что согласуется с данными по количеству эритроцитов.

Результаты микроскопического исследования мазков крови представлены в таблице 3.

Полученные данные свидетельствуют об увеличении количества лейкоцитов во всех группах по сравнению с контролем, причем в данном случае можно говорить о дозозависимом характере изменений.

Кроме того, наблюдали изменение соотношения грануло- и агранулоцитов. В частности, значительно увеличилось процентное со-

держание моноцитов в группе сравнения и опытных группах, причем столь заметное увеличение их относительного числа вероятнее всего сопровождалось увеличением и абсолют-

ного числа. Также несколько повысилось относительное содержание лимфоцитов. Соответственно заметно (хоть и недостоверно) снизилось относительное содержание гранулоцитов.

Таблица 3 — Лейкоцитарная формула крови белых крыс после введения субстанции в течение 30 суток (микроскопия)

Наименование показателей	Контрольная группа	Группа сравнения	Д1	Д2	Д3
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	$3,7 \pm 0,50$	$4,7 \pm 0,94$	$5,1 \pm 0,92$	$6,3 \pm 1,01^*$	$6,4 \pm 0,64^*$
Лимфоциты, %	$74,6 \pm 1,5$	$77,7 \pm 2,21$	$78,7 \pm 2,13$	$79,2 \pm 1,54$	$76,5 \pm 1,90$
Моноциты, %	$0,9 \pm 0,35$	$4,2 \pm 0,81^*$	$5,3 \pm 0,59^*$	$3,8 \pm 0,48^*$	$5,1 \pm 0,87^*$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$0,1 \pm 0,12$	$0,1 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,24$	$0,1 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,22$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$18,4 \pm 1,30$	$15,8 \pm 1,66$	$11,6 \pm 1,86$	$13,2 \pm 1,57$	$14,8 \pm 1,67$
Эозинофилы, %	$6,0 \pm 0,86$	$2,0 \pm 0,61$	$3,5 \pm 0,96$	$3,1 \pm 0,76$	$3,0 \pm 0,49$

\* Различия достоверны по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ).

В литературных источниках имеются упоминания об обратном влиянии брассиностероидов на лимфопоэз, однако эти данные трудно адекватно соотнести с полученными нами, ввиду того, что сроки эксперимента значительно превышали 30 суток. Так, Л. А. Наджарян с соавторами отмечали угнетение лимфопоэза и увеличение числа сегментоядерных лейкоцитов у самцов при введении 24-эпибрассинолида в течение 90 суток [7].

#### Заключение

Как показали исследования, длительное воздействие субстанции, содержащей 24-эпибрассинолид, привело к изменению ряда биохимических и гематологических показателей. Многие из выявленных изменений носили разнонаправленный характер даже внутри опытных групп. В частности, изменение ряда биохимических показателей в группе Д2 часто не соответствовало общей тенденции. Вероятнее всего это связано со стероидной структурой 24-эпибрассинолида и некоторой схожестью со строением животных гормонов (в том числе гормонов млекопитающих). Кроме того, некоторые изменения могли быть обусловлены, в том числе, совместным или самостоятельным действием глюкозы.

Не вызывает сомнения влияние 24-эпибрассинолида на гемопоэз, на что также имеются ссылки в литературе [7]. Однако для уточнения характера этого влияния необходимы допол-

нительные исследования эффектов введения 24-эпибрассинолида в более длительные сроки.

#### Часть 2

При длительном, в течение 60 суток, скармливании субстанции с кормом белым крысам во всех исследованных дозах гибели животных не происходило.

В ходе эксперимента отличий по внешнему виду, двигательной активности и поведению выявлено не было. К окончанию срока все животные имели положительный прирост массы тела, причем у животных группы сравнения он был выше контроля на 5,5 %, в опытных группах — в среднем на 6,5 % (максимален в группе Д2 — на 10,4 %).

Данные биохимического исследования крови представлены в таблице 4.

Результатом длительного воздействия 24-эпибрассинолида стало изменение практически всех анализируемых показателей. Многие тенденции, отмеченные в ходе предшествующих экспериментов с 30-дневным введением исследуемой субстанции, сохранились, а в ряде случаев усилились.

Так, наметившийся в предыдущих исследованиях рост концентрации триглицеридов к 60 суткам стал достоверным во всех группах, кроме Д3. Уровень триглицеридов в крови животных, получавших максимальную дозу 24-эпибрассинолида, повысился не так заметно, как в других опытных группах и был несколько ниже, чем в группе сравнения.

Таблица 4 — Биохимические показатели сыворотки крови белых крыс после введения субстанции в течение 60 суток

Наименование показателей	Контрольная группа	Группа сравнения	Д1	Д2	Д3
Общий холестерин, ммоль/л	$1,0 \pm 0,07$	$1,5 \pm 0,10^*$	$1,3 \pm 0,07^*$	$1,2 \pm 0,05^*$	$1,2 \pm 0,08^*$
Триглицериды, ммоль/л	$0,6 \pm 0,06$	$0,9 \pm 0,08^*$	$1,2 \pm 0,11^*$	$1,1 \pm 0,11^*$	$0,8 \pm 0,18$
Общий белок, г/л	$69,9 \pm 1,33$	$64,3 \pm 1,00^*$	$67,3 \pm 0,90$	$65,2 \pm 1,09^*$	$64,9 \pm 2,14$
Мочевина, ммоль/л	$8,01 \pm 0,09$	$5,8 \pm 0,15^*$	$5,8 \pm 0,26^*$	$5,2 \pm 0,15^*$	$5,9 \pm 0,26^*$
Креатинин, мкмоль/л	$54,1 \pm 2,87$	$84,9 \pm 3,65^*$	$96,9 \pm 3,64^*$	$85,0 \pm 3,51^*$	$93,2 \pm 6,43^*$
Глюкоза, ммоль/л	$8,2 \pm 0,14$	$7,6 \pm 0,19^*$	$6,1 \pm 0,2^*$	$6,5 \pm 0,23^*$	$8,4 \pm 1,28$
ЛДГ, Е/л	$2417 \pm 113$	$2569 \pm 477$	$6513 \pm 496^{*,**}$	$3861 \pm 309^{*,**}$	$3709 \pm 263^*$
АлАТ, Е/л	$85,1 \pm 2,73$	$72,1 \pm 5,26^*$	$72,5 \pm 5,46^*$	$71,2 \pm 4,40^*$	$78,7 \pm 4,61^*$
АсАТ, Е/л	$211,9 \pm 7,70$	$174,2 \pm 6,70$	$194,9 \pm 14,44$	$196,0 \pm 5,66$	$167,1 \pm 11,35^*$
ЩФ, Е/л	$160,9 \pm 6,34$	$178,8 \pm 13,46$	$171,9 \pm 17,60$	$182,0 \pm 14,89$	$199,2 \pm 12,87$

\* Различия достоверны по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ); \*\* различия достоверны по сравнению с группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

Достоверно увеличился уровень общего холестерина. Наибольшие изменения отмечены в группе сравнения и группе Д1. Следует отметить, что относительно группы сравнения показатели общего холестерина в опытных группах были несколько ниже (в группе Д2 достоверно).

Отмечено снижение уровня общего белка, хотя достоверно он изменился только в группе сравнения, а из опытных групп — в Д2.

В ходе второго месяца введения субстанции 24-эпибрассинолида продолжалось уменьшение концентрации мочевины и увеличение концентрации креатинина в крови животных группы сравнения и опытных групп. К концу эксперимента они были достоверны во всех группах относительно контроля. При этом обращают на себя внимание изменения этих показателей в группе Д2: уровни мочевины и креатинина здесь заметно ниже по сравнению с другими опытными группами (различия концентраций мочевины в группах Д2 и Д3, а креатинина для Д1 и Д2 достоверны).

Подобные изменения свидетельствуют о влиянии субстанции на белковый обмен, а также могут указывать на ее возможную токсичность. В частности, снижение концентрации белка и мочевины может быть связано с нарушениями функции печени, увеличение концентрации креатинина — с нефротоксическим действием [14].

Уровень глюкозы в сыворотке крови крыс группы сравнения был ниже, чем у животных контрольной группы. Однако он несколько повысился относительно показателя, зарегистрированного в этой группе в предыдущем эксперименте ( $6,0 \pm 0,14$  ммоль/л). Вероятно, в данном случае можно говорить об адаптации организма к длительной углеводной нагрузке.

В опытных группах отмечены разнонаправленные изменения концентрации глюкозы. В группах Д1 и Д2 она была достоверно ниже уровня как интактных животных, так и животных, получавших глюкозу, в группе Д3 — на уровне контрольных значений.

По истечении 60 суток эксперимента сохраняется стабильно высокий уровень активности лактатдегидрогеназы в опытных группах. Активность аминотрансфераз снижается. Причем, если и в 30-суточном опыте для аланинаминотрансферазы также была отмечена тенденция к снижению, то активность аспаратаминотрансферазы в опытных группах была несколько повышена. Активность щелочной фосфатазы изменяется незначительно, но при этом сохраняется тенденция к ее повышению с увеличением дозы 24-эпибрассинолида.

Полученные результаты свидетельствуют о способности исследуемой субстанции влиять на липидный, белковый и углеводный обмен. Принимая во внимание разнонаправленность изменений отдельных биохимических показателей в опытных и контрольных группах, можно предпо-

ложить, что они обусловлены совместным действием глюкозы и 24-эпибрассинолида.

В 60-суточном эксперименте сохраняется некоторое «выпадение» биохимических показателей сыворотки крыс группы Д2, что, вероятнее всего, связано с неэквивалентным ответом организма животных на действие различных концентраций исследуемой субстанции.

Суточный диурез животных контрольной группы, группы сравнения и групп Д1, Д2, Д3 составил, соответственно,  $7,3 \pm 1,0$ ;  $13,4 \pm 2,1$ ;  $8,0 \pm 0,9$ ,  $11,5 \pm 2,0$ ;  $10,3 \pm 1,2$  мл. Как видно, имеет место увеличение диуреза в группе сравнения и группах Д2 и Д3, чем объясняется более светлый цвет мочи у части животных опытных групп и группы сравнения. При этом не наблюдается прямой корреляции между изменением потребления воды и увеличением суточного диуреза. Так, потребление жидкости в среднем составило  $11,7 \pm 2,1$  мл/сут для контрольной группы,  $11,1 \pm 1,9$  мл/сут — для группы сравнения и  $14,5 \pm 2,8$ ;  $11,2 \pm 2,2$ ;  $15,0 \pm 2,6$  мл/сут — для групп Д1, Д2, Д3 соответственно.

Как и в предыдущем опыте отмечается повышение удельного веса мочи во всех группах по сравнению с интактными животными, а также показателя рН от 5,5 (контрольная группа) до 6–6,5 в группе сравнения и опытных группах.

При проведении полуколичественного анализа установлено, что в моче животных опытных групп и группы сравнения присутствуют следовые количества белка, в отдельных пробах — кетоны. В группе Д3 содержание белка во всех пробах составило 30 г/л, кроме того, в моче крыс этой группы обнаружен гемоглобин, что может свидетельствовать о нарушении функции почек [14]. Глюкоза, билирубин и лейкоциты обнаружены не были.

Результаты гематологического исследования представлены в таблице 5.

Как видно из таблицы 5, после 60 суток введения субстанции во всех группах было отмечено достоверное уменьшение количества эритроцитов и ассоциированное с ним снижение гематокрита и концентрации гемоглобина. Следует отметить, что все эти показатели практически не различались между группой сравнения и опытными группами, из чего можно сделать вывод, что они в значительной степени обусловлены действием глюкозы. Однако, как свидетельствуют литературные данные, 24-эпибрассинолид также оказывает заметное влияние на клеточные компоненты крови, в частности, изменяет структуру и свойства мембран эритроцитов [7]. В качестве проявления этого влияния авторы приводят увеличение среднего содержания и концентрации гемоглобина в эритроците. Подобные изменения наблюдались и при действии исследуемой субстанции в течение 60 суток, хотя они и были выражены в меньшей степени, чем после 30-суточного приема.

Таблица 5 — Гематологические показатели белых крыс, определяемые гематологическим анализатором, после введения субстанции в течение 60 суток

Наименование показателей	Контрольная группа	Группа сравнения	Д1	Д2	Д3
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	$8,3 \pm 0,13$	$7,4 \pm 0,12^*$	$7,7 \pm 0,24^*$	$7,7 \pm 0,20^*$	$7,5 \pm 0,18^*$
Средний объем эритроцита, фл	$49,8 \pm 0,33$	$50,8 \pm 0,78$	$50,1 \pm 0,79$	$49,9 \pm 0,73$	$46,9 \pm 4,70$
Ширина распределения эритроцитов (коэффициент анизотропии), %	$13,7 \pm 0,19$	$12,4 \pm 0,26$	$12,8 \pm 0,38^*$	$13,1 \pm 0,32$	$12,3 \pm 0,26^*$
Ширина распределения эритроцитов, фл	$40,0 \pm 0,45$	$40,6 \pm 0,65$	$36,5 \pm 3,64$	$40,3 \pm 0,55$	$37,4 \pm 3,77$
Гематокрит, %	$41,4 \pm 0,66$	$37,7 \pm 0,36^*$	$38,3 \pm 0,70^*$	$38,2 \pm 0,74^*$	$34,7 \pm 3,55$
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	$515,7 \pm 32,97$	$602,6 \pm 22,78$	$576,2 \pm 72,88$	$654,2 \pm 61,77$	$580,2 \pm 43,47$
Средний объем тромбоцита, фл	$6,7 \pm 0,08$	$6,5 \pm 0,09$	$6,7 \pm 0,06$	$6,6 \pm 0,04$	$6,6 \pm 0,08$
Ширина распределения тромбоцитов, фл	$8,2 \pm 0,88$	$8,6 \pm 0,15$	$8,8 \pm 0,11$	$8,7 \pm 0,06$	$8,8 \pm 0,11$
Тромбокрит, %	$0,3 \pm 0,02$	$0,4 \pm 0,02$	$0,4 \pm 0,03$	$0,4 \pm 0,04$	$0,4 \pm 0,04$
Большие тромбоциты, %	$10,4 \pm 0,55$	$8,7 \pm 0,59$	$9,5 \pm 0,52$	$9,0 \pm 0,31^*$	$9,1 \pm 0,47$
Гемоглобин, г/л	$141,3 \pm 1,90$	$133,0 \pm 1,17^*$	$132,1 \pm 2,40^*$	$134,3 \pm 2,53^*$	$132,7 \pm 3,67$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	$17,0 \pm 0,16$	$17,9 \pm 0,35^*$	$17,3 \pm 0,31$	$17,6 \pm 0,23$	$17,8 \pm 0,22^*$
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	$342,2 \pm 2,64$	$352,7 \pm 2,73^*$	$346,0 \pm 1,63$	$352,7 \pm 1,89^*$	$346,0 \pm 3,36$
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч	$1,4 \pm 0,16$	$2,8 \pm 0,59$	$1,2 \pm 0,13^{**}$	$1,4 \pm 0,16^{**}$	$2,2 \pm 0,40$

\* Различия достоверны по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ), \*\* различия достоверны по сравнению с группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

Значимых изменений по другим показателям, определяемым гемоанализатором, не отмечено.

Несколько повысилась скорость оседания эритроцитов в группе сравнения по отношению к контрольной и опытным группам Д1 и Д2. Однако в группах с повышенным показателем СОЭ (группа сравнения, Д3) отмечен достаточно широкий разброс значений, что может быть связано с индивидуальными особенностями животных.

Результаты микроскопического исследования мазков крови представлены в таблице 6.

Отмечается повышенное содержание моноцитов, а снижение эозинофилов становится достоверным. Однако в отличие от результатов 30-суточного эксперимента не наблюдается тенденции к снижению других гранулоцитов — сегментов и палочек. Колебания относительно содержания лимфоцитов недостоверны и принадлежат области верхней границы физиологической нормы — 77 % [15]. Таким образом, не наблюдается отмеченного ранее перераспределения агрануло- и гранулоцитов.

Таблица 6 — Лейкоцитарная формула крови белых крыс после введения субстанции в течение 60 суток (микроскопия)

Наименование показателей	Контрольная группа	Группа сравнения	Д1	Д2	Д3
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	$3,7 \pm 0,50$	$3,0 \pm 0,15$	$3,8 \pm 0,41$	$4,6 \pm 0,61$	$4,7 \pm 0,70$
Лимфоциты, %	$74,6 \pm 1,5$	$77,8 \pm 1,28$	$78,1 \pm 2,33$	$72,6 \pm 2,66$	$75,6 \pm 2,52$
Моноциты, %	$0,9 \pm 0,35$	$2,7 \pm 0,70^*$	$2,4 \pm 0,73$	$3,7 \pm 0,42^*$	$2,8 \pm 0,81$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$0,1 \pm 0,12$	$0,3 \pm 0,23$	$0,4 \pm 0,16$	$0,6 \pm 0,22$	$0,3 \pm 0,15$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$18,4 \pm 1,30$	$16,1 \pm 1,16$	$16,6 \pm 2,05$	$20,9 \pm 2,49$	$19,0 \pm 2,07$
Эозинофилы, %	$6,0 \pm 0,86$	$3,0 \pm 0,47^*$	$2,4 \pm 0,73^*$	$2,2 \pm 0,62^*$	$2,3 \pm 0,55^*$

\* Различия достоверны по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ).

### Заключение

Результаты 60-дневного хронического эксперимента подтверждают полученные ранее данные о способности исследуемой субстанции 24-эпибрассинолида влиять на липидный, белковый и углеводный обмен у белых крыс. При этом сохраняется некоторое «выпадение» биохимических показателей сыворотки крыс

группы Д2, что, вероятнее всего, связано с неэквивалентным ответом организма животных на различные концентрации 24-эпибрассинолида.

Среди результатов гематологических исследований стоит отметить сохранение тенденции к уменьшению количества эритроцитов, гематокрита и концентрации гемоглобина и увеличению среднего содержания гемогло-

бина в эритроците. Значительных изменений остальных показателей, а также общего соотношения грануло- и агранулоцитов, в том числе отмечавшихся в 30-суточном эксперименте, не выявлено. Вероятно, это связано с развитием адаптивных реакций организма крыс в течение второго месяца воздействия субстанции.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Zullo, M.A.T. Brassinosteroid phytohormones — structure, bioactivity and applications / M.A.T. Zullo, G. Adam // *Brazilian Journal of Plant Physiology*. — 2002. — Vol. 14, № 3. — P. 26–31.
2. Муравьева, Д. А. Фармакогнозия: учеб. / Д. А. Муравьева. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 1991. — 560 с.
3. Хрипач, В. А. Брассиностероиды / В. А. Хрипач, Ф. А. Лавич, В. Н. Жабинский. — Мн.: Навука і тэхніка, 1993. — 287 с.
4. Изменение показателей метаболизма у крыс в условиях длительного воздействия эпибрасинолида / А. И. Котеленец [и др.] // *Здравоохранение*. — 2005. — № 6. — С. 44–47.
5. Оценка потенциальной мутагенной активности 24-эпибрасинолида / А. М. Войтович [и др.] // *Цитология и генетика*. — 2004. — Т. 38, № 6. — С. 49–53.
6. Кольман, Г. Влияние 24-эпибрасинолида на микроскопический образ клеток крови у русского осетра (*Acipenser gueldenstaedti* Br.) / Г. Кольман, Р. Кольман, М. Михалык // *Труды научной конференции «Инновации в науке и образовании – 2005»*, Калининград 19–21 окт. 2005 г. — Калининград: Изд. КГТУ, 2005. — С. 84–85.
7. Показатели гемопоэза и стероидного обмена у животных при воздействии эпибрасинолида / Л. А. Наджарян [и др.] // *Современные проблемы токсикологии*. — 2006. — № 2. — С. 43–48.
8. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP): Руководящий нормативный документ РД-126-91. — М., 1992.
9. Инструкция № 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ». — Мн.: ГУ РЦГЭиОЗ МЗ РБ, 2004. — 44 с.
10. Пищевые продукты и пищевые добавки. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище: метод. указания 2.3.2.721-98: утв. М-вом здравоохранения Рос. Федерации 15.10.98: введ. в действие с 01.11.99. — 46 с.
11. Временное положение о порядке разрешения к медицинскому применению и промышленному производству новых лекарственных средств. — Мн.: МЗ Беларуси, 1993.
12. Постановка исследований в объеме первичной токсикологической оценки веществ: метод. указания МЗ РБ № 48-9405. — Мн., 1994.
13. Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers: U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). — *Pharmacology and Toxicology*. — 2005.
14. Методы клинических лабораторных исследований: учебник / В. С. Камышников [и др.]; под. ред. В. С. Камышникова — 2-е изд., перераб. и доп. — Мн.: Бел. наука, 2002. — 775 с.
15. Физиологические показатели нормы животных: справочник / авт.-сост. А. Линева. — М.: «Аквариум ЛТД», К.: ФГУИППВ, 2003. — 256 с.

Поступила 07.08.2009

УДК 616-002.8/9:613

### ЗНАЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ, ПОВЕДЕНЧЕСКИХ, СОЦИАЛЬНЫХ И ЖИЛИЩНО-БЫТОВЫХ ФАКТОРОВ В ФОРМИРОВАНИИ СИСТЕМЫ «ПАЗАРИТ – ХОЗЯИИ» (ENTEROBIUS VERMICULARIS – HOMO SAPIENS), ХАРАКТЕРИЗУЮЩЕЙСЯ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТЬЮ ИНВАЗИИ

Е. М. Бутенкова

Гомельский государственный медицинский университет

Осуществлена количественная оценка биологических, поведенческих, социальных и жилищно-бытовых факторов в формировании системы «паразит – хозяин» (*Enterobius vermicularis* – *Homo sapiens*). Приведены прогностические коэффициенты и информативность наиболее значимых факторов в развитии у детей Гомельского региона энтеробиозной инвазии, характеризующейся низкой, средней и высокой интенсивностью инвазии. На основе полученных данных выделены группы риска по развитию энтеробиозной инвазии высокой интенсивности и предложены направления повышения эффективности борьбы с возбудителем энтеробиоза.

**Ключевые слова:** *Enterobius vermicularis*, система «паразит – хозяин», интенсивность инвазии, факторы риска.

### SIGNIFICANCE OF BIOLOGICAL, BEHAVIOUR, SOCIAL AND LIVING CONDITIONS FACTORS IN FORMING THE SYSTEM «PARASITE – HOST» (ENTEROBIUS VERMICULARIS – HOMO SAPIENS), CHARACTERIZED BY DIFFERENT INVASION INTENSITY

E. M. Butenkova

Gomel State Medical University

Quantity valuation of biological, behaviour, social and living conditions factors in forming the system parasite – host (*Enterobius vermicularis* – *Homo sapiens*) has been carried out. Prognosis coefficients and information value of the most significant factors of enterobius invasion development that is typical of children in Gomel region and is characterized by low, medium and high invasion intensity have been given. Risk groups of development high intensity enterobius invasion have been distinguished on the basis of the received data and directions of the increase in effectiveness of the enterobius causative agent control have been suggested.

**Key words:** *Enterobius vermicularis*, the system parasite – host, invasion intensity, risk factors.