

L. G. Lovtsova, O. I. Guliy, Ya. B. Drevko,
S. V. Kozlov, P. V. Smutnev

THE INFLUENCE OF SELF-ORGANIC COMPOUNDS ON CLINICAL AND METABOLIC MANIFESTATIONS IN MALE BALb/c LINES AT COBALT COVERAGE

Abstract.

Background. A significant impact on living organisms and their communities is provided by man-made inputs of various heavy metals including cobalt. The aim of our work was to study the prophylactic efficacy of organoselenium compounds (2,4-diphenyl-tetrahydro-selenochromen and 2-phenyl-4-(p-bromo-phenyl)-tetrahydro-selenochromen) on the model of acute poisoning with cobalt chloride in BALb/c mice.

Materials and methods. Biochemical studies, when considering the effect of two organoselenium compounds on the metabolic parameters of blood in mice, were performed on a biochemical analyzer "StatFax 3300" using the diagnostic systems of the firm "Olvex Diagnosticum" and "Diakon DS". To check the correctness and accuracy of the determination of biochemical parameters in serum, a control serum for biochemical studies was used in accordance with TU 9398-022-09807247-2009, LLC "HOSPITEX DIAGNOSTICS".

Results. As a result of the conducted studies, it has been established that the introduction of organoselenium compounds (2,4-diphenyl-tetrahydro-selenochromene and 2-phenyl-4-(p-bromo-phenyl)-tetrahydro-selenochrome) inhibits the development of the pathological process in BALb/c mice exposure to inflated doses of xenobiotic, cobalt chloride.

Conclusions. It was found that the best indices for decreasing intoxication of the salt of this metal shows 2-phenyl-4-(p-bromo-phenyl)-tetrahydro-selenochrome. Presumably because of the structure of the molecule with the introduction of Br into the paraposition, at which the electron density is mixed with Br and, as a consequence, Se becomes more reactive. Along with this, it was reliably established that the oral administration of organoselenium compounds (2,4-diphenyl-tetrahydro-selenochrome and 2-phenyl-4-(p-bromo-phenyl)-tetrahydro-selenochromes) at doses of 3,8 and 3,2 mg/kg, a clinically healthy animal does not have a negative effect on the vital activity of the mice.

Key words: cobalt, detoxification, metabolism, selenium compounds, biochemical blood test, xenobiotic, heavy metal poisoning.

Среди многих последствий хозяйственной деятельности человеческого общества особое значение имеет процесс прогрессирующего накопления металлов в окружающей среде. К наиболее опасным загрязнителям относят ртуть, свинец и кадмий. Существенное воздействие на живые организмы и их сообщества оказывают также техногенные поступления марганца, олова, меди, молибдена, хрома, никеля и кобальта. Кобальт нашел достаточно широкое применение в медицине. Для лечения анемии используются соли кобальта в сочетании с медью. Радиоактивный кобальт все чаще используется в онкологии в качестве заменителя радия.

В связи с вышеизложенным целью нашей работы являлось изучение профилактической эффективности селеноорганических соединений (2,4-дифенил-тетрагидроселенохромена [1] и 2-фенил-4-(п-бром-фенил)-тетрагидроселенохромена [2]) на модели острого отравления хлоридом кобальта у мышей линии BALb/c.

Материалы и методы

Для изучения детоксикационных свойств селеноорганических соединений было сформировано шесть групп мышей линии BALb/c по 10 особей в каждой. Возраст животных 8–12 недель, масса на начало эксперимента 18–25 г. Животных содержали в виварии согласно санитарным правилам и на стандартном рационе в соответствии с Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 № 51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)”». Корм представлял собой сухой брикетированный ПК-120 ГОСТ Р 51849–2011 Р.5 (ООО «Лабораторкорм», г. Москва).

Животные первой (фоновой) группы были интактными. Животным второй группы вводили 2,4-дифенил-тетрагидро-селенохромена в дозе 3,8 мг/кг, с кормом, однократно. Животным третьей группы вводили 2-фенил-4-(п-бром-фенил)-тетрагидроселенохромена в дозе 3,2 мг/кг, с кормом, однократно. Животным четвертой группы (положительный контроль) внутрижелудочно вводили токсин (кобальта хлорид) в дозе 200 мг/кг, что соответствует ЛД₅₀. Пятой группе животных за 2 ч до введения токсина в дозе 200 мг/кг, с кормом давали 2,4-дифенил-тетрагидро-селенохромена в дозе 3,8 мг/кг. Шестой группе животных за 2 ч до введения токсина в дозе 200 мг/кг, с кормом давали 2-фенил-4-(п-бром-фенил)-тетрагидроселенохромена в дозе 3,2 мг/кг.

В течение 14 суток проводили наблюдение за общим состоянием и поведением животных; регистрировали гибель мышей, а также проявление симптомов интоксикации; отмечали особенности поведения, приема корма и воды; учитывали состояния волосяного покрова, слизистых и т.д.

Через 14 суток проводили умерщвление выживших животных методом транслокации шейных позвонков с последующим взятием биологических материалов. Кровь для биохимических исследований брали по 1–2 мл в вакуумные пробирки для *in vitro* диагностики “Improvacuter” (Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd, China) с использованием тромбина в качестве активатора сгустка. Для получения сыворотки пробы центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин.

Биохимические исследования проводили на биохимическом анализаторе “StatFax 3300” с использованием диагностических систем фирмы «Ольвекс диалог» и «Диакон ДС». Для проверки правильности и точности определения биохимических показателей в сыворотке крови использовали контрольную сыворотку для биохимических исследований по ТУ 9398-022-09807247-2009, ООО “HOSPITEX DIAGNOSTICS”.

Результаты

Мыши подопытных групп отличались от контрольных животных по внешнему виду, по состоянию слизистых оболочек, активности, потреблению корма и воды, а также по естественным отправлениям.

В четвертой группе животных отмечалась ярковыраженная картина интоксикации: отказ от корма, нарушение груминга, вялость, гиподинамия, у большинства животных данной группы наблюдалось сопорозное состояние. Часть из них впадали в кому, после чего наступала смерть. Гибель животных в четвертой группе составила 40 %.

У животных пятой и шестой группы картина интоксикации была менее выражена и проявлялась снижением аппетита, гиподинамией, нарушением груминга. Через 7–8 суток после введения ксенобиотика (CoCl_2 в дозе 200 мг/кг) клинические симптомы интоксикации купировались, и далее мыши по внешнему виду не отличались от контрольных (фоновых). Во второй и третьей группе животных признаков интоксикации не наблюдалось.

Влияние исследуемых селеноорганических соединений можно проследить по суммарным данным биохимических показателей крови мышей. В результате биохимических исследований сыворотки крови экспериментальных мышей установлено достоверное повышение индикаторных ферментов печени – аспарагиновой и аланиновой аминотрансфераз у мышей третьей опытной группы (рис. 1). Данный факт указывает, что введение хлорида кобальта в дозе 200 мг/кг приводит к повреждению клеточных мембран гепатоцитов. В результате ферменты выходят в межклеточное пространство, откуда они поступают в кровь, где активность их резко возрастает.

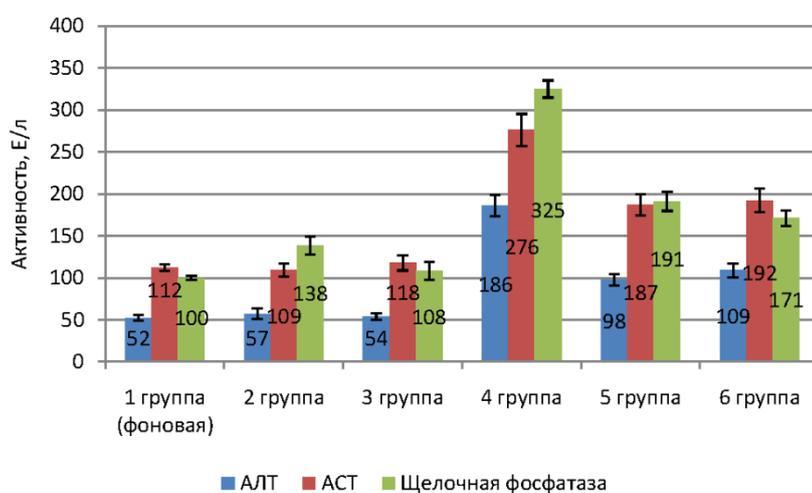


Рис. 1. Активность ферментов в сыворотке крови мышей: АЛТ – аланиновая; АСТ – аспарагиновая аминотрансферазы

Вместе с этим в пятой и шестой группах животных, которым предварительно вводили селеноорганические соединения, также отмечается достоверное повышение активности аминотрансфераз в сыворотке крови. Однако активность данных ферментов достоверно ниже, чем у мышей третьей опытной группы. Это объясняется тем, что селен, входящий в состав препаратов, обладает ярковыраженными антиоксидантными свойствами, что препятствует повреждающему действию ксенобиотика на мембраны гепатоцитов.

Наряду с этим введение хлорида кобальта в дозе 200 мг/кг приводит к повышению активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных четвертой, пятой и шестой групп. Однако активность данного фермента в группе с первым исследуемым селеноорганическим препаратом на 41 %, в группе со вторым препаратом на 47 % ниже, чем у мышей четвертой опытной группы.

Полученные данные свидетельствуют, что после однократного введения данных селеноорганических соединений при отравлении хлоридом ко-

бальта фермент (щелочная фосфатаза (ЩФ)), который является катализатором биохимических процессов в клетках печени, при разрушении этих клеток попадает в кровь, увеличивая показатель ЩФ в крови в сравнении с контрольными данными в среднем на 45 %. В норме часть клеток обновляется, поэтому в крови обнаруживается определенная активность щелочной фосфатазы, что свидетельствует о гибели множества клеток как проявление отравления хлоридом кобальта.

Анализ показателей белкового метаболизма (мочевины и креатинина) в сыворотке крови мышей (рис. 2, 3) показывает, что однократное введение селенорганических препаратов не приводит к изменению данных показателей, которые находятся в пределах физиологической нормы (130–140 мкмоль/л) у мышей второй и третьей опытных групп. Вместе с этим введение кобальта хлорида в дозе 200 мг/кг приводит к достоверному снижению мочевины и креатинина в сыворотке крови животных, что говорит о нарушении метаболических процессов, сопровождающихся глубокими расстройствами белкового обмена в организме. Так, в четвертой группе мышей, которым вводили хлорид кобальта без предварительной премедикации концентрация креатинина и мочевины была ниже фоновых показателей на 62 и 73 % соответственно ($54 \pm 10,19$ мкмоль/л и $2,02 \pm 0,2$ ммоль/л).

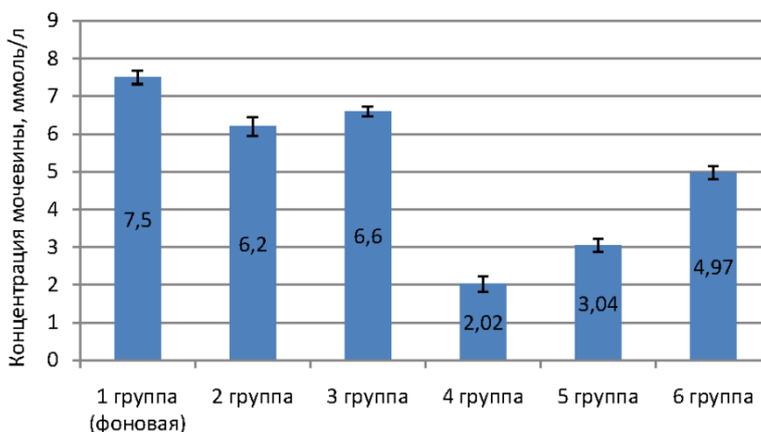


Рис. 2. Концентрация мочевины в сыворотке крови мышей

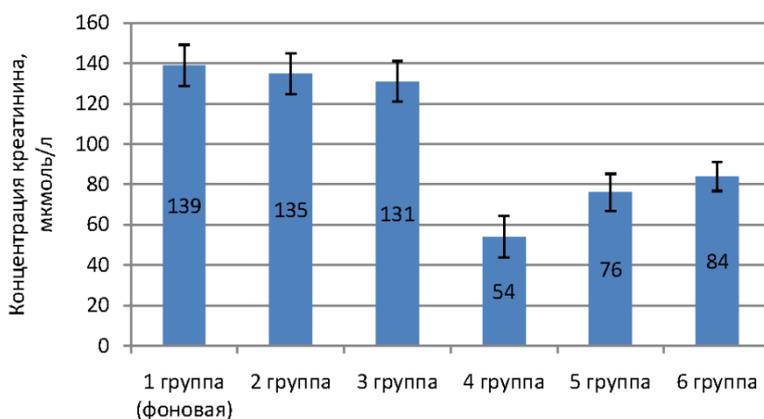


Рис. 3. Концентрация креатинина в сыворотке крови мышей

Снижение мочевины на фоне повышения трансаминаз и щелочной фосфатазы свидетельствует о глубоких нарушениях функциональной активности гепатобилиарной системы, вызванной токсическим воздействием хлорида кобальта. Известно, что печень обладает большими функциональными резервами, способность ее к дезаминированию и синтезу мочевины сохраняется при исключении из процессов обмена до 85 % ее ткани.

У мышей пятой и шестой групп, которым перед введением ксенобиотика (CoCl_2) вводили селеноорганические соединения, также наблюдается снижение концентрации креатинина и мочевины в сыворотке крови на 41 и 55 % – для креатинина и на 50 и 20 % – для мочевины (см. рис. 3). В то же время данные показатели достоверно выше, чем у мышей четвертой опытной группы. Данный факт свидетельствует, что селен препятствует повреждению мембран гепатоцитов ксенобиотиком.

Значительное повышение концентрации общего белка в крови мышей (рис. 4), которым вводили CoCl_2 без предварительной премедикации, по сравнению с фоновыми животными, обусловлено не только образованием патологических белков, но и обезвоживанием организма. Вместе с этим у животных пятой и шестой групп концентрация сывороточного белка достоверно ниже и составляет 91,243 и 127,667 г/л соответственно.

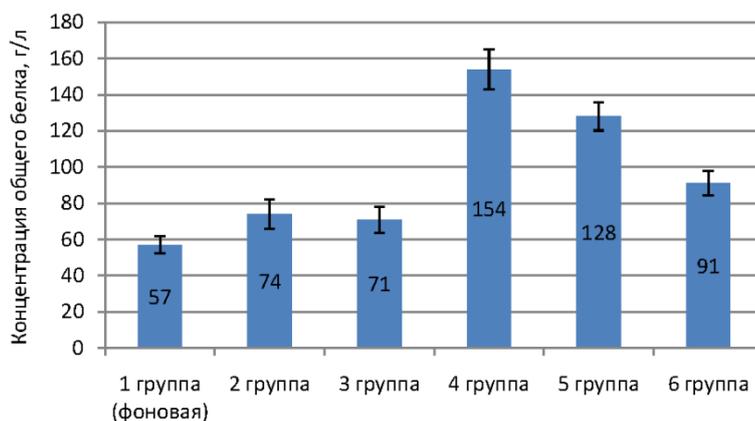


Рис. 4. Концентрация общего белка в сыворотке крови мышей

В ходе определения концентрации глюкозы в сыворотке крови животных опытных и контрольной групп (рис. 5) установлено достоверное увеличение данного показателя. Так, в четвертой группе мышей показатель глюкозы составил $9,9 \pm 0,2$ ммоль/л, что в 2 раза выше фоновых значений. Данный факт указывает на нарушение производной активности процесса **гликогенолиза у мышей** (биохимического процесса расщепления гликогена до глюкозы, осуществляющегося главным образом в мышцах и печени). В итоге уровень сахара в крови резко возрастает, что обеспечивает приток энергии, необходимый для борьбы с отравлением токсическими дозами кобальта хлорида.

Вместе с этим у животных пятой опытной группы, которым с профилактической целью вводили селеноорганическое соединение 2,4-дифенилтетрагидро-селенохромена в концентрации 3,8 мг/кг, концентрация сывороточной глюкозы была также достоверно выше физиологических значений

($8,6 \pm 0,1$ ммоль/л), но на 12 % ниже, чем у мышей четвертой опытной группы. Аналогичная динамика наблюдалась и у животных шестой опытной группы, которым до введения ксенобиотика применяли 2-фенил-4-(п-бром-фенил)-тетрагидроселенохромена в дозе 3,2 мг/кг. В данной группе животных концентрация сывороточной глюкозы составила $6,7 \pm 0,2$ ммоль/л. Это выше фоновых значений, но достоверно ниже, чем у животных четвертой и пятой опытных групп.

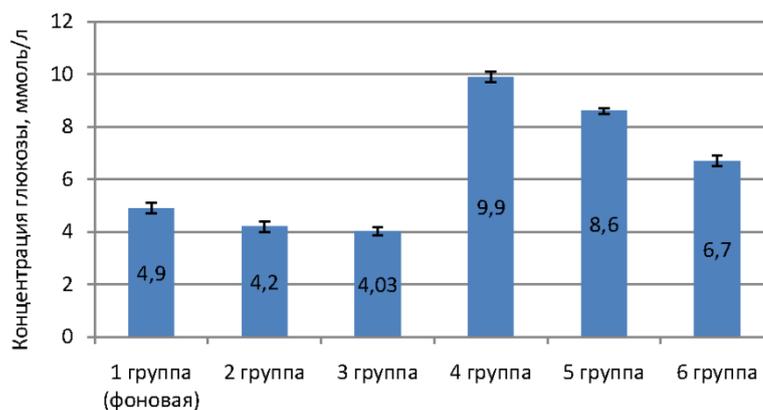


Рис. 5. Концентрация глюкозы в сыворотке крови мышей

Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований нами установлено, что введение селеноорганических соединений (2,4-дифенил-тетрагидро-селенохромена и 2-фенил-4-(п-бром-фенил)-тетрагидроселенохромена) препятствует развитию патологического процесса у мышей линии BALb/c, вызванного воздействием завышенных доз ксенобиотика, кобальта хлорида.

При рассмотрении влияния двух селеноорганических соединений (2,4-дифенил-тетрагидро-селенохромена и 2-фенил-4-(п-бром-фенил)-тетрагидроселенохромена) на метаболические показатели крови у мышей было выяснено, что лучшие показатели по снижению интоксикации соли данного металла показывает 2-фенил-4-(п-бром-фенил)-тетрагидроселенохромена. Предположительно из-за строения молекулы с введением Вг в пароположение, при котором электронная плотность смещается к Вг, как следствие, Se становится более реакционно-активным.

Наряду с этим достоверно установлено, что оральное введение селеноорганических соединений (2,4-дифенил-тетрагидро-селенохромена и 2-фенил-4-(п-бром-фенил)-тетрагидроселенохромена) в дозах 3,8 и 3,2 мг/кг клинически здоровым животным не оказывает негативного влияния на жизнедеятельность организма мышей.

Библиографический список

1. **Direnko, D.** The synthesis of first representatives of novel heterocyclic compounds selenodekalines: 2-aryl-4phenyl-octahydroselenochromene / D. Direnko, Ya. Drevko, B. Drevko // Heterocyclic Communications. – 2016. – Т. 22, № 4. – P. 227–228. – DOI 10/1515/hc-2016-0076.

2. **Direnko, D.** The Synthesis of New Organoselenium Heterocyclic Compounds: 2-aryl-4-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-4H-selenochromenes / D. Direnko, Ya. Drevko, B. Drevko // *Journal of the Chemical Society*. – 2015. – Vol. 62, iss. 12. – P. 1068–1071. – DOI 10.1002/jccs. 201500406.
3. **Усков, К. Ю.** Влияние производных селена на метаболизм лабораторных мышей линии BALB/c / К. Ю. Усков, Л. А. Мягкова, Л. Г. Ловцова // Научное сообщество студентов XXI столетия. Естественные науки : электрон. сб. ст. по материалам L студ. междунар. науч.-практ. конф. (г. Новосибирск, 9–19 марта 2017 г.). – Новосибирск : Ассоциация научных сотрудников «Сибирская академическая книга», 2017. – Т. 3 (49). – С. 7–13.

References

1. Direnko D., Drevko Ya., Drevko B. *Heterocyclic Communications*. 2016, vol. 22, no. 4, pp. 227–228. DOI 10/1515/hc-2016-0076.
2. Direnko D., Drevko Ya., Drevko B. *Journal of the Chemical Society*. 2015, vol. 62, iss. 12, pp. 1068–1071. DOI 10.1002/jccs. 201500406.
3. Uskov K. Yu., Myagkova L. A., Lovtsova L. G. *Nauchnoe soobshchestvo studentov XXI stoletiya. Estestvennye nauki: elektron. sb. st. po materialam L stud. mezhdunar. nauch.-prakt. konf. (g. Novosibirsk, 9–19 marta 2017 g.)* [The Scientific Society of Students of the XXI century. Natural sciences: online proceedings of L Student international scientific and practical conference (Novosibirsk, 9th–19th March 2017)]. Novosibirsk: Assotsiatsiya nauchnykh sotrudnikov «Sibirskaya akademicheskaya kniga», 2017, vol. 3 (49), pp. 7–13.

Ловцова Лариса Геннадиевна

кандидат технических наук, доцент,
кафедра микробиологии, биотехнологии
и химии, Саратовский государственный
аграрный университет
имени Н. И. Вавилова (Россия,
г. Саратов, Театральная площадь, 1)

E-mail: Larisalovtsova2009@rambl

Lovtsova Larisa Gennadijevna

Candidate of engineering sciences, associate
professor, sub-department of microbiology,
biotechnology and chemistry, Saratov State
Vavilov Agrarian University (1 Teatralnaya
square, Saratov, Russia)

Гулий Ольга Ивановна

доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры микробиологии,
биотехнологии и химии, Саратовский
государственный аграрный университет
имени Н. И. Вавилова (Россия,
г. Саратов, Театральная площадь, 1)

E-mail: guliy_olga@mail.ru

Guliy Ol'ga Ivanovna

Doctor of biological sciences, associate
professor, professor at the sub-department
of microbiology, biotechnology and
chemistry, Saratov State Vavilov Agrarian
University (1 Teatralnaya square, Saratov,
Russia)

Древко Ярослав Борисович

кандидат химических наук, доцент,
кафедра микробиологии, биотехнологии
и химии, Саратовский государственный
аграрный университет
имени Н. И. Вавилова (Россия,
г. Саратов, Театральная площадь, 1)

E-mail: drevko@list.ru

Drevko Yaroslav Borisovich

Candidate of chemical science, associate
professor, sub-department of microbiology,
biotechnology and chemistry, Saratov State
Vavilov Agrarian University (1 Teatralnaya
square, Saratov, Russia)

Козлов Сергей Васильевич

кандидат ветеринарных наук, доцент,
кафедра болезней животных
и ветеринарно-санитарной экспертизы,
Саратовский государственный аграрный
университет имени Н. И. Вавилова
(Россия, г. Саратов, Театральная
площадь, 1)

E-mail: kozlovsv12@yandex.ru

Kozlov Sergey Vasil'evich

Candidate of veterinary sciences, associate
professor, sub-department of animal
diseases and veterinary-sanitary expertise,
Saratov State Vavilov Agrarian University
(1 Teatralnaya square, Saratov, Russia)

Смутнев Петр Владимирович

кандидат ветеринарных наук, доцент,
кафедра микробиологии, биотехнологии
и химии, Саратовский государственный
аграрный университет
имени Н. И. Вавилова (Россия,
г. Саратов, Театральная площадь, 1)

E-mail: smutnev-asd@yandex.ru

Smutnev Petr Vladimirovich

Candidate of veterinary sciences, associate
professor, sub-department of microbiology,
biotechnology and chemistry, Saratov State
Vavilov Agrarian University (1 Teatralnaya
square, Saratov, Russia)

УДК 57.017

Влияние селеноорганических соединений на клинические и метаболические проявления у мышей линии BALb/c при отравлении кобальтом / Л. Г. Ловцова, О. И. Гулий, Я. Б. Древко, С. В. Козлов, П. В. Смутнев // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2018. – № 1 (21). – С. 74–82. – DOI 10.21685/2307-9150-2018-1-8.