

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ВИГИСОКС

А.И. ВАРЛАМОВА

аспирант

Н.В. ДАНИЛЕВСКАЯ

доктор ветеринарных наук

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина

Изучены токсикологические свойства нового комплексного антигельминтика вигисокса. Препарат относится к малоопасным веществам. При введении в желудок ЛД₅₀ составляет для белых крыс свыше 6000 мг/кг и белых мышей –10000 мг/кг. Вигисокс не проявляет местно-раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки и при введении в трехкратно увеличенной дозе не влияет на общее состояние, поведение животных, прием корма и воды, динамику прироста массы тела и гематологические показатели.

Ключевые слова: вигисокс, острая и субхроническая токсичность, раздражающее действие.

Для расширения ассортимента отечественных противопаразитарных средств на базе ВНИИ гельминтологии им. К.И. Скрябина разработан новый комплексный препарат вигисокс, содержащий в качестве ДВ фенасал и фенбендазол.

Препарат представляет собой светло-желтый порошок со слабым специфическим запахом. Препарат применяют перорально.

Одна из основных задач, возникающих при изучении токсического действия препарата, – выявление побочных нежелательных эффектов и исключение отдаленного действия на организм животных [1, 3, 6].

Доклиническое изучение токсикологических свойств лекарственных средств для животных включает определение токсических доз и переносимости препарата лабораторными животными; выявление наиболее чувствительных к препарату органов и систем организма, характера и степени патологических изменений в них и обратимости вызываемых повреждений; определение зависимости токсических эффектов от дозы и длительности применения фармакологического средства.

Учитывая требования, предъявляемые к безопасности антигельминтных средств для животных [6], одним из этапов наших исследований было изучение в опытах на лабораторных животных токсикологических свойств вигисокса, предназначенного для лечения и профилактики цестодозов и нематодозов крупного и мелкого рогатого скота.

Материалы и методы

Препарат вводили лабораторным животным в виде суспензии на крахмальном геле. В опытах использовали 40 белых мышей, 68 крыс и 3 кроликов. Исследования проводили в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [4].

Для определения параметров острой токсичности препарата использовали белых мышей обоего пола массой 19–21 г и белых крыс массой 180–220 г. Животных содержали в виварии согласно санитарным правилам и на стандартном рационе с использованием сухого брикетированного корма. Подготовку к опыту белых мышей проводили в соответствии с указаниями ОФС «Испытание на токсичность» ГФ XI.

Перед опытом животных в течение 6 ч выдерживали на голодной диете, после чего взвешивали и распределяли по группам. Устанавливали переносимые и токсические дозы, выявляли наиболее чувствительные к вигисоксу органы и системы организма, характер и степень патологических изменений в них, обратимость вызываемых поражений.

Для установления параметров острой токсичности препарат вводили однократно (в максимальной дозе дробно с интервалом 1 ч) в желудок с помощью шприца с оливой в дозах: белым крысам – 3000 и 6000 мг/кг, мышам – 8000 и 10000 мг/кг.

Каждую дозу препарата испытывали на 6 крысах и 10 мышах, контрольным мышам вводили воду в том же объеме. Наблюдения проводили в течение 1 мес, в первые сутки – непрерывно. Фиксировали общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, координацию движений, тонус скелетных мышц, реакцию на тактильные, звуковые и световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, ритм сердечных сокращений, состояние кожно-волосного покрова, окраску слизистых оболочек, положение хвоста, количество и консистенцию фекальных масс, частоту мочеиспускания, окраску мочи, потребление корма и воды.

Для расчета средней смертельной дозы использовали метод пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксоу [1].

Исследование субхронической токсичности препарата проводили на белых крысах исходной массой 130–140 г, из которых сформировали 4 группы по 10 животных в каждой. Препарат вводили мышам ежедневно в течение 7 сут в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД₅₀, установленной в остром опыте. Животным контрольной группы ежедневно вводили 1%-ный крахмальный клейстер в объеме 3 мл. В процессе опыта ежедневно регистрировали массу крыс, выявляли наиболее чувствительные к препарату органы и системы организма, характер, степень и обратимость патологических изменений. На 8-е сутки животных декапитировали и отбирали пробы крови (с и без антикоагулянта) для последующих гематологических и биохимических исследований. Извлекали печень, почки, сердце, легкие, селезенку и проводили взвешивание.

Влияние суспензии на организм животных оценивали по количеству эритроцитов и лейкоцитов, которое определяли с помощью камеры Горяева, уровень гемоглобина – фотометрическим методом.

Биохимические исследования проводили на анализаторе «Spekol 220/221» (Германия). В сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ), мочевины и креатинина.

Изучение острой кожной токсичности вигисокса проводили на белых крысах-самцах массой тела 180–220 г. За 1–2 сут до эксперимента кожу животных освобождали от шерстного покрова. Препарат в виде водной суспензии на крахмальном геле наносили на поверхность кожи размером 5×5 см однократно в дозах 3000 и 6000 мг/кг. В течение 14 сут вели наблюдение за состоянием и поведением животных в отношении проявления симптомов интоксикации; оценивали физиологические функции, реакцию на раздражители и т. п.

Раздражающее действие вигисокса на кожу оценивали при нанесении препарата в дозах 3000 и 6000 мг/кг при оценке острого токсического действия. Исследовали состояние кожи, обращая особое внимание на покраснение кожи, наличие трещин, изъязвлений, кровоизлияний, появление сухой

корки и т. д. Состояние кожи оценивали с учетом развития возможной эритемы и интенсивности отека кожи (по измерению толщины кожной складки в мм) [4].

Исследование действия вигисокса на слизистую оболочку глаза проводили на 3 взрослых кроликах, которым в левый глаз вносили 1%-ную суспензию вигисокса, а правый глаз служил контролем. 1–2 капли вигисокса вносили в конъюнктивальный мешок однократно с помощью пипетки.

Состояние глаз контролировали через 15 мин; 1; 24; 48 и 72 ч после введения 1%-ного раствора вигисокса. Обследование проводили визуально.

Данные по всем видам исследований обрабатывали статистически по методу Фишера–Стьюдента с использованием t-критерия [5].

Результаты и обсуждение

Введение вигисокса в максимальных дозах 6000 и 10000 мг/кг не привело к изменению общего состояния крыс и мышей. Они сохраняли обычную двигательную активность, охотно потребляли корм и воду, признаков интоксикации не отмечали. В связи с этим ЛД₅₀ приняли равной свыше 6000 мг/кг при введении в желудок крысам и 10000 мг/кг – белым мышам.

При установлении параметров острой токсичности при введении в желудок на двух видах животных было установлено, что вигисокс относится к 4 классу опасности (ГОСТ 12.1.007-76).

При аппликации вигисокса на кожу в дозах 3000 и 6000 мг/кг у животных наблюдали адекватную реакцию на нанесение чужеродного вещества, однако каких-либо симптомов интоксикации, изменений состояния и поведения крыс не отмечали в течение всего периода наблюдений [7].

Гибель крыс при применении препарата в указанных дозах не наблюдали. Вместе с тем, доза 6000 мг/кг была максимальной возможной для аппликации на кожу.

Критерии и результаты оценки препарата приведены в таблице 1.

1. Результаты изучения раздражающего действия вигисокса на кожу и слизистые оболочки

Признаки раздражающего действия на кожу	Наличие или отсутствие (+/-)
Эритема	–
Увеличение кожной складки	–
Трещины, изъязвления и т. п.	–
Температура кожи	В норме

Как следует из приведенных в таблице 1 данных, препарат с использованием вышеуказанных критериев не оказывал отрицательного воздействия на неповрежденную кожу крыс. Примерно через 10 сут после нанесения препарата кожа покрылась ровным шерстным покровом.

Кроме того, оценивали влияние препарата на конъюнктиву глаза при внесении 1%-ной суспензии препарата кроликам. За исключением адекватной реакции у животных на внесение инородного тела, никаких других признаков не наблюдали, включая таковые, свидетельствующие о раздражающем действии препарата (покраснение, слезотечение, отечность, инъекция склеры и т. п.).

Таким образом, вигисокс не проявил раздражающего действия на неповрежденную кожу крыс и слизистую оболочку глаз кроликов.

При ежедневном введении вигисокса в трех тестированных дозах (1200, 600 и 300 мг/кг) внешних признаков токсикоза и гибели крыс не наблюдали в течение всего опытного периода. Шерстный покров был чистым и блестящим. Животные охотно потребляли корм и воду; отсутствовало возбуждение или угнетение, мышечные подергивания, тремор, парезы, выделения из носа, глаз, ротовой полости или иные признаки интоксикации.

В таблице 2 приведены данные по динамике прироста массы тела у опытных и контрольных крыс.

2. Динамика прироста массы тела у крыс при пероральном введении вигисокса в течение 7 сут (n = 6, P ≥ 0,05)

Препарат	Масса тела (г) крыс при введении препарата в дозах, мг/кг			Контроль
	1200	600	300	
Исходные данные	168,2±5,2	153,6±5,8	168,2±5,6	
На 4-е сутки	179,0±7,6	172,2±6,5	178,8±6,2	
Через 7 сут	201,6±4,9	184,1±6,4	192,2±7,7	

В ходе патоморфологического исследования макроскопических изменений органов и тканей выявлено не было.

В подопытной и контрольной группах белые крысы имели блестящую прилегающую шерсть; упитанность была хорошей; слизистые оболочки влажные, блестящие; неповрежденные кожные покровы и костный скелет. Расположение внутренних органов правильное. Серозные оболочки гладкие, влажные, серые. Полости сердца, вены и венозные синусы наполнены темной жидкой кровью. Границы серого и белого вещества головного и спинного мозга четкие. Ткань мозга блестит на разрезах, очаговые изменения в ней отсутствуют. Желудочки мозга щелевидные, с серыми, дряблыми, сосудистыми венозными сплетениями и небольшим количеством прозрачной жидкости. Гипофиз округлый, бледно-серый. Щитовидная железа с симметричным расположением долей, дряблая, красного цвета. Слюнные железы инкапсулированы, плотные, серые, дольчатые. Вилочковая железа серого цвета с экхимозами под капсулой. Селезенка с гладкой капсулой, плотная; пульпа без соскоба. Печень плотная, с гладкой капсулой, кровенаполненная, красно-коричневая. Поджелудочная железа в капсуле, плотная, серая. Надпочечники овальной формы, плотные, с четким делением паренхимы на мозговой и корковый слои. Почки плотные, с гладкой поверхностью, легко снимающейся капсулой, четкой границей красной коры и бледно-серого мозгового слоя, гладкой слизистой оболочкой лоханок и мочевого пузыря. В трахее и главных бронхах следы слизи, слизистая оболочка их гладкая, блестящая. Легкие воздушные, покрыты тонкой плеврой серого цвета, кровенаполнение передних долей неравномерное. Сердце плотное, с полупрозрачными гладкими створками клапанов и гладким эндокардом, серо-красным, сочным, без очаговых изменений миокардом, умеренным количеством экхимозов под эпикардом, обычным рисунком расположения коронарных артерий и вен. Интима ствола легочной артерии и аорты гладкая, блестящая. Пищевод проходим, слизистая оболочка его гладкая, белесоватая. Желудок формы рога с тонкими стенками, рельефными, серыми складками слизистой оболочки, без каких-либо очаговых изменений. Кишечник содержит окрашенный желчью химус и кашицеобразные, коричневые каловые массы. Стенки его тонкие, слизистая оболочка тонкого кишечника бархатистая, розовая, толстого кишечника – серая, складчатая, очаговых изменений не обнаружено. Желчные пути проходимы, стенки желчного пузыря тонкие, в просвете темно-оливковая желчь, слизистая оболочка его гладкая.

По данным макроскопического исследования токсико-аллергического действия препарата на животных не выявлено. В связи с этим было принято решение не проводить микроскопические исследования.

В таблице 3 приведены значения массовых коэффициентов органов крыс, получавших вигисокс в дозах 1200, 600 и 300 мг/кг/сутки.

Как следует из данных таблицы 3, массовые коэффициенты органов у животных подопытных групп колебались в пределах контрольных значений и физиологической нормы для данного вида животных. В частности, значение

относительной массы печени у крыс, получавших вигисокс в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД₅₀, составило 12,57±0,45 г; 12,68±0,35 и 12,64±0,33 г против контрольного значения 12,83±0,26 г; почек – 1,94±0,03 г; 2,01±0,07 и 1,84±0,03 г против 2,03±0,05 г в контроле и сердца – 1,17±0,083 г; 1,09±0,068 и 1,19±0,062 г против 1,25±0,044 г в контроле.

3. Влияние вигисокса на массовые коэффициенты органов при введении в дозах 1200, 600 и 300 мг/кг/сутки в течение 7 сут (n = 6, P ≥ 0,05)

Орган	Контроль	Масса (г) органа крыс при введении препарата в дозах, мг/кг		
		1200	600	300
Головной мозг	1,96±0,071	2,01±0,043	1,96±0,070	2,02±0,041
Сердце	1,25±0,044	1,17±0,083	1,09±0,068	1,19±0,062
Печень	12,83±0,26	12,57±0,45	12,68±0,35	12,64±0,33
Легкие	2,21±0,21	2,04±0,15	2,23±0,17	2,07±0,8
Почки	2,03±0,05	1,94±0,03	2,01±0,07	1,84±0,03
Селезенка	1,14±0,14	0,81±0,3	1,10±0,15	1,24±0,7
Семенники	2,67±0,5	2,58±0,3	2,83±0,9	2,61±0,6

В таблице 4 приведены результаты определения наиболее информативных гематологических показателей у крыс, получавших вигисокс в трех дозах, и у контрольных животных. Препарат в дозах 1200, 600 и 300 мг/кг/сутки не оказал достоверного влияния на гематологические показатели. В частности, уровень гемоглобина у крыс, получавших вигисокс в дозах 1200, 600 и 300 мг/кг/сутки, достигал 10,62±1,74 г%, 9,71±2,21 и 11,70±0,97 г% против контрольного значения 9,77±1,92 г%; количество эритроцитов составляло 4,59±0,95 млн/мм³, 5,83±0,52 и 5,34±0,43 млн/мм³ против 5,63±0,88 млн/мм³; число лейкоцитов равнялось 6,80±1,82 тыс./мм³, 7,73±1,44 и 6,91±2,00 тыс./мм³ против 8,11±2,46 тыс./мм³.

4. Влияние вигисокса в дозах 1200, 600 и 300 мг/кг/сутки в течение 7 сут на гематологические показатели крыс (n = 6, P ≥ 0,05)

Показатель	Значение показателя при введении препарата в дозах, мг/кг/сутки			Контроль
	1200	600	300	
Гемоглобин, г%	10,62±1,74	9,71±2,21	11,70±0,97	9,77±1,92
Эритроциты, 10 ⁶ /мм ³	4,59±0,95	5,83±0,52	5,34±0,43	5,63±0,88
Тромбоциты, 10 ³ /мм ³	262,35±23,21	289,25±20,19	256,71±26,17	277,55±27,41
Лейкоциты, 10 ³ /мм ³	6,80±1,82	7,73±1,44	6,91±2,00	8,11±2,46
Средний объем эритроцитов, мкм ³	62,00±1,08	61,50±0,64	61,25±0,73	60,50±0,50
Гематокрит, %	32,60±4,95	30,17±2,55	35,47±3,15	38,45±4,46
Среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, ПК	23,25±2,07	20,72±0,38	21,34±1,11	22,20±1,95
<i>Морфология крови</i>				
Лимфоциты, %	69,25±0,94	69,00±3,11	68,00±2,74	71,00±2,86
Эозинофилы, %	3,25±0,47	3,25±0,85	3,00±0,24	2,75±0,47
Моноциты, %	2,25±0,47	4,00±0,70	2,75±0,65	3,00±0,91
Сегментоядерные, %	25,25±0,47	23,75±3,42	26,25±3,01	23,25±3,06

Важно отметить, что введение вигисокса не привело к изменению лейкограммы.

В таблице 5 приведены биохимические показатели сыворотки крови крыс, которым вводили вигисокс в дозах 1200, 600 и 300 мг/кг/сутки, и у контрольных животных.

5. Влияние вигисокса в дозах 1200, 600 и 300 мг/кг/сутки при введении в течение 2 мес на биохимические показатели крыс (n = 6, P ≥ 0,05)

Показатель	Значение показателя при введении препарата в дозах, мг/кг/сутки			Контроль
	1200	600	300	
Общий белок, г/л	69,10±4,24	67,40±4,11	67,85±4,37	67,80±0,36
Альбумин, г/л	42,00±3,19	30,25±4,28	37,15±3,24	30,00±5,91
Креатинин, мкмоль/л	41,35±4,25	41,42±3,59	39,95±3,74	39,82±3,95
Мочевина, ммоль/л	12,20±1,68	11,27±1,17	10,15±1,04	10,52±1,23
АЛТ, Е/л	59,75±2,34	69,25±3,59	60,75±2,92	64,25±9,87
АСТ, Е/л	142,75±2,68	178,50±39,28	156,81±33,4	183,1±36,65
Щелочная фосфатаза, Е/л	61,25±1,93	69,25±9,80	63,15±8,34	52,75±1,65
Амилаза, Е/л	476,15±17,35	514,70±51,55	534,18±35,44	483,00±29,08
Глюкоза, ммоль/л	3,20±0,56	3,42±0,35	3,35±0,55	3,50±0,28

В целом, протестировано 10 биохимических показателей, отражающих состояние белкового, жирового и углеводного обмена.

Функциональное состояние почек не претерпело отрицательных изменений при введении вигисокса в трех различных дозах, поскольку уровень креатинина и мочевины был сравним с контрольными значениями.

Суммируя в целом данные можно констатировать, что вигисокс в трех тестируемых дозах 1200, 600 и 300 мг/кг/сутки не изменял общего состояния и поведения животных, прием корма и воды, динамику прироста массы тела и гематологические показатели.

На основании вышеизложенного, можно сделать вывод, что вводимые дозы (1200, 600 и 300 мг/кг) безопасны для организма крыс при многократном повторном введении.

Литература

1. *Беленький М.Д.* Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Медгиз, 1963. – 151 с.
2. *Веселова Т.П.* К вопросу сравнительной токсичности антгельминтиков // Матер. докл. науч. конф. Всес. о-ва гельминтол. – М., 1964. – Ч. 1. – С. 58–61.
3. *Жуленко В.Н., Рабинович М.И., Таланов Г.А.* Ветеринарная токсикология. – М.: Колос, 2001. – 384 с.
4. Методические указания к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны. – М., 1980. – 18 с.
5. *Плохинский Н.А.* Руководство по биометрии для зоотехников. – М., 1969.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000.
7. *Суворов С.В., Чернышова В.И.* К вопросу о количественной оценке гиперемии, как показателя интенсивности и воспаления // Вестник дерматологии и венерологии. – 1974. – № 6. – С. 22–24.

Toxicological properties of new complex preparation vigisox

A.I. Varlamova, N.V. Danilevskaja

The toxicological properties of vigisox are investigated. Vigisox concerns to **weakly dangerous** substances. At introduction in stomach LD₅₀ makes for white rats over 6000 mg/kg of body weight and white mice –10000 mg/kg. Vigisox does not show irritating action on skin and mucous membranes and at introduction in threefolded increase doze does not influence the general condition, behavior of animals, reception of forage and water, dynamics of weight and hematological parameters.

Keywords: vigisox, acute and subchronic toxicity, irritating action.