

УДК 619:615.015.4

DOI:

Поступила в редакцию 06.07.2015

Принята в печать 24.11.2015

Козлов С. А., Мусаев М. Б. Влияние антигельминтика митранокса на гематологические и биохимические показатели крови крыс в субхроническом опыте. // Российский паразитологический журнал. – М., 2015. – Вып. 4. – С.

ВЛИЯНИЕ АНТИГЕЛЬМИНТИКА МИТРАНОКСА НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС В СУБХРОНИЧЕСКОМ ОПЫТЕ

Козлов С. А., Мусаев М. Б.

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К. И. Скрябина 117218, Москва, ул. Б. Черёмушkinsкая, 28, e-mail: serg1vet@mail.ru, musaev@vniigis.ru

Реферат

Цель исследования – изучение влияния митранокса на гематологические и биохимические показатели крови крыс.

Материалы и методы. Опыт проводили на 40 беспородных белых крысах-самцах, разделенных на 4 группы по 10 крыс в каждой. Крысам первых трех групп вводили суспензию препарата, приготовленную на 1%-ном крахмальном геле, индивидуально перорально в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД₅₀ (830,4 мг/кг) соответственно. Животные четвертой группы препарат не получали и служили контролем. Суспензию препарата задавали животным ежедневно в течение 7 сут. Убой животных проводили методом резекции яремных вен с последующей резекцией шейных позвонков. Кровь животных и внутренние органы исследовали в соответствии с общепринятыми методиками.

Результаты и обсуждение. Митранокс в дозах 1/5 и 1/10 от ЛД₅₀ при даче в течение 7 сут вызывал у подопытных крыс повышение концентрации общего белка, уровня глюкозы, концентрация мочи в сыворотке крови, как и активность аспартат- и аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы. Все это указывает, что препарат оказывает гепатотоксическое действие на крыс, вызывая угнетение гуморальных факторов неспецифического иммунитета. В дозе 1/5 от ЛД₅₀ оказывает отрицательное воздействие на поджелудочную железу животных, повышая ее ферментативную активность.

Ключевые слова: антигельминтик, митранокс, субхроническая токсичность, гематологические и биохимические показатели крови.

Введение

Митранокс – новый отечественный препарат широкого спектра антигельминтного действия. Относится к группе ацетиллированных салициланнилидов [11]. Препарат представляет собой белый с кремовым оттенком порошок, без вкуса, в воде не растворим, молекулярная масса 377,06; предназначен для перорального применения; обладает цестодоцидным и нематодоцидным действиями [3]. Митранокс разработан совместно с СПХФА и ИМПИТМ им. Е. И. Марциновского и предоставлен для испытаний на животных проф. Ф. С. Михайлицыным.

По данным доклинических исследований митранокс в соответствии с ГОСТ 12.10007-76 относится к 3 классу умеренно опасных веществ по степени воздействия на организм при введении в желудок белым мышам и крысам [2]; по принятой

классификации химических веществ обладает умеренным кумулятивным свойством ($K_{\text{кум.}} = 3,2$) [4].

По результатам изучения острой накожной токсичности он относится к классу малоопасных веществ, не оказывает отрицательного воздействия на неповреждённую кожу и не оказывает существенного раздражающего действия на конъюнктиву глаз [5, 6].

Учитывая относительную дешевизну синтеза митранокса, его слабую токсичность и широкую антигельминтную активность, целью работы было изучение влияния митранокса на гематологические и биохимические показатели крови крыс.

Материалы и методы

Изучение субхронической токсичности митранокса проводили в виварии Всероссийского научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина (ВНИИП) в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [10], «Методическими указаниями по гигиенической оценке новых пестицидов» [7] и правилам лабораторной практики в Российской Федерации [1, 9].

В опыте было использовано 40 беспородных белых крыс-самцов. Животных распределили на 4 группы по 10 крыс в каждой по принципу аналогов. Перед началом опыта животных содержали на двухчасовой голодной диете.

Крысам первых трех подопытных групп суспензию препарата, приготовленную на 1%-ном крахмальном геле, задавали в течение 7 сут ежедневно индивидуально перорально с помощью специального внутрижелудочного зонда в дозах 166,08; 83,04 и 41,04 мг/кг (или 1/5, 1/10 и 1/20 от LD_{50} , равной 830,4 мг/кг) соответственно. Животные четвертой группы препарат не получали и служили контролем.

На протяжении всего эксперимента за животными вели наблюдение. Обращали внимание на акт приема корма и воды, общее состояние животных, наличие признаков интоксикации. Взвешивание животных и регистрацию их массы проводили на 1, 3, 5 и 7-е сутки. Учитывали также их начальную массу.

На 8-е сутки опыта животных убивали декапитацией. У каждого животного брали кровь для биохимического и гематологического анализа.

После убоя крыс проводили лапаротомию с последующей экстирпацией и взвешиванием внутренних органов (сердце, легкие, печень, почки, селезенка, мозг, семенники, тимус, поджелудочная железа, надпочечники). При этом обращали внимание на наличие макроскопических изменений (цвет, форма, консистенция органов, наличие кровоизлияний).

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с помощью простого сравнения средних значений по двустороннему t-критерию Стьюдента. Различия определяли при 0,05 уровне значимости. Расчет выполняли на компьютере с использованием приложения Microsoft Excel 2010 и пакета статистического анализа данных Statistica 8.0 for Windows.

Результаты и обсуждение

На протяжении всего эксперимента животные, получавшие препарат, охотно принимали корм и воду и визуально не отличались от животных контрольной группы. Признаков интоксикации (взъерошенность шерстного покрова, гипо- и адинамия, угнетение, диарея и т. д.) не отмечали.

Крысы всех групп динамично набирали массу. Средний прирост массы животных трех опытных групп полностью соответствовал приросту массы животных контрольной группы: соответственно $134,3 \pm 1,7$; $134,3 \pm 1,90$; $136,7 \pm 1,35$ и $139,4 \pm 1,71$. Средний прирост массы тела измеряли в процентах к исходной массе тела.

При макроскопическом исследовании внутренних органов опытных животных отклонений от нормы не выявлено. Внешний вид, форма и консистенция органов, масса

органов и их массовые коэффициенты у опытных животных полностью соответствовали контролю (табл. 1).

Показатели крови крыс, которым задавали митранокс в дозах 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД₅₀, не отличались от таковых у животных контрольной группы (табл. 2).

Не установлено существенного влияния препарата на биохимические показатели сыворотки крови у подопытных крыс, за исключением нескольких показателей (табл. 3). Митранокс в дозе 1/5 и 1/10 от ЛД₅₀ вызывал повышение содержания общего белка в сыворотке крови крыс (соответственно до $87,87 \pm 1,01$ и $89,26 \pm 1,24$ г/л против $77,28 \pm 0,24$ г/л в контроле).

Активность аспартат- и аланинаминотрансферазы у всех животных в испытанных дозах была повышена ($328,61 \pm 16,77$; $310,33 \pm 16,02$; $336,58 \pm 15,05$ и $80,54 \pm 4,75$; $71,38 \pm 2,30$; $74,55 \pm 1,11$), т. е. препарат оказывает гепатотоксическое действие на крыс.

Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных была также повышена ($628,70 \pm 29,76$; $645,20 \pm 48,17$; $618,90 \pm 34,61$) по сравнению со контрольными животными ($548,00 \pm 22,23$), что свидетельствует о нарушении процессов гликогенеза и регенерации из-за негативного воздействия препарата.

Значения массовых коэффициентов органов у крыс при пероральном введении в течение 7 суток митранокса в трех дозах (n = 10)

$$P \leq 0,05 \text{ при } t_{\text{критическом}} = 2,10$$

Таблица 2

Гематологические показатели крыс при пероральном введении в течение 7 суток
митранокса в трех дозах (n = 10)

Показатель	Значение показателя при введении митранокса в дозах, t-критерий			
	1/5 от ЛД ₅₀	1/5 от ЛД ₅₀	1/5 от ЛД ₅₀	Контроль
Гематокрит, %	57,38±0,45 t = 1,31	59,02±1,55 t = 1,64	59,32±3,10 t = 1,04	55,69±1,14
Гемоглобин, г/л	164,5±2,56 t = 1,92	165,7±5,07 t = 1,29	167,0±5,19 t = 1,49	158,5±1,51
Эритроциты, 10 ¹² /л	9,49±0,13 t = 2,00	9,67±0,29 t = 1,74	9,19±0,44 t = 0,21	9,1±0,12
Сред. содержание гемоглобина в эритроците, пг	17,6±0,14 t = 1,76	17,49±0,19 t = 0,76	17,27±0,10 t = 0,60	17,3±0,07
Сред. концентрация гемоглобина в эритроците, %	28,7±0,39 t = 2,01	29,01±0,51 t = 2,03	28,4±0,22 t = 1,97	27,98±0,18
Средний объем эритроцита, мкм ³	60,41±0,77 t = 2,07	60,58±0,69 t = 2,09	61,18±0,60 t = 1,57	62,3±0,35
Показатель анизоцитоза эритроцитов, %	16,23±0,26 t = 0,66	15,76±0,21 t = 1,92	15,8±0,22 t = 1,78	16,51±0,31
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,75±0,87 t = 1,67	6,2±0,35 t = 0,20	5,45±0,65 t = 0,71	6,04±0,44
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	420,9±42,47 t = 0,10	432,9±17,93 t = 0,18	366,6±21,26 t = 1,54	426,2±29,9
<i>Лейкоцитарная формула</i>				
Сегментоядерные нейтрофилы, %	36,7±3,05 t = 0,06	32,5±4,04 t = 0,70	33,4±4,78 t = 0,49	36,4±3,36
Эозинофилы, %	1,4±0,43 t = 0,34	2,00±0,52 t = 1,21	1,20±0,51 t = 0	1,2±0,36
Базофилы, %	0	0	0	0
Моноциты, %	1,5±0,40 t = 1,41	1,90±0,28 t = 0,76	1,6±0,52 t = 0,99	2,2±0,25
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0,60±0,22 t = 0,00	0,40±0,22 t = 0,55	0,8±0,33 t = 0,45	0,60±0,27
Лимфоциты, %	61,3±3,52 t = 0,31	62,40±4,62 t = 0,44	62,6±4,40 t = 0,49	59,6±3,86

$P \leq 0,05$ при $t_{\text{критическом}} = 2,10$

Таблица 3

Биохимические показатели сыворотки крови у крыс при пероральном введении в течение 7 суток митранокса в трех дозах (n = 10)

Показатель	Значение показателя при введении митранокса в дозах, t-критерий			
	1/5	1/10	1/20	контроль
Билирубин общий, мкмоль/л	3,19±0,16 t = 1,43	2,95±0,24 t = 1,91	2,97±0,26 t = 1,66	3,43±0,03
Билирубин прямой, мкмоль/л	1,62±0,11 t = 0,08	1,42±0,13 t = 1,32	1,35±0,11 t = 2,04	1,61±0,07
АСТ, Е/л	328,61±16,77* t = 2,28	310,33±16,02* t = 1,49	336,58±15,05* t = 2,84	278,93±12,02
АЛТ, Е/л	80,54±4,75* t = 4,07	71,38±2,30* t = 4,13	74,55±1,11* t = 6,41	58,57±1,92
Коэффициент Ритиса	4,15±0,22 t = 1,69	4,38±0,25 t = 1,08	4,58±0,19 t = 0,65	4,83±0,31
Мочевина, ммоль/л	5,57±0,25 t = 2,07	5,32±0,31 t = 1,48	4,65±0,34 t = 0,23	4,52±1,67
Креатинин, мкмоль/л	66,63±2,30 t = 2,06	66,3±2,44 t = 1,93	64,92±1,06 t = 1,96	58,81±2,76
Общий белок, г/л	87,87±1,01* t = 9,59	89,26±1,24* t = 9,01	80,86±1,74 t = 1,93	77,28±0,24
Щелочная фосфатаза, Е/л	628,7±29,76 t = 2,04	645,20±48,17 t = 1,73	618,9±34,61 t = 1,62	548,00±22,23
Альфа-амилаза общая, Е/л	2948,18±57,80* t = 4,68	3198,55±295,56 t = 2,01	3303,00±340,17 t = 2,04	2564,56±51,95
Глюкоза, ммоль/л	6,52±0,29 t = 1,77	6,48±0,24 t = 1,97	6,47±0,18 t = 1,99	5,89±0,16
ЛДГ, Е/л	4158,5±240,93* t = 4,14	3850,1±202,01* t = 3,49	4003,6±325,13* t = 2,75	3012,00±105,54

* Различие статистически достоверно между значениями показателей опытной и контрольной группами ($P \leq 0,05$ при $t_{\text{критическом}} = 2,10$)

Концентрация мочевины в сыворотке у подопытных животных была незначительно увеличена (5,57±0,25; 5,32±0,31; 4,65±0,34 против 4,52±1,67 ммоль/л в контроле), что свидетельствует о почечной недостаточности и нефротоксическом действии на организм крыс.

Уровень глюкозы у подопытных животных был слегка повышен (6,52±0,29; 6,48±0,24; 6,47±0,18 против 5,89±0,16 ммоль/л в контроле), что указывает на нарушение процесса гликолиза, сопровождающееся ростом концентрации глюкозы в сыворотке крови.

Таким образом, митранокс в дозах 1/5 и 1/10 от ЛД₅₀ повышает концентрацию общего белка в сыворотке крови животных, а в дозе 1/5 от ЛД₅₀ пагубно влияет на поджелудочную железу животных, повышая ее ферментативную активность. Уровень глюкозы, концентрация мочевины в сыворотке у подопытных животных была повышенной, как и активность аспартат- и аланинаминотрансферазы, щелочной

фосфатазы. Все это указывает на гепатотоксическое действие препарата на крыс, вызывающее угнетение гуморальных факторов неспецифического иммунитета.

Литература

1. Государственная фармакопея. – Т. XI, Вып. 2. – М., 1968. – С. 182.
2. Козлов С. А., Мусаев М. Б., Михайлицин Ф. С. и др. Изучение острой токсичности митранокса. // Мед. паразитол. и паразит. бол. – 2013. – № 3. – С. 47–48.
3. Козлов С. А., Мусаев М. Б. Антигельминтная эффективность и титрация терапевтических доз отечественного антигельминтика митранокса при мониезидозе и нематодозах овец. // Российский паразитологический журнал. – 2014. – № 2. – С. 87–91.
4. Козлов С. А., Мусаев М. Б., Михайлицин Ф. С. и др. Экспериментальное изучение кумулятивных свойств нового препарата митранокса. // Мед. паразитол. и паразит. бол. – 2013. – № 3. – С. 53–55.
5. Козлов С. А., Мусаев М. Б. Оценка раздражающего действия митранокса и надината на слизистую глаз. // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2014. – Вып. 15. – С. 109–110.
6. Козлов С. А., Мусаев М. Б. Параметры острой кожной токсичности и раздражающего действия митранокса и надината. // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2014. – Вып. 15. – С. 110–112.
7. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов. – Киев, 1988. – С. 32–35.
8. Дыбан А. П., Баранов В. С., Акимова И. М. // Арх. анатом. гистол. эмбриол. – 1970. – Т. 59, № 10. – С. 89–100.
9. Правила лабораторной практики в Российской Федерации: Приказ министерства здравоохранения РФ, № 708н от 23.08.2010.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р. У. Хабриева. – Москва: Медицина, 2005.
11. Михайлицын Ф. С., Архипов И. А. и др. Патент №2481327 по заявке № 2011153482/04, 27.12.2011, публикация от 10.05.2013 г., Бюл. №13.

References

1. *Gosudarstvennaya farmakopeya* [State pharmacopeia]. M, 1968, vol. XI, i. 2. 182 p.
2. Kozlov S. A., Musaev M. B., Mihaylitsin F. S. et al. Studies on acute toxicity of Mitranox. *Med. parazit. i parazit. bol.* [Med. Parasitol. and Parasitic Dis.], 2013, no. 3, pp. 47–48.
3. Kozlov S. A., Musaev M. B. Anthelmintic efficacy and titration of therapeutic doses of domestic anthelmintic Mitranox against moniezirosis and nematodosis in sheep. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2014, no. 2, pp. 87–91.
4. Kozlov S. A., Musaev M. B., Mihaylitsin F. S. et al. Experimental study of cumulative properties of the new drug Mitranox. *Med. parazit. i parazit. bol.* [Med. Parasitol. and Parasitic Dis.], 2013, no. 3, pp. 53–55.
5. Kozlov S. A., Musaev M. B. Estimation of irritative effect of Mitranox and Nadinat on conjunctiva. *Materialy dokl. nauch. konf. Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami* Proc. of sci. conf. of All Russian Society of Helminthologists RAS «Theory and practice of struggle against parasitic diseases», 2014, i. 15 pp. 109–110.
6. Kozlov S. A., Musaev M. B. Features of acute dermal toxicity and irritative effect of Mitranox and Nadinat. *Materialy dokl. nauch. konf. Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*. Proc. of sci. conf. of All Russian Society of Helminthologists RAS «Theory and practice of struggle against parasitic diseases», 2014. i. 15, pp. 110–112.
7. *Metodicheskie ukazaniya po gigenicheskoy otsenke novyh pesticidov* [Methodical guidelines for hygienic estimation of new pesticides]. Kiev, 1988, pp. 32–35.

8. Dyban A. P., Baranov V. S., Akimova I. M. *Arh. anatom. gistol. embriol.* [Archives of anatomy, histology and embryology], 1970, vol. 59, no.10, pp. 89–100.
9. *Pravila laboratornoy praktiki v Rossiyskoy Federatsii: Prikaz ministerstva zdrazooohraneniya RF, № 708n ot 23.08.2010.* [Laboratory practice rules. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No, 708 n of 23.08.2010]
10. Khabriev R. U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novykh farmakologicheskikh veshhestv* [Guidelines for experimental (pre-clinical) studies of new pharmacological substances]. M., Medizina, 2005.
11. Mihaylitsin F. S., Arhipov I. A. et al. Patent RF, no. 24813276 Patent application no. 2011153482/04, 27.12.2011, Publ. of 10.05.2013, Bull. No. 13.

Russian Journal of Parasitology

UDC 619:615.015.4

DOI:

Article history:

Received 06.07.2015

Accepted 24.11.2015

Kozlov S.A., Musaev M.B. Effect of the anthelmintic drug mitranox on hematological and biochemical values in the blood of rats in subchronic experiment, Russian Journal of Parasitology, 2015, V.4, P. .

EFFECT OF THE ANTHELMINTIC DRUG MITRANOX ON HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL VALUES IN THE BLOOD OF RATS IN SUBCHRONIC EXPERIMENT

Kozlov S.A., Musaev M.B.

All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya st.

e-mail: serg1vet@mail.ru, musaev@vniigis.ru

Abstract

Objective of research: to study the effect of the anthelmintic Mitranox on hematological and biochemical values in the blood of rats.

Materials and methods: The experiment was conducted on 40 outbreed male rats divided into 4 groups of 10 rats each. Rats of the first three groups received the drug suspended in 1% starch gel per orally at the doses of 1/5, 1/10 and 1/20 of LD50 (830,4 mg/kg), respectively. Animals of the forth group did not receive the preparation and served as controls.

The drug suspension was given to animals daily within 7 days. Animals were slaughtered by resection of jugular vein with the following resection of cervical vertebrae. Blood and internal organs of animals were studied according to the standard methods.

Results and discussion: When used within 7 days, Mitranox at the doses of 1/5 and 1/10 of LD50 caused the increase in total protein, glucose level, concentration of uric acid in serum, activity of aspartate and alanine aminotransferase and alkaline phosphatase. All this indicated that the drug has a hepatotoxic effect on rats causing the suppression of humoral components of the non-specific immunity. Mitranox at the dose of 1/5 of LD50 has a negative effect on animal pancreas increasing its enzymatic activity.

Keywords: anthelmintic, Mitranox, subchronic toxicity, hematological and biochemical blood values.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)