

УДК 616-099: 546.57-019

КАТЮХА С.М., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: katyuha.71@ukr.net,**САЧУК Р.М.**, канд. вет. наук, e-mail: sachuk.08@ukr.net,**ЖИГАЛЮК С.В.**, e-mail: ieuaan@ukr.net,**ЛУК'ЯНИК І.М.**, e-mail: ieuaan@ukr.net*Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН*

ДОСЛІДЖЕННЯ ПІДГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРОТИПАЗИТАРНОГО ПРЕПАРАТУ «ДЕВІМЕКТИН»

За результатами досліджень розкрито параметри імунологічної реактивності організму лабораторних щурів при підгострій інтоксикації протипаразитарним препаратом «Девімектин». Встановлено, що через добу після застосування токсичних доз препарату у периферичній крові щурів розвивається лейкопенія з різноспрямованими змінами в відсотковому вмісті нейтрофілів та лімфоцитів. Через 40 діб після інтоксикації показники крові свідчать про зниження вмісту сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів та еозинофілів, що є свідченням високого рівня інтоксикації в організмі тварин.

Ключові слова: «Девімектин», дози, токсичність, лабораторні щури, лейкограма.

Вступ. В останні десятиліття серед протипаразитарних лікарських засобів найбільшого застосовування набули препарати на основі івермектину. В Україні їх широко використовують при обробці великої та дрібної рогатої худоби від диктіокаульозу, стронгілоїдозу, саркоптоїдозів, підшкірного, носоглоткового та шлункового оводів тощо [1]. Однак препарати цієї групи відносяться до сильнодіючих лікарських речовин, хоча в рекомендаціях по застосуванню виробники вказують про їх низьку токсичність для теплокровних [2, 3]. При порушенні регламентів застосування, перевищення доз і кратності введення існує ризик виникнення отруєнь тварин івермектином. Обмеження даних про дію на організм ссавців токсичних доз препаратів цієї групи потребує їх всебічного вивчення, що дозволить запобігти отруєнню або прояву побічних ефектів.

Особливої уваги заслуговує вивчення впливу токсичних доз на лейкоцитарну ланку крові. Визначення лейкограми та підрахунок загальної кількості лейкоцитів дасть можливість охарактеризувати імунологічну реактивність організму та функціональний стан кровотворних органів, що особливо важливо для вивчення підгострої токсичності препарату.

Мета роботи. Дослідити стан лейкоцитарної ланки крові лабораторних щурів, як показника імунологічної реактивності організму, при вивченні підгострої токсичності протипаразитарного препарату «Девімектин».

Матеріали і методи досліджень. В дослідженнях використовували спільну розробку ПП «Біофарм» та Дослідної станції епізоотології ІВМ НААН протипаразитарний препарат «Девімектин» (1 мл препарату містить діючу речовину: івермектин – 10 мг), виготовлений ТОВ «ДЕВІЕ» (сmt. Літин, Вінницької обл.). Дослідження проводили на безпородних щурах-самцях масою

260–290 г, що містилися в стандартних умовах віварію Дослідної станції епізоотології ІВМ НААН на звичайному раціоні.

Для визначення токсичної дії препарату були сформовані три групи тварин: дві дослідні й одна контрольна. Щурам першої дослідної групи препарат «Девімектин» вводили одноразово підшкірно в дозі 7 мг/кг маси тіла, що перевищує терапевтичну дозу в 10 разів. Щурам другої дослідної групи підшкірно вводили дозу 14 мг/кг маси тіла, що, в свою чергу, перевищує терапевтичну дозу в 20 разів. Контрольною групою слугували інтактні тварини.

Показники крові вивчали через 1, 7, 14, 30 і 40 діб після гострої інтоксикації «Девімектин». Лейкограму виводили шляхом підрахунку відносного вмісту клітин в мазках крові, забарвлених по Лейшману з дофарбовуванням за Романовським-Гімза. У цих же мазках визначали морфологію лейкоцитів [4, 5]. Підрахунок загальної кількості лейкоцитів здійснювали в лічильній камері Горяєва, після чого обчислювали абсолютний вміст різних форм лейкоцитів крові інтоксикованих й інтактних щурів.

Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятою біометричною методикою [6]. Різницю між двома середніми величинами вважали статистично вірогідною при * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Результати досліджень та їх обговорення. При спостереженні за лейкограмою та рівнем лейкоцитів периферичної крові щурів протягом 40 діб виявлено, що кількість лейкоцитів, сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів і моноцитів при дії токсичних доз «Девімектину» підлягає вираженим коливанням. Порівнюючи дослідні групи з контрольною встановлено, що в період з першої до сьомої доби після інтоксикації в лейкограмі щурів, які отримали дозу 7 мг/кг, знижувався відносний вміст сегментоядерних нейтрофілів, а у тварин з дозою 14 мг/кг реєструвалося збільшення відсоткового вмісту цих клітин. Варто відзначити, що як зниження, так і збільшення вмісту сегментоядерних нейтрофілів виходить за рамки фізіологічної норми щурів. Вміст лімфоцитів при цьому в щурів, що належать до групи з дозою отруєння 7 мг/кг, відповідно зростає, а у тварин з дозою 14 мг/кг – знижувався (табл. 1).

При аналізі даних абсолютного вмісту різних форм лейкоцитів у крові щурів, інтоксикованих 7 мг/кг, на фоні зниження загальної кількості лейкоцитів була виявлена абсолютна нейтропенія, яка може свідчити про пригнічення кісткомозкового кровотворення або інтенсивне руйнування нейтрофілів під впливом токсичного чинника.

У щурів з більш високою дозою отруєння – 14 мг/кг також реєструвалося пригнічення лейкопоезу, що супроводжувалося різко вираженою лейкопенією. Так, кількість лейкоцитів у тварин цієї групи становила $7,03 \pm 1,1$ Г/л при фізіологічній нормі від 8,0 Г/л до 23,0 Г/л. Значення абсолютної кількості сегментоядерних нейтрофілів на цьому фоні залишалося наближеним до групи контролю.

Таблиця 1

Лейкограма щурів при підгострій інтоксикації протипаразитарним препаратом «Девімектин», $M \pm m$, $n=5$

Група тварин	Лейкоцити, Г / л	Еозинофіли, %	Нейтрофіли, %		Лімфоцити, %	Моноцити, %
			П	С		
24 години після інтоксикації						
Контроль	14,01±1,58	1,6±0,4	0,4±0,24	24,6±2,2	71,6±2,12	0,4±0,24
7 мг/кг	10,01±0,17*	2,4±0,68	0,6±0,25	8,2±1,59**	82,0±2,39*	0,4±0,24
14 мг/кг	7,03±1,1**	1,0±0,77	2,0±0,32*	44,4±5,56*	48,4±4,02* *	0,2±0,2
7 діб після інтоксикації						
Контроль	21,93±0,45	2,8±0,92	2,2±0,66	32,8±1,77	57,0±3,1	4,6±0,98
7 мг/кг	19,23±0,29* *	0,8±0,2	0,0±0,0*	8,6±1,08**	81,8±1,88* *	1,4±0,24
14 мг/кг	13,54±0,27* *	1,6±0,6	2,0±0,63	38,6±4,88	51,2±4,24	0,4±0,24*
14 діб після інтоксикації						
Контроль	19,89±0,51	2,0±0,45	0,4±0,11	34,2±1,77	60,4±1,12	3,0±0,84
7 мг/кг	14,87±1,01* *	1,4±0,24	0,6±0,11	15,8±2,35**	78,6±2,82* *	0,4±0,24*
14 мг/кг	18,73±1,18	0,4±0,24*	0,4±0,11	30,4±3,68	66,0±4,82	0,2±0,2**
30 діб після інтоксикації						
Контроль	20,35±0,65	1,6±0,4	0,6±0,11	28,0±1,22	67,2±1,6	2,0±0,32
7 мг/кг	9,96±0,54**	1,4±0,24	0,4±0,11	26,0±0,71	69,4±1,2	0,0±0,0**
14 мг/кг	6,9±0,58**	1,2±0,37	0,4±0,11	31,4±1,36	62,4±1,78	0,0±0,0**
40 діб після інтоксикації						
Контроль	17,35±0,81	1,8±0,37	0,6±0,11	23,0±1,06	72,0±1,01	1,4±0,4
7 мг/кг	12,64±0,68* *	1,4±0,24	0,6±0,11	15,4±0,14**	79,0±0,44* *	0,0±0,0*
14 мг/кг	7,49±0,37**	0,8±0,2	0,6±0,11	15,3±0,3**	76,2±1,1	0,0±0,0*

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Поява таких відмінностей при впливі доз, які в 10 і 20 разів перевищують терапевтичну є свідченням розвитку дозозалежного ефекту на введення препарату.

До 7-ї доби після інтоксикації кількість лейкоцитів у дослідних групах проходить від критичних значень, зареєстрованих через добу після інтоксикації, але залишається достовірно нижчою в порівнянні з групою контролю. Така тенденція зберігається й на 14-у добу спостереження. Наведена закономірність свідчить, що організм в цей період знаходиться в другій фазі загального адаптаційного синдрому, а саме, в фазі резистентності, яка носить захисний характер.

Починаючи з 14-ої доби після інтоксикації, знову спостерігається відсотковий перерозподіл форм лейкоцитів. Так, в групі тварин, які отримали дозу 7 мг/кг, кількість сегментоядерних нейтрофілів починає зростати, а лімфоцитів – відповідно знижуватися. В той час як у щурів, які отримали дозу «Девімектину», що дорівнює 14 мг/кг, спостерігається зворотна тенденція – вміст сегментоядерних нейтрофілів у них знижується, а лімфоцитів

збільшується. Таким чином, знову чітко простежуються дозозалежні відмінності при дії препарату «Девімектин» на організм щурів. До 30-ї доби спостереження вони майже зникають, оскільки частки сегментоядерних нейтрофілів і лімфоцитів в обох дослідних групах практично досягають значень групи контролю. Після закінчення дослідів в лейкограмі щурів обох дослідних груп реєструвалося достовірне зниження процентного вмісту сегментоядерних нейтрофілів, причому це значення виявилось нижчим за показник фізіологічної норми (20–35%) і склало $15,4 \pm 0,14$ та $15,3 \pm 0,3\%$ відповідно. Вміст лімфоцитів при цьому зріс.

Загальна ж кількість лейкоцитів, починаючи з 30-ї доби після інтоксикації, в дослідних групах, як і в першу добу, знову набуває тенденції до зниження, а у щурів, інтоксикованих 14 мг/кг, реєструється повернення до лейкопенії, яка зберігається до кінця дослідження. Виходячи з цього можна припустити, що період адаптивної діяльності організму під дією токсичних доз завершується та переходить в стадію виснаження, яка може привести до загибелі тварин. Вміст моноцитів та їх абсолютна кількість в дослідних групах протягом всього експерименту зменшувалася в порівнянні з контролем, а на 30-ту і 40-ву добу в мазках крові інтоксикованих щурів ці клітини повністю були відсутні, що є несприятливою ознакою, так як вони виконують функцію макрофагів і беруть участь в усуненні зруйнованих клітин шляхом ендоцитозу.

Достовірне зниження абсолютної кількості еозинофілів може свідчити про наростання інтоксикації в організмі щурів дослідних груп, оскільки саме ці клітини відповідають за детоксикаційну дію.

При проведенні морфологічного аналізу лейкоцитів відзначено збільшення кількості поліморфноядерних форм лімфоцитів та зростання кількості гіпосегментоядерних нейтрофілів у інтоксикованих щурів у порівнянні з групою інтактних тварин. У цитоплазмі сегментоядерних нейтрофілів у тварин дослідних груп реєструвалася токсична зернистість і фрагментація ядер. Наявність цих дегенеративних змін також підтверджує високий рівень інтоксикації у щурів дослідних груп.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Токсичні дози «Девімектину», що перевищують рекомендовані дози у 10–20 разів, через добу після впливу викликають у щурів розвиток лейкопенії з різноспрямованими змінами в відсотковому вмісті нейтрофілів та лімфоцитів. Через 40 діб після інтоксикації в обох дослідних групах знижується відсотковий та абсолютний вміст сегментоядерних нейтрофілів. Частка лімфоцитів зростає, проте абсолютна їх кількість залишається нижче контрольного рівня, внаслідок збереження лейкопенії. Зниження вмісту моноцитів та еозинофілів у периферичної крові на фоні реєстрованого комплексу дегенеративних змін в ядрах і цитоплазмі нейтрофілів свідчить про збереження високого рівня інтоксикації в організмі щурів обох дослідних груп протягом усього експерименту.

Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення протипаразитарної дії препарату «Девімектин».

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Галат В.Ф. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, М.П. Прус, Н.М. Сорока. – Київ: Вища освіта, 2003. – 434 с.
2. Косенко М.В. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин: методичні рекомендації / М.В. Косенко, О.Г. Малик, І.Я. Коцюмбас та ін. – К., 1997. – 34 с.
3. Коцюмбас І.Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега та ін.; за редакцією І. Я. Коцюмбаса. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с.
4. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / [Кондрахин И.П., Архипов А.В., Левченко В.И. и др.]: под ред. И.П. Кондрахина. – М.: Колос, 2004. – 520 с.
5. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте: [Учебное пособие] / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин – М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРОТИВО-ПАРАЗИТАРНОГО ПРЕПАРАТА «ДЕВИМЕКТИН» / Катюха С.Н., Сачук Р.Н., Жигалюк С.В., Лукьяник И.Н.

По результатам исследований раскрыты параметры иммунологической реактивности организма лабораторных крыс при подострой интоксикации противопаразитарным препаратом «Девимектин». Установлено, что через сутки после применения токсических доз препарата в периферической крови крыс развивается лейкопения с разнонаправленными изменениями в процентном содержании нейтрофилов и лимфоцитов. Через 40 суток после интоксикации показатели крови свидетельствуют о снижении содержания сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов, что является свидетельством высокого уровня интоксикации в организме животных.

Ключевые слова: «Девимектин», дозы, токсичность, лабораторные крысы, лейкограмма.

INVESTIGATION OF SUBACUTE TOXICITY OF ANTIPARASITIC PREPARATION “DEVIMECTIN”/ Katyukha S.M., Sachuk R.M., Zhyhaliuk S.V., Lukyanik I.M.

Introduction. In recent decades among the most widely used anti-parasitic preparations are ivermectin-based ones. In Ukraine, they are widely used in the treatment of cattle, sheep and goats against dictyocaulosis, stronhyloidosis, sarcoptoidias, subcutaneous, nasopharyngeal and gastric gadflies, etc. However, the preparations of this group are strong substances, although manufacturers indicate their low toxicity for warm-blooded animals. Limiting the data on the action of toxic doses of preparations of this group on the organism of mammals suggests the need for their comprehensive study. This will allow the development of preventive and therapeutic measures in the event of poisoning or manifestation of side effects.

The goal of the work. To investigate the state of the leukocytes of blood of laboratory rats as an indicator of immunological reactivity of the organism under subacute toxicity of the antiparasitic preparation “Devimectin”.

Materials and methods. The experiment used antiparasitic preparation “Devimectin” (active ingredient ivermectin), manufactured by LLC “EPIE” (Litin, Vinnitsa region, Ukraine). The experiment was conducted on non-breeding male rats weighing 260-290 g. Blood parameters were studied in 1, 7, 14, 30 and 40 days after acute intoxication with preparation “Devymectin”. A total leukocyte count (TLC) was calculated. The results were statistically processed.

Results of research and discussion. It was found that in the period from the first to the seventh day after the intoxication of rats receiving a dose of 7 mg/kg, the white cell count decreased

the content of segmental neutrophils, and in animals received a dose of 14 mg/kg, an increase in the content of these cells. The TLC in rats received 7 mg/kg dose of the preparation were correspondingly growing, and in animals with a dose of 14 mg/kg, it decreased. When analyzing the absolute content of different forms of leukocytes, absolute neutropenia was detected and decrease in the total amount of leukocytes of rats received 7 mg/kg of the preparation. In rats with a higher dose of poisoning – 14 mg/kg also recorded sharply expressed leukopenia. After the experiment, in the leucogram of the rats of both experimental groups, a significant reduction in the percentage of segmental neutrophils was recorded. In the cytoplasm of segmented neutrophils, toxic granularity and fragmentation of nuclei in experimental groups of animal were. The presence of such degenerative changes is confirmed by the high level of intoxication in experimental groups of rats.

Conclusions and prospects for further research. The toxic doses of “Devymectin” in a day after preparation receiving leukopenia with changes in the content of neutrophils and lymphocytes developed in rats. In both experimental groups of animals, the percentage and absolute content of segmental neutrophils were reduced in 40 days after intoxication. The rate of lymphocytes increased, but their absolute amount remained below the control level, due to the preservation of leukopenia. Reducing the content of monocytes and eosinophils in the blood indicated a high level of intoxication in the rat’s body of both experimental groups.

Further research will be aimed at studying the antiparasitic action of the preparation “Devicectin”.

Keywords: “Devymectin”, doses, toxicity, laboratory rats, leucogram.

REFERENCES

1. Galat, V.F., Berezovs'kij, A.V., Prus, M.P., & Soroka, N.M. (2003). *Parazitologija ta invazijni hvoroby tvarin [Parasitology and invasive diseases of animals]*. Kyi'v: Vyshha osvita [in Ukrainian].
2. Kosenko, M.V., Malik, O.G., & Kotsyumbas I.Ya. (1997). *Toksikologichnij kontrol' novih zasobiv zahistu tvarin: metodichni rekomendacii [Poison control of new means of protecting animals: guidelines]*. Kiev [in Ukrainian].
3. Kotsyumbas, I.Ya., Malik, O.G., & Patereha I.P. et al. (2006). *Doklinichni doslidzhennja veterinarnih likars'kih zasobiv [Preclinical studies of veterinary medicinal products]*. Kotsyumbas, I.Ya. (Ed.). Lviv: Triad plus [in Ukrainian].
4. Kondrahin, I.P., Arhipov, A.V. & Levchenko V.I. et al. (2004). *Metodu veterinarnoi klinicheskoi laboratornoi diagnostiki [Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics]*. Moskov: Kolos [in Russian].
5. Zapadnyuk, I.P., Zapadnyuk, V.I., Zakharia, E.A. & Zapadnyuk, B.V. (1983). *Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v jeksperimente [Laboratory animals. Dilution, content, use in experiment]*. Kiev: Vishha shkola [in Ukrainian].
6. Lakin, H.F. (1990). *Biometria [Biometrics]*. Moskow: Vuszai chkola [in Russian].