

ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ І ПІДГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ХЛОРТЕТРАЦИКЛІНУ ГІДРОХЛОРИДУ

*І. Я. Коцюмбас, д-р вет. наук, професор, академік НААН,
І. П. Патерега, канд. вет. наук, с. н. с.,
В. І. Кушнір, канд. вет. наук,
Т. В. Юринець, науковий співробітник,
С. Я. Мартиник, науковий співробітник,
М. М. Чудяк, молодший науковий співробітник*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна
ipater2@gmail.com

У статті наведені результати вивчення гострої та підгострої токсичності препарату «Хлорацил», виготовленого на основі хлортетрацикліну гідрохлориду. У результаті проведених досліджень було встановлено, що за одноразового внутрішньошлункового введення, препарат, згідно зі СОУ 85.2-37-736:2011, відноситься до 4-го класу токсичності — малотоксичні речовини.

При визначенні токсичності препарату за тривалого застосування було встановлено, що застосування Хлорацилу у терапевтичній та 10-кратній терапевтичних дозах не викликало загибелі білих щурів. Тварини дослідних груп були активними, добре поїдали корми, при цьому загальний стан тварин не відрізнявся від стану тварин контрольної групи, хоча спостерігалась тенденція до зниження вагових коефіцієнтів маси печінки, селезінки, серця, легень, тимусу та нирок, на тлі зростання маси тіла тварин, відповідно, на 3,4 та 7,3 % ($p < 0,05$), порівняно з показниками контрольної групи. Отже, застосування досліджуваного препарату у вищевказаних дозах протягом 14 діб суттєво не впливає на функціональний стан внутрішніх органів дослідних тварин.

Вивчення впливу препарату на гематологічні показники крові за тривалого застосування показало, що у терапевтичній та 10-кратній терапевтичних дозах спостерігалась тенденція до зниження концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів, лейкоцитів, величини гематокриту, на тлі незначного зростання тромбоцитів. При визначенні величини еритроцитарних індексів, відзначали, що застосування препарату «Хлорацил» у тварин I та II дослідних груп не викликало вірогідних змін у середньому вмісті гемоглобіну в еритроциті (МСН). Середній об'єм еритроцита (МСV), середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (МСНС) були на рівні величин контрольної групи.

При вивченні впливу препарату на біохімічні показники сироватки крові у тварин I та II дослідних груп відзначали тенденцію до зниження рівня креатиніну, активності АсАТ, АлАТ та ЛФ на тлі зростання вмісту загального білка.

Аналіз отриманих даних свідчить, що застосування препарату «Хлорацил» білим щурам упродовж 14 діб у терапевтичній та 10-кратній терапевтичних дозах викликало незначне зниження вагових коефіцієнтів маси внутрішніх органів, гематологічних та біохімічних показників крові, але це суттєво не впливало на загальний стан тварин.

Ключові слова: ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ПІДГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ЛАБОРАТОРНІ ЩУРИ, ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ.

DETERMINATION OF ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF THE DRUG BASED ON CHLORTETRACYCLINE HYDROCHLORIDE

I. Ya. Kotsyumbas, I. P. Patereha, V. I. Kushnir, T. V. Yurynets, S. Ya. Martynyk, M. M. Chudyak

State Scientific-Research Control Institute of Veterenary Medicinal Products and Feed Additives
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine
ipater2@gmail.com

The article presents the results of determination of acute and subacute toxicity of the drug "Chloracil", which was made on the basis of chlortetracycline hydrochloride. In result of the conducted researches, it was found out, that a single intragastric administration of the drug according to SOU 85.2-37-736: 2011 belongs to the 4th class of toxicity - low-toxic substances.

In determining the toxicity of the drug by the long-term use, it was found out, that the use of Chloracil in therapeutic and in 10 times higher than the therapeutic doses did not cause death of white rats. The animals of the experimental groups were active, ate well food, and the general condition of the animals did not differ from the condition of the animals of the control group, but there was a tendency to decrease the weights of liver, spleen, heart, lungs, thymus and kidneys on the background of an increase of body weight by 3.4 and 7.3% ($p < 0.05$), compared to the values of the control group. Therefore, the use of the tested drug in above doses for 14 days does not significantly affect on the functional state of the internal organs of experimental animals.

The study of the effect of the drug on the hematological parameters of blood by long-term use showed that in therapeutic and in 10-time higher therapeutic doses observed a tendency to decrease the hemoglobin concentration, amount of erythrocytes, leukocytes, hematocrit value, on the background of a slight an increase of platelet. In determining the value of erythrocyte indices, it was noted that the use of the drug "Chloracil" in animals of I and II experiments did not cause significant changes in mean corpuscular hemoglobin (MCH). Mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were at the level of the control group.

When studying the effect of the drug on the biochemical parameters of blood serum in animals of I and II experimental groups, there was a tendency to decrease the level of creatinine, activity of AST, ALT and LP activity on the background of a slight an increase of total protein content.

Analysis of the obtained data shows that the use of the drug "Chloracil" to white rats for 14 days in therapeutic and in 10-time higher therapeutic doses caused a slight decrease in the weight of internal organs, hematological and biochemical parameters of blood, which that in turn did not significantly effect on the general condition of animals.

Keywords: ACUTE TOXICITY, SUBACUTE TOXICITY, LABORATORY RATS, HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS.

Ефективність лікування інфекційних захворювань антибактеріальними препаратами залежить від правильного вибору лікарського засобу з урахуванням чутливості збудника до нього, вибору оптимальної дози, кратності та тривалості його застосування. Поряд з цим відомо про велику кількість прикладів нераціонального застосування і неефективного призначення антибіотиків, що можна пояснити недостатніми знаннями їх властивостей, токсичності та методів застосування.

Завдання роботи – встановлення токсичності препарату «Хлорацил», виготовленого на основі хлортетрацикліну гідрохлориду на лабораторних тваринах за одноразового та тривалого введення.

Дослідження проводили відповідно до вимог методичних рекомендацій “Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин”, “Доклінічні дослідження

ветеринарних лікарських засобів” і “Доклінічні дослідження лікарських засобів” (Kosenko et al., 1997; Stefanov et al., 2001; Kotsiumbas et al., 2006).

Матеріали і методи. Визначення гострої токсичності препарату.

Для визначення параметрів гострої токсичності препарату “Хлорацил” було сформовано за принципом аналогів 4 групи тварин по 6 щурів у кожній. Тваринам I дослідної групи застосовували досліджуваний препарат у дозі 1000, II – 3000, III – 5000 мг/кг маси тіла тварини. На кожну дозу було використано по 6 лабораторних тварин. Дозу препарату, яка становила 5000 мг/кг маси тіла тварини, було введено подвійній кількості тварин. Препарат вводили зранку натще внутрішньошлунково одноразово за допомогою шприца із зондом. Перед застосуванням препарату його попередньо розчиняли водою у співвідношенні 1:5.

Після введення досліджуваного препарату, спостереження за лабораторними тваринами вели впродовж 14 діб. При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, видимих слизових оболонок, відношення до корму, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання.

Визначення токсичності препарату в підгострому досліді. З метою визначення впливу препарату на організм тварин за тривалого застосування проводили визначення підгострої токсичності. Підгостру токсичність препарату “хлорацил” вивчали на білих щурах 2-3-місячного віку, масою тіла 180-200 г. З цією метою, за принципом аналогів, було сформовано контрольну та дві дослідні групи тварин, по 6 щурів у кожній. Тваринам контрольної групи вводили питну воду. Тваринам I дослідної групи вводили “хлорацил” у терапевтичній дозі – 24 мг на тварину, II дослідної групи – десятикратну терапевтичну дозу – 240 мг на тварину. Досліджуваний засіб застосовували внутрішньошлунково щоденно впродовж 14 діб.

На наступну добу після закінчення застосування препарату лабораторних тварин за легкого ефірного наркозу, декапітували, відбирали проби крові, проводили гематологічні і біохімічні дослідження за загальноновизнаними методиками та розтинали і визначали коефіцієнти маси органів, порівняно з контрольною групою. Для гематологічних досліджень використовували кров стабілізовану ЕДТА, а для біохімічних досліджень – сироватку крові. В стабілізованій крові визначали: вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, лейкограму, гематокрит, індекси червоної крові – за допомогою гематологічного аналізатора Mythic-18. У сироватці крові визначали: загальний білок за допомогою рефрактометра РФ-22, активність ензимів (АлАТ, АсАТ, ЛФ), вміст креатиніну, сечовини - за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора HumaLyzer 3000 з використанням стандартних наборів фірми Human.

Результати й обговорення. При визначенні гострої токсичності препарату “Хлорацил” отримали дані, що наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Показники токсичності препарату “Хлорацил” за внутрішньошлункового введення білим щурам

Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих тварин	
		всього	середній час загибелі, діб
6	1000	0	0
6	3000	0	0
6	5000	0	0
12	5000	0	0

Як видно з даних, наведених у таблиці 1, при визначенні гострої токсичності препарату “Хлорацил” було встановлено, що внутрішньошлункове його застосування у дозах 1000, 3000 та 5000 мг/кг не викликало загибелі тварин чи захворювань. При цьому, слід зазначити, що упродовж 14-добового періоду спостереження не було виявлено будь-яких змін у поведінці

тварин. Тому, згідно зі СОУ 85.2-37-736:2011, препарат відноситься до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) (СОУ 85.2-37-736:2011).

При визначенні токсичності препарату за тривалого застосування було встановлено, що застосування препарату у терапевтичній та 10-кратній терапевтичних дозах не викликало загибелі білих щурів. Тварини дослідних груп були активними, добре поїдали корми, при цьому загальний стан тварин не відрізнявся від стану тварин контрольної групи.

У подальшому визначали вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів тварин. Результати визначення коефіцієнтів маси внутрішніх органів наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів (M±m, n=6)

Внутрішні органи	Групи тварин		
	контрольна	1 група	2 група
Печінка	32,05±0,5	32,0±1,4	31,7±1,03
Селезінка	4,3±0,3	3,8±0,4	3,2±0,3
Серце	4,03±0,2	3,9±0,3	3,5±0,1
Легені	10,6±2,8	7,2±0,7	6,6±1,8
Тимус	2,9±0,4	2,2±0,2	2,3±0,4
Нирка права	3,6±0,06	3,7±0,3	3,3±0,2
Нирка ліва	3,4±0,04	3,2±0,2	3,1±0,2
Маса тіла тварин, г	206,3±3,7	213,3±7,09	221,3±4,4*

Примітка: * - $p < 0,05$

Як видно, з даних, наведених у таблиці 2, 14-добове внутрішньошлункове застосування препарату «Хлорацил» у тварин I та II дослідних груп викликало тенденцію до зниження вагових коефіцієнтів маси печінки, селезінки, серця, легень, тимусу та нирок, на тлі зростання маси тіла тварин, відповідно, на 3,4 та 7,3 % ($p < 0,05$), порівняно з показниками контрольної групи.

Отже, застосування досліджуваного препарату у вищевказаних дозах протягом 14 діб суттєво не впливає на функціональний стан внутрішніх органів дослідних тварин.

При визначенні гематологічних показників отримали дані, які наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Гематологічні показники крові білих щурів за вивчення підгострої токсичності препарату «Хлорацил»

Показники	Групи		
	Контрольна		
Гемоглобін, г/л	155,0±3,0	149,3±4,1	148,2±3,1
Еритроцити, Т/л	7,1±0,3	6,8±0,2	7,07±0,2
Лейкоцити, г/л	16,3±2,6	10,9±1,05	9,8±1,4
Гематокрит, %	39,0±0,7	37,2±0,8	37,4±0,7
Тромбоцити	716,0±63,8	741,7±60,6	843,2±48,3
МСН, пг	21,95±0,7	22,05±0,3	20,9±0,2
МСНС, г/дл	39,8±0,3	40,1±0,3	39,7±0,2
МСV, мкм ³	55,2±1,7	55,0±1,08	52,9±1,4

Як видно з даних, наведених у таблиці 3, при вивченні впливу препарату на гематологічні показники крові, встановлено, що застосування препарату у терапевтичній та 10-кратній терапевтичній дозах викликало тенденцію до зниження концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів, лейкоцитів, величини гематокриту, на тлі незначного зростання тромбоцитів. При визначенні величини еритроцитарних індексів, відзначали, що застосування препарату «Хлорацил» у тварин I та II дослідних не викликало вірогідних змін у середньому

вмісті гемоглобіну в еритроциті (MCH), середньому об'ємі еритроцита (MCV), середній концентрації гемоглобіну в еритроциті (MCHC).

При визначенні біохімічних показників сироватки крові отримали дані, наведені у таблиці 4.

Таблиця 4

Біохімічні показники крові білих щурів за вивчення підгострої токсичності препарату “Хлорацил” (M±m, n=6)

Показники	Групи		
	Контрольна	1 (терапевтична доза)	2 (10-кратна доза)
Загальний білок, г/л	73,3±0,93	75,2±0,84	74,8±1,0
Сечовина, ммоль/л	8,4±0,34	8,0±0,2	9,8±1,0
Креатинін, мкмоль/л	79,08±1,3	76,2±2,9	74,8±3,9
АсАТ, Од/л	192,1±29,1	210,6±36,9	213,1±35,5
АлАТ, Од/л	107,3±14,4	97,2±20,0	77,0±12,7
ЛФ, Од/л	230,6±26,0	183,2±18,6	165,9±19,65

Як видно з даних, наведених у таблиці 4, при вивченні впливу препарату на біохімічні показники сироватки крові у тварин I та II дослідних груп відзначали тенденцію до зниження рівня креатиніну, активності АсАТ, АлАТ та ЛФ, на тлі зростання вмісту загального білка.

Аналіз отриманих даних свідчить, що застосування препарату “Хлорацил” білим щурам упродовж 14 діб у терапевтичній та 10-кратній терапевтичній дозах викликало незначне зниження вагових коефіцієнтів маси внутрішніх органів, гематологічних та біохімічних показників крові, але це суттєво не впливало на загальний стан тварин.

ВИСНОВКИ

1. Препарат “Хлорацил” належить до 4-го класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин, LD₅₀ при його внутрішньошлунковому введенні білим щурам становить більше 5000 мг/кг.

2. 14-добове застосування препарату “Хлорацил” білим щурам у терапевтичній дозі і в дозі, яка в 10 разів перевищує терапевтичну, викликало незначне зниження вагових коефіцієнтів маси внутрішніх органів, гематологічних та біохімічних показників крові, але це суттєво не впливало на загальний стан тварин.

Перспективи досліджень. У подальшому дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу препарату на організм тварин за більш тривалого застосування.

References

Kosenko, M.V., Malyk, O.H., Kotsiumbas, I.Ya., Patereha, I.P., Chura, D.O. (1997). Toksykologichnyi kontrol novykh zasobiv zakhystu tvaryn: Metodychni rekomendatsii. K. 37. [in Ukrainian].

Kotsiumbas, I.Ya., Malyk, O.H., Patereha, I.P. (2006). Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv. Lviv: Triada plus. 360. [in Ukrainian].

Stefanov, O.V. (2001). Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv (metodychni rekomendatsii). K.: Avitsena. 528. [in Ukrainian].

SOU 85.2-37-736:2011 (2011). Preparaty veterynarni. Vyznachannia hostroi toksychnosti. K: Minahropolityky. 34. [in Ukrainian].