

УДК: 615.272.6.099

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.2.42

ИЗУЧЕНИЕ АНОМАЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ L- АРГИНИНА

Коровина В.В. – к. вет. н., асс. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии
(ORCID 0000-0001-8022-2399)
ФГБОУ ВО СПбГУВМ

Ключевые слова: аномальная токсичность, L-Аргинин, лабораторные животные, тест-доза. **Key words:** abnormal toxicity, L-Arginine, laboratory animals, test dose.



РЕФЕРАТ

На заседании Фармакопейного комитета Евразийского экономического союза (ЕАЭС) в 2017 г. было предложено не включать тест на аномальную токсичность в проект Фармакопеи ЕАЭС, основанием для данной дискуссии послужил отказ Европейской фармакопеи от данного испытания. В настоящее время на территории нашей страны такой шаг не может быть предпринят, на том основании, что не все производства медицинских и ветеринарных препаратов отвечают международным требованиям GMP. Основной целью проведения теста на аномальную токсичность является выявление токсичности препарата, превышающей установленный ранее допустимый уровень, контролируемый по повышению летальности или по нерегламентированным явлениям интоксикации животных. Тест дает возможность определять повышенную токсичность лекарственного препарата, которая может возникнуть за счет появления продуктов разложения или нежелательных примесей при нарушении процесса производства, транспортировки или неправильном хранении препарата [13].

Целью настоящих исследований являлась разработка методики контроля качества субстанции L-Аргинина. Исследования по показателю «Аномальная токсичность» проводили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV изд., т.1., М., 2018 г., раздел «Аномальная токсичность» (ОФС.1.2.0004.15), согласно которому препарат считается выдержавшим испытание на аномальную токсичность, если суммарная гибель животных в проведенном испытании на 10 мышах не превышает 10 % [1].

Исходя из основной задачи данного испытания – выявлять аномальную токсичность испытуемой субстанции L-Аргинина, считали целесообразным рекомендовать в качестве тест-дозы ее максимально переносимую дозу, т.е. ту дозу, при введении которой не отмечается летальности, выраженных клинических явлений интоксикации или наблюдаемые явления интоксикации проявляются кратковременно и очень слабо.

ВВЕДЕНИЕ

L-Аргинин является протеиногенной аминокислотой, выработка в организме которой кодируется генетическим кодом. Она встречается в организме в свободном виде и в составе белков, в том числе много её в протаминах и гистонах [15]. В качестве источника азота эта аминокислота обеспечивает систему ферментов NO – синтаз, которые, в свою очередь, синтезируют нитрозо-группу - ме-

диатор миорелаксации сосудов артериального русла от которого напрямую зависит диастолическое давление. При дефиците аргинина диастолическое давление увеличивается. Кроме того, следует отметить важную роль аргинина в цикле переаминирования и выведения из организма конечного азота, то есть продукта распада белков. От качества работы цикла: орнитин - цитруллин – аргинин зависит способность организма создавать мо-

чевину и очищаться от продуктов белкового разложения [2,3,5].

Аргинин, в качестве источника азота, участвует в синтезе мышечной ткани, что, в свою очередь, способствует увеличению мышечной массы и уменьшению жиров в организме человека и животных. Следует отметить его психотропное, гепатопротективное и иммуностимулирующее действия [10,16].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на здоровых белых нелинейных мышцах обоего пола массой тела 19-21 г, которые ранее не были использованы в эксперименте.

В период карантина (2 недели) и во время эксперимента животные находились в виварии при 22-24°C, влажности 50-60%, естественном световом режиме “день-ночь”, в стандартных пластиковых клетках, на стандартном пищевом рационе [7].

С животными обращались в соответствии с правилами “Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей” [14].

Мышей распределяли по 5 голов в группе таким образом, чтобы в каждой группе были представлены мыши массой тела 19 г, 20 г и 21 г. Каждую дозу субстанции в виде раствора соответствующей концентрации вводили мышам внутривенно однократно в постоянном объеме 0,5 мл со скоростью 0,1 мл в секунду, что соответствует рекомендуемым нормам введения тест-доз при проведении испытания на аномальную токсичность согласно ГФРФ XIV.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Диапазон исследуемых доз L-Аргинина у мышей составил 0,4-2,5 г/кг. Наблюдение за мышами осуществляли на протяжении 7 дней, учитывая общее состояние животных, особенности поведения, интенсивность и характер двигательной активности, динамику массы тела и другие показатели, которые могут быть использованы для выявления токсического эффекта [9,12]. Степень токсических проявлений оценивали по 4-х бальной

шкале, принимая за 3 балла максимально выраженные явления интоксикации, в том числе с летальностью, 2 балла – умеренно выраженные явления интоксикации без летальности, 1 балл – слабо выраженные явления интоксикации и 0 – отсутствие клинических явлений интоксикации или наблюдаемые явления интоксикации проявляются кратковременно и очень слабо.

В качестве растворителя субстанции выбран раствор натрия хлорида 0,9% для инъекций, который изотоничен плазме крови, наиболее часто применяется для разведения инфузионных лекарственных средств и его pH находится в диапазон 5,0-7,0 [4,6,8,11]. Результаты испытаний представлены в таблице 1. Установлено, что при внутривенном введении L-Аргинина в диапазоне доз 1,8-2,5 г/кг у мышей последовательно развиваются нарушение ритма дыхания, адинамия, тремор, мышцы кратковременно принимают «боковое положение». В течение первых суток наблюдения регистрируется дозозависимая гибель мышей. У выживших мышей на 2 сутки после введения субстанции состояние восстанавливается до физиологического уровня, других токсических явлений в течение дальнейшего периода наблюдения не наблюдалось.

При внутривенном введении L-Аргинина в диапазоне доз 0,60-1,5 г/кг у мышей в течение первых 3-10 мин минут после введения дозозависимо регистрируются нарушение ритма дыхания, адинамия и тремор конечностей. Через несколько часов двигательная активность и состояние животных восстанавливаются до исходного физиологического уровня, других токсических явлений в течение дальнейшего периода наблюдения не наблюдается. Гибели мышей и нарушения динамики массы тела не отмечено.

При введении L-Аргинина в диапазоне доз 0,40-0,55 г/кг у мышей отмечаются только кратковременные нарушения ритма дыхания и снижение спонтанной двигательной активности, которое через 1-2 минуты сменяется повышенной двигательной активностью. Затем состояние

мышей восстанавливается до исходного физиологического уровня и других токсических явлений, в том числе нарушений динамики массы тела, в течение дальнейшего периода наблюдения не наблюдается.

Согласно полученным результатам, ЛД₅₀ субстанции L-Аргинина при внутривенном введении мышам составляет $1,95 \pm 0,17$ г/кг ($1,78 \div 2,12$). Максимальная доза препарата, которая не вызывает существенных клинических явлений интоксикаций, составляет 0,55 г/кг.

ВЫВОДЫ

Экспериментальным исследованием установлено, что для испытания на аномальную токсичность в качестве тест-дозы можно рекомендовать следующую дозу L-Аргинина: 0,5 мл раствора, содержащего 11 мг субстанции в растворе натрия хлорида 0,9%, которая должна вводиться в течение 5 с. Рекомендуемый срок наблюдения при испытании препарата на аномальную токсичность должен составлять 24 часа. Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV

изд., т.1. М., 2018 г. Тест-доза: 0,5 мл раствора субстанции, содержащие 11 мг L-Аргинина, на 1 мыш. Вводить внутривенно в течение 5 с. Срок наблюдения 24 часа.

The study of the parameter «abnormal toxicity» of l-arginin. Korovina V.V. – Doctor of Veterinary Sciences, assistant, FSBEI HE SPbGUVM

ABSTRACT

At the meeting of the Pharmacopoeial Committee of the Eurasian Economic Union (EAEU) in 2017, it was proposed not to include the test for abnormal toxicity in the draft of the EAEU Pharmacopoeia, the basis for this discussion was the refusal of the European Pharmacopoeia from this test. Currently, such a step cannot be taken on the territory of our country, on the grounds that not all production of medical and veterinary drugs meet international GMP requirements. The main purpose of the test for abnormal toxicity is to identify the toxicity of the drug in excess of the previously established permissible level, controlled by increasing mortality or by unregulated phenomena of ani-

Таблица 1

Результаты испытаний

Доза, г/кг	Объем введения	n	Гибель животных		Степень токсических явлений, баллы*
			погибшие/общее число	%	
2,50	0,5	5	5/5	100	3
2,00	0,5	5	3/5	60	3
1,80	0,5	5	1/5	20	3
1,50	0,5	5	0/5	0	3
1,00	0,5	5	0/5	0	3
0,75	0,5	5	0/5	0	2
0,60	0,5	5	0/5	0	1
0,55	0,5	5	0/5	0	0
0,50	0,5	5	0/5	0	0
0,40	0,5	5	0/5	0	0

Примечание: 1. * - 0, 1, 2, 3 баллы - соответственно: отсутствие клинических явлений интоксикации, умеренно выраженные и значительно выраженные явления интоксикации с летальностью

mal intoxication. The test makes it possible to determine the increased toxicity of a medicinal product, which may arise due to the appearance of decomposition products or undesirable impurities in the event of a violation of the production process, transportation or improper storage of the drug.

The aim of these studies was to develop a method for controlling the quality of the L-Arginine substance. Studies on the indicator "Abnormal toxicity" were carried out in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV ed., V.1., M., 2018, section "Abnormal toxicity" (OFS.1.2.0004.15), according to which the drug is considered to have passed test for abnormal toxicity if the total death of animals in the test performed on 10 mice does not exceed 10% [1].

Based on the main objective of this test - to reveal the abnormal toxicity of the test substance L-Arginine, it was considered expedient to recommend its maximum tolerated dose as a test dose, i.e. the dose, with the introduction of which there is no lethality, pronounced clinical phenomena of intoxication or the observed phenomena of intoxication are manifested for a short time and very weakly.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV., т.1. – 2018. М.: Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». – 1123с.
2. Артеменко А.И. Справочное руководство по химии/ А.И.Артеменко, И.В. Тикунова, В.А. Малеванный. - 2-е изд., перераб. и доп. - М: Высшая школа, 2002. - 367 с.
3. Ахметов Н.С. Общая и неорганическая химия: Учебник для студ.хим.-технол. спец. вузов/ Ахметов Н.С. - 4-е изд./ испр. - М.: Высшая школа, 2002. - 743 с.
4. Березин Б.Д. Курс современной органической химии: Учеб.пособие для студ. вузов, обуч. по хим.-технол. спец./ Березин Б.Д., Березин Д.Б.-М : Высшая школа, 2001.-768 с.
5. Биологический энциклопедический словарь. Гл. ред. М. С. Гиляров; Ред.кол.:

- А. А. Бабаев, Г. Г. Винберг, Г. А. Заварзин и др. -2-е изд., исправл. — М.: Сов. Энциклопедия, 1986. – 135с.
- 6.Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Пер. с англ. - М.: Высшая школа, 1991. - С. 119 - 122.
- 7.Инфузионная терапия и клиническое питание. Под. ред. Хлябича Г.Н. – Фрезениус АГ-ФРГ. – 1992. – 795 с.
- 8.Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник /Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Г.П. и др. Под ред. Меньшикова В.В.-М.: Медицина,1987.-386 с.
- 9.Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион. – 2000. – 320 с.
- 10.Ли В. Использование органических кислот в животноводстве, Ж. Комбикорма, 2002 г., №6, с.15-17.
- 11.Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ /Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А., Березовская Т.А. и др. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ/под общей ред. чл.-корр. РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – С. 41 – 54.
12. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними /Ю.М. Кожем'якин, О.С.Хромов, М.А.Філоненко, Г.А.Сайфетдінова – К.: Авіцена, 2002. - 156 с.
13. Современные подходы к введению показателя «Аномальная токсичность». / Неугодова Н.П., Степанюк Е.О., Сапожникова Г.А., Саканян Е.И., Рябцева М.С.// Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2020; 10(2): - С. 82–88. Режим доступа: <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-82-88>
14. Directive 2010/63/eu of the european parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used

for scientific purposes (Text with EEA relevance) Режим доступа: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063>

15. Справочник Видаль «Лекарственные средства ветеринарного назначения в России, ЗАО

«Асперфарм Сервис», Москва, 2000г., 565 с.

16. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система). Выпуск XI. – М.: «Эхо». – 2010. – 944 с.

УДК 619:618,19-002:637.115

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.2.46

ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ МАСТИТЕ ТРИОЛАКТА У ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Гамаюнов В.М.- к. б. н., доц., Онуфриев В.А.-к.вет. н., доц., Целуева Н.И. к. вет. н.
ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур»

Ключевые слова: мастит, терапия, триолакт, прималакт, эффективность, крупный рогатый скот. **Key words:** mastitis, therapy, triolact, primalact, efficiency, cattle.



РЕФЕРАТ

На животноводческих фермах и крупных комплексах молочных хозяйств Смоленской области, не смотря на выполнение профилактических мер в помещениях, их стерильности не удается добиться. Условно-патогенная микрофлора постоянно присутствует в окружающей среде коров, которая является первопричиной возникновения мастита. При снижении общей резистентности организма животных, появившиеся вирулентные микроорганизмы вызывают патологию молочной железы. Уменьшаются годовые удои, хозяйства вынуждены выбраковывать значительное количество коров.

По статистике от 40 до 60% коров в стаде болеют субклиническим и от 10 до 25% клиническим маститом. Подобный уровень заболеваемости коров маститом наблюдается и в хозяйствах Смоленской области.

Для лечения мастита часто используют на протяжении 2-3 лет один и тот же препарат, что приводит к появлению устойчивых штаммов микроорганизмов к такому лекарственному средству. Только системная ежегодная смена лечебного средства обеспечивает успешную терапию мастита.

Нами выполнен эксперимент по применению в опытной группе (n-15) нового отечественного комплексного препарата триолакта в сравнении с прималактом в контроле (n-12). Наличие в триолакте полусинтетических антибактериальных групп пенициллинов – амоксициллинов и клоксациллина, преднизалона обеспечивает широкий антибактериальный спектр действия.

Диагностику мастита выполняли, руководствуясь «Наставление по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров» - 2007 г. с использованием масттеста. В секрете из пораженных долей вымени определяли видовой состав микрофлоры.

Полученные данные эксперимента показали высокую терапевтическую эффективность вновь примененного в хозяйстве триолакта в сравнении с прималактом. За три дня выздоровели 13 коров (96,7%), что на 21,7% животных больше, чем от прималакта в контроле.

Выполненные экспериментальные исследования свидетельствуют от высокой терапевтической эффективности нового препарата триолакт в сравнении с применяемым в хозяйстве прималактом.