

## ПАРАМЕТРИ ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТОЛКОКЦИДУ НА БІЛИХ МИШАХ

М. В. Богач<sup>1</sup>, Г. А. Коваленко<sup>2</sup>, О. М. Янак<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Одеська дослідна станція ННЦ «ІЕКВМ»

<sup>2</sup>Одеський державний аграрний університет

*Доклінічними випробуваннями лікувального препарату Толкокцид за внутрішньошлункового введення білим мишам визначено, що його тривале застосування на впливало на зміну маси тіла та морфологічні і біохімічні показники крові лабораторних тварин. Зменшення кількості лімфоцитів у лейкограмі і, навпаки, зростання нейтрофілів при застосуванні його у дозах 1/50 та 1/25 DL<sub>50</sub> вказує на подразнюючий вплив збільшених доз препарату на організм білих мишей. Поступове і водночас незначне зниження лужної фосфатази в сироватці крові мишей з 64,48±2,31 Од/л до 63,27 та 62,43±2,17 Од/л свідчить про відсутність тяжких токсичних процесів зі сторони печінки, згідно чого препарат можна віднести до групи помірно токсичних речовин.*

Для лікування та профілактики паразитарних хвороб птиці і особливо хвороб, спричинених одноклітинними організмами в Україні зареєстрована достатня кількість еймеріостатиків. Однак, у ряді випадків, їх застосування не завжди дає очікуваного ефекту, так як перебіг хвороби може бути у вигляді змішаної інвазії, або з невизначеною етіологією.

Тривале застосування одних і тих же препаратів, або ж препаратів з ідентичною діючою речовиною призводить до звикання простіших і тому не завжди реєструється їх достатньо висока ефективність [1].

Відомо, що в галузі птахівництва, особливо серед птиці м'ясних порід, реєструють хвороби спричинені еймеріозною інвазією [2], гістомонозною [3], трихомонозною [4] та криптоспоридіозною [5].

Значних втрат у виробництві від загибелі молодняку, а також відставання в рості і розвитку зазнають за змішаного перебігу вказаних інвазій, а також відомо, що птиця, яка перехворіла у ранньому віці залишається носієм інвазії.

На ринку ветеринарних препаратів значним попитом користуються ті, які мають імуностимулюючу властивість, тому розробка і пошук нових препаратів залишається актуальними. Саме з цією метою створено новий вітчизняний лікувальний засіб Толкокцид (ДР Толтразурил 2,5%, 5%, розробник ННЦ «ІЕКВМ») для перорального застосування.

У процесі створення та впровадження будь-якого препарату одним із етапів є його токсикологічні дослідження зі з'ясуванням параметрів гострої та хронічної токсичності на лабораторних тваринах за умов тривалого його внутрішньошлункового введення [6].

Метою нашої роботи було в умовах експерименту визначити параметри хронічної токсичності Толкокциду на білих мишах.

**Матеріали і методи.** Визначення параметрів хронічної токсичності лікувального засобу Толкокцид проводили згідно з «Доклінічними дослідженням ветеринарних лікарських засобів» та «Методическими указаниями по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии» [7, 8].

Дослідження проведені на базі віварію Одеської дослідної станції ННЦ «ІЕКВМ» з використанням безпородних білих мишей. Згідно схеми досліду було сформовано 4 групи мишей, з яких три дослідні та контрольна (n=6).

Тваринам дослідних груп щоденно упродовж 12 діб задавали водну суміш 0,0002 дм<sup>3</sup> Толкокциду з вмістом наступних доз препарату: 1/100 DL<sub>50</sub> — 16,80 мг/кг (I група); 1/50 DL<sub>50</sub> — 33,58 мг/кг (II група); 1/25 DL<sub>50</sub> — 67,18 мг/кг (III група). Тварини IV групи слугували контролем, яким за аналогічною схемою щодобово вводили дистильовану воду у відповідній дозі.

Препарат у вищевказаних дозах вводили під час вранішньої годівлі щодобово упродовж 12 діб, натще, за допомогою зонду для лабораторних тварин. На початку та вкінці експерименту мишей з дослідних та контрольної групи зважували, а також, упродовж досліджу, вели спостереження за клінічним станом та поведінкою тварин.

З метою визначення впливу препарату Толкокциду на організм дослідних тварин на наступну добу після останнього введення лікувального засобу у мишей, за умови легкого ефірного наркозу, відбирали зразки крові для проведення гематологічних та біохімічних досліджень.

Визначали кількість еритроцитів і лейкоцитів шляхом підрахунку їх в лічильній камері Горяєва за загальноприйнятою методикою; диференційний підрахунок лейкоцитів здійснювали шляхом мікроскопії 100 клітин у мазках крові, фарбованих за Романовським-Гімза; концентрацію гемоглобіну — за загальноприйнятою методикою [9]. У сироватці крові вміст загального білку, глюкози, сечовини та лужної фосфатази визначали за біуретовою реакцією та турбідиметричним методом [10]. Біохімічні дослідження проводили на базі лабораторії біохімії Одеського військового клінічного шпиталю.

**Результати й обговорення.** Під час проведення експерименту з визначення хронічної токсичності Толкокциду упродовж 12 діб певних змін у поведінці лабораторних тварини дослідних груп, у порівнянні з мишами контрольної групи, не встановлено. Загиблих мишей у всіх групах не зареєстровано. У мишей дослідних груп, яким упродовж експерименту задавали препарат у визначеній дозі згідно фізіологічної норми зареєстровано збільшення загальної маси тіла, як і в тварин з контрольної групи. Динаміку маси тіла білих мишей за хронічної токсичності препарату наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

**Показники маси тіла білих мишей за умов визначення хронічної токсичності препарату Толкокцид (M±m, n=6)**

Групи та дози	Маса тіла, г				
	На початку досліджу		Після 12 введень		
	Загальна по групі	Середня однієї тварини	Загальна по групі	Середня однієї тварини	% зростання загальної маси
I – 1/100 DL <sub>50</sub>	115,2	19,21±0,1	122,2	20,37±0,01 *	106,0
II – 1-50 DL <sub>50</sub>	116,0	19,34±1,2	123,6	20,61±1,2	106,6
III – 1/25 DL <sub>50</sub>	114,7	19,12±0,1	123,5	20,59±1,2	107,7
IV- контрольна	115,5	19,26±1,4	122,8	20,48±0,04 *	106,3

Примітка: \* - P<0,05

За даними таблиці встановлено, що у всіх тварин відбувалось зростання маси тіла і у відсотковому відношенні воно було аналогічним майже у всіх групах 106,3 в контролі та від 106,0 до 107,7 % в I та III групах, відповідно.

По завершенню досліджу від тварин усіх груп відібрані зразки крові для морфологічних та біохімічних досліджень щодо токсичного впливу препарату Толкокцид. Результати досліджень наведені в таблицях 2 та 3.

**Морфологічні показники крові білих мишей за умов визначення хронічної токсичності препарату Толкокцид (M±m, n=6)**

Показники	Групи тварин			
	I (1/100 DL <sub>50</sub> )	II (1-50 DL <sub>50</sub> )	III (1/25 DL <sub>50</sub> )	IV контрольна
Гемоглобін, г/л	162,21±4,17 **	164,17±4,37 **	163,24±6,12	167,72±2,85
Еритроцити, Т/л	8,93±0,12 *	9,32±0,24	8,89±0,47	9,16±0,43
Лейкоцити, Г/л	8,21±0,15	7,95±0,02	8,34±1,02	7,48±0,22
Еозинофіли, %	1,11±0,12 *	0,92±0,14 *	0,93±0,22	1,12±0,11
Базофіли, %	0,32±0,01	0,67±0,11	0,84±0,12	0,32±0,02
Нейтрофіли, %	32,12±2,12	37,62±1,34	39,12±2,01	29,27±1,14
Лімфоцити, %	65,81±3,21 **	60,20±0,48	58,50±3,12	67,59±0,24
Моноцити, %	0,64±0,21	0,59±0,12	0,61±0,43	0,60±0,38

Примітка: \* - P<0,05, \*\* - P<0,01

Згідно з аналізом за морфологічними показниками крові, відмічено зниження кількості гемоглобіну у дослідних групах зі 167,72±2,65 г/л у контролі до 162,21 та 163,24±6,12 г/л в I та III групах. У лейкограмі відбулися суттєві зміни у кількісних показниках нейтрофілів, рівень яких суттєво зростав у тварин II та III груп — до 37,62±1,34% та 39,12±2,01 %, які отримували препарат у дозі 1/50 DL<sub>50</sub> та 1/25 DL<sub>50</sub>, відповідно. Водночас на фоні зростання кількості нейтрофілів реєстрували поступове зниження кількості лімфоцитів, яке було суттєвим у групах мишей з такою ж дозою препарату 1/50 DL<sub>50</sub> та 1/25 DL<sub>50</sub>.

У лейкограмі також зареєстровано незначне зменшення кількості моноцитів в усіх трьох дослідних групах тварин, однак ці зміни не були суттєвими.

**Окремі біохімічні показники сироватки крові білих мишей за умов визначення хронічної токсичності препарату Толкокцид (M±m, n=6)**

Показники	Групи тварин			
	I (1/100 DL <sub>50</sub> )	II (1-50 DL <sub>50</sub> )	III (1/25 DL <sub>50</sub> )	IV контрольна
Загальний білок, г/л	66,62±1,21	68,29±0,24	69,76±1,34	65,73±1,22
Лужна фосфатаза, Од/л	62,43±2,17	65,37±0,13	63,92±2,14	64,48±2,31
Сечовина, ммоль/л	20,42±0,04	21,17±0,02	21,98±0,01	19,76±0,02
Глюкоза, ммоль/л	8,92±0,12	8,76±0,11	9,01±0,12	8,17±0,21

За біохімічними показниками крові відмічено суттєве збільшення загального білка в II і III групах тварин, які отримували Толкокцид в дозах 1/50 DL<sub>50</sub> та 1/25 DL<sub>50</sub>, що вказує на певні зміни в синтетичній функції печінки. Поступове і водночас незначне зниження лужної фосфатази в сироватці крові мишей з 64,48±2,31 Од/л до 63,27 та 62,43±2,17 Од/л свідчить про відсутність тяжких токсичних процесів зі сторони печінки. Щодо показника сечовина, то упродовж досліду в групах тварин, яким застосовували препарат, відмічали його незначне зростання, у порівнянні із контролем. Збільшення кількості глюкози також було в дослідних групах тварин, але незначне у порівнянні з контролем. Таким чином, введення білим мишам препарату Толкокцид суттєво на вплинуло на біохімічні показники сироватки крові дослідних тварин, а їх коливання були в межах фізіологічної норми, тобто препарат не спричиняє певних порушень в обміні вуглеводів.

## ВИСНОВКИ

1. Толкокцид у дозах 1/50 DL<sub>50</sub> та 1/25 DL<sub>50</sub> призвів до незначного зниження рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів у порівнянні до контролю, але він не пригнічував еритропоез кісткового мозку. У тварин, які отримували препарат реєстрували зменшення кількості лімфоцитів і незначне зростання рівня нейтрофілів, що вказує на подразнюючий вплив збільшених доз діючих речовин Толкокциду.

2. За внутрішньошлункового введення білим мишам Толкокциду упродовж 12 діб, він не впливав на зміну маси тіла та не спричинив суттєвого впливу на біохімічні показники дослідних груп тварин і відповідно до ГОСТ 12.1.007-76 він належить до класу помірно токсичні речовини.

**Перспективи подальших досліджень.** Для завершення нормативно-технічної документації з метою комплектації реєстраційного досьє визначити параметри гострої токсичності препарату.

## OPTIONS CHRONIC TOXICITY OF TOLKOKTSYD ON WHITE MICE

*N. V. Bogach<sup>1</sup>, A. A. Kovalenko<sup>2</sup>, E. N. Yanak<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Odessa Experimental Station of NSC "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"

<sup>2</sup>Odessa State Agrarian University

## S U M M A R Y

Preclinical testing of therapeutic drug Tolkoktsyd by intragastric administration with white mice determined that its continued use in effect on the change in body weight and morphological and biochemical blood parameters in laboratory animals. Reducing the number of lymphocytes in leucogram and, conversely, an increase of neutrophils in applying it in doses of 1/50 and 1/25 DL<sub>50</sub> points to the irritant effect of increased doses of the drug on the body of white mice. Gradual while a slight decrease in alkaline phosphatase in the serum of mice with 64,48±2,31 U/l to 63,27 and 62,43±2,17 U/l indicates the absence of serious toxic processes on the part of the liver, according to which the drug can be attributed to the group of moderately toxic.

## ПАРАМЕТРЫ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ТОЛКОКЦИДА НА БЕЛЫХ МЫШАХ

*Н. В. Богач<sup>1</sup>, А. А. Коваленко<sup>2</sup>, Е. Н. Янак<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Одесская опытная станция ННЦ «ИЭКВМ»

<sup>2</sup>Одесский государственный аграрный университет

## А Н Н О Т А Ц И Я

Доклиническими испытаниями лечебного препарата Толкокцид за внутрижелудочного введения белым мышам определено, что его длительное применение не влияло на изменение массы тела и морфологические и биохимические показатели крови лабораторных животных. Уменьшение количества лимфоцитов в лейкограмме и, наоборот, рост нейтрофилов при применении его в дозах 1/50 и 1/25 DL<sub>50</sub> указывает на раздражающее действие увеличенных доз препарата на организм белых мышей. Постепенное и одновременно незначительное снижение щелочной фосфатазы в сыворотке крови мышей с

64,48±2,31 Ед/л до 63,27 и 62,43±2,17 Ед/л свидетельствует об отсутствии тяжелых токсических процессов со стороны печени, согласно чего препарат можно отнести к группе умеренно токсичных веществ.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Березовский А. В.* Современные лекарственные средства фармакокоррекции и химиопрофилактики животных [Текст] / А. В. Березовский, А. И. Поживил, А. Н. Шевченко. — Киев, 2007. — 240 с.
2. *Заїкіна Г. В.* Гельмінтозно-протозойні інвазії сільськогосподарської птиці (поширення, скринінг дезінвазійних засобів) [Текст] : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.11 / Г. В. Заїкіна ; [ННЦ «ІЕКВМ»]. — Київ, 2013. — 24 с.
3. *Богач М. В.* Кишкові інвазії індиків (поширення, діагностика, патогенез, профілактика) [Текст] : дис. ... д-ра вет. наук / М. В. Богач. — Харків, 2008. — 397 с.
4. *Богач М. В.* Особливості перебігу трихомонозної інвазії у індиків різних вікових груп [Текст] / М. В. Богач // Ветеринарна медицина: Вісник Сумського Національного аграрного університету. — Суми, 2004. — Вип. 2 (11). — С. 13–16.
5. *Blagburn, B. L.* Experimental cryptosporidiosis in broiler chickens [Text] / B. L. Blagburn, D. S. Lindsay, J. J. Giambrone // *Poult. Sci.* — 2003. — Vol. 128. — P. 442–449.
6. *Коцюмбас І.* Особливості токсикологічного контролю нових засобів для тварин [Текст] / І. Коцюмбас, О. Малик, І. Патарега // Ветеринарна медицина України. — 1998. — № 6. — С. 30–31.
7. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / За ред. І. Я. Коцюмбаса. — Львів : Тріада плюс, 2006. — 360 с.
8. *Висоцкий А.Э.* Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов применяемых в ветеринарии [Текст] / А. Э. Висоцкий, М. П. Кучинский, Ю. Я. Бирман. — Минск, 2007. — 156 с.
9. *Левченко В. І.* Ветеринарна клінічна біохімія [Текст] / В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін // За ред. В. І. Левченка і В. Л. Галяса. — Біла Церква, 2002. — 400 с.
10. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии : Справочное издание / И. П. Кондрахин, Н. В. Курилов, А. Г. Малахов и др. — М. : Агропромиздат, 1985. — 287 с.