

## ИЗУЧЕНИЕ ДЕТОКСИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ КОМБИНИРОВАННОГО ПИРЕТРОИДНОГО ПРЕПАРАТА

**Ф. Г. Гизатуллина, Э. К. Рахматуллин, Н. М. Василевский, И. Р. Кадиков**

Целью работы было изучение влияния Неостомозана на антитоксическую функцию печени лабораторных крыс и телят. Для оценки действия Неостомозана на монооксигеназную ферментную систему печени в модельном опыте на крысах использовали тиопенталовый тест по методу Д. Г. Розина (1964). В образцах крови крыс и телят определяли общепринятыми методами тимоловую пробу, концентрацию общего белка, мочевины, глюкозы, общего билирубина, креатинина и активность АсАТ, АлАТ, ЛДГ и ХЭ. Выявлено, что Неостомазан не обладает выраженной ферментиндуцирующей активностью в отношении монооксигеназной системы печени и не проявляет гепатотоксического действия, так как продолжительность «тиопенталового сна», масса печени и ее массовый коэффициент не изменились после его применения, а также сохранился уровень биохимических показателей, отражающих метаболический статус гепатоцитов. После применения телятам Неостомозана 0,1%-й концентрации вначале наблюдалось достоверное повышение активности АсАТ и тимоловой пробы соответственно на 11 % и 53,6 %, потом отмечалось достоверное повышение количества билирубина и снижение глюкозы в сыворотке крови на 48,8 и 28,8 %, соответственно. Повышение в крови активности АсАТ, количества билирубина, тимоловой пробы, снижение содержания глюкозы и незначимые изменения активности ХЭ, уровня мочевины свидетельствуют об участии клеток печени в метаболизме Неостомозана. Установлено, что препарат при однократном применении в виде купочной эмульсии 0,1%-й концентрации не вызывает у животных токсические явления и не влияет на биохимические показатели крови.

*Ключевые слова:* пиретроидный препарат, токсичность, Неостомозан, общий белок, мочевина, глюкоза, билирубин, тимоловая проба, аспаргат- и аланинаминотрансферазы (АсАТ и АлАТ), холинэстераза (ХЭ).

Проблема лекарственных поражений печени в настоящее время является одной из актуальных не только в ветеринарной медицине, но и гуманной. Это определяет значимость исследований, в которых оценивается риск развития лекарственных поражений печени при применении различных ветеринарных препаратов, особенно продуктивным животным, так как от этого зависит не только их здоровье, продуктивное долголетие, но и качество получаемой продукции.

Одной из распространенных групп инсектицидных препаратов являются пиретроиды и их синтетические аналоги [1]. Их достоинством также является наличие репеллентных свойств. Пиретроиды широко используются в ветеринарной медицине в качестве инсектоакарицидов. Однако постоянное использование данных препаратов вызывает появление в организме животных нейротоксических явлений [2, 3].

Известно, что биотрансформация большинства лекарственных веществ сопряжена

с образованием активных форм, обладающих определенными фармакологическими эффектами [4]. При этом ведущую роль в этих процессах играет печень, одна из основных функций которой – дезинтоксикационная. Некоторые вещества не детоксицируются, а наоборот токсифицируются с участием монооксигеназной системы и становятся более реакционно способными [5, 6]. При этом ведущая роль в биотрансформационных превращениях лекарственных средств принадлежит цитохрому Р450 – индикаторному ферменту монооксигеназной системы [7].

В основе токсического действия лекарственных веществ на печень лежат повреждения ее клеток и их органелл. При этом токсические свойства проявляются как за счет прямого, так и опосредованного воздействия, влияя на состояние мембранного аппарата клеток и их специфические метаболические реакции [8]. Поэтому при оценке безопасности и токсикологических

свойств препаратов широко используются биохимические показатели крови, в формировании пула которых важная роль принадлежит печени.

**Целью данной работы** было изучение влияния Неостомозана на антитоксическую функцию печени лабораторных крыс и телят для обоснования его применения в ветеринарной практике.

### Материалы и методы

В опытах использовали Неостомазан 55 г/л (тетраметрин 50 г/л + циперметрин 5 г/л) производства Seva Sante Animal (Франция). Препарат представляет собой желтоватый раствор со специфическим запахом. Неостомазан концентрат – содержит трансмикс и тетраметрин в органическом растворителе, которые действуют как нейротоксины на центральную и периферическую нервную систему паразитов. Препарат рекомендуется использовать у животных для борьбы с эктопаразитами, а также для уничтожения мух в животноводческих и подсобных помещениях [1].

Для оценки действия Неостомозана на монооксигеназную ферментную систему печени использовали тиопенталовый тест по методу Д. Г. Розина (1964). Он включает введение животных в «наркозный сон» за счет использования тиопентала (препарат для неингаляционного наркоза), длительность которого эквивалентна функциональной активности монооксигеназной ферментной системы печени [9]. Для этого нами было сформировано 5 групп из самок крыс 2-месячного возраста (15 голов), которых однократно купали в Неостомозане 0,1 % концентрации. Для купания животных контрольной группы (6 особей) использовали воду. В тиопенталовый сон крыс опытной группы вводили через 1, 3, 5 и 24 часа после применения препарата. При этом тиопентал вводился внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг массы тела. Длительность «тиопенталового сна» выражали в минутах. За точку отсчета принимали момент принятия животными «бокового положения», а за окончание – первые попытки изменить его. После «тиопенталового сна» крысы были подвергнуты эвтаназии, что позволило получить образцы крови для определения биохимических показателей и патоморфологический материал (печень), у которой определяли массу и рассчитывали ее массовую долю в организме животных.

Адекватные меры были приняты для минимизации боли или дискомфорта в исследованиях. Эксперименты проводились в соответствии с рекомендациями, установленными Международным комитетом по этике животных и Институциональным комитетом по этике, а также в соответствии с местными законами и правилами. Исследование проводилось в соответствии с этическими стандартами Институционального комитета по этике животных. Все мероприятия, проводимые в период исследования, руководствовались Правилами гуманного обращения с лабораторными животными. Все процедуры с животными проводили в соответствии с Директивой 2010/63/US от 22 сентября 2010 г. [10]. Содержание и уход за экспериментальными животными осуществляли в соответствии с «Ветеринарными правилами содержания крупного рогатого скота в целях его воспроизводства, выращивания и реализации» (Приказ Минсельхоза России от 21 октября 2020 г. № 622).

Для изучения влияния Неостомозана на функцию печени телят собраны 2 группы (опытная, контрольная), в которую вошли животные черно-пестрой породы возраста 3–4 месяцев. Телят опытной группы (7 голов) опрыскивали Неостомозаном 0,1%-й концентрации из расчета 1 л на животное, контрольной (6 голов) – опрыскивали водой.

Кровь для исследования брали у животных до опрыскивания и через 1, 5, 15 и 30 дней после него. В образцах крови лабораторных крыс и телят определяли концентрацию общего белка, мочевины, глюкозы, общего билирубина, креатинина и активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и холинэстеразы (ХЭ), используя готовые наборы реактивов [11, 12]. Тимоловая проба выполнена с раствором тимол-веронала [11, 12].

Данные экспериментальных исследований обработаны методом вариационной статистики в прикладной программе Statistica 13.3. Статистическую значимость различий определяли по величине критерия Стьюдента.

### Результаты исследования

При оценке однократного воздействия Неостомозана на организм крыс по длительности тиопенталового сна не установлено его достоверное изменение через 1, 3, 5 и 24 часа после применения препарата (табл. 1).



Животные всех экспериментальных и контрольной групп были подвергнуты эвтаназии после исследования продолжительности тиопенталового сна, у них была изучена масса печени, массовый коэффициент печени и биохимические показатели сыворотки крови.

Так, масса печени и ее весовой коэффициент у опытных крыс недостоверно отличались от контроля через 1, 3, 5 и 24 часа после применения Неостомозана (табл. 1). Совокупность данных, представленных в таблице 1, свидетельствует, что Неостомозан в организме крыс не проявил ферментиндуцирующей способности в отношении монооксигеназной системы печени, что позволило органу сохранить свои весовые характеристики.

Оценка метаболического статуса гепатоцитов, выполненная по величине биохимических показателей крови, представлена в таблице 2. В пробах крови экспериментальных животных не выявлены статистически значимые отклонения в количестве общего белка, глюкозы, билирубина, мочевины, креатинина и активности ферментов (АлАТ, АсАТ, ЛДГ) в ходе периода исследований.

Проведенный опыт показал, что препарат Неостомозан при однократном применении белым крысам в виде купочной эмульсии 0,1%-й

концентрации не проявляет гепатотоксического действия в организме животных, так как орган сохраняет свою массу и весовой коэффициент, а также белок- и мочевиносинтезирующую способность, проницаемость клеточных мембран (маркер – активность аминотрансфераз) и холестатическую функцию (билирубин). Следовательно, метаболизм и детоксикация препарата не угнетают антитоксическую функцию печени.

Оценка гепатотоксичности препарата Неостомозан выполнена и в условиях его применения у телят. Мы отмечали, что общее состояние и поведение подопытных животных не изменилось, явления угнетения, токсикоза и гибели телят отсутствовали.

После применения телятам Неостомозана 0,1%-й концентрации на 5-й день исследования наблюдалось достоверное повышение активности АсАТ и тимоловой пробы соответственно на 11% и 53,6% (табл. 3). На 15-е и 30-е сутки отмечалось достоверное повышение количества билирубина и достоверное снижение количества глюкозы в сыворотке крови на 48,8 и 28,8%, соответственно. Достоверное повышение в крови активности АсАТ, количества билирубина, тимоловой пробы, достоверное снижение количества глюкозы и незначимые

Таблица 1 – Продолжительность тиопенталового сна, масса и весовой коэффициент печени крыс после купания в Неостомозане 0,1%-ной концентрации

Показатель	Контроль	Неостомозан ( $M \pm m, P > 0,05$ )			
		I группа (ч/з 1 ч)	II группа (ч/з 3 ч)	III группа (ч/з 5 ч)	IV группа (ч/з 24 ч)
Длительность сна, мин.	23,7±0,96	24,8±0,65	23,4±0,84	24,4±0,46	22,2±0,65
Печень, г	8,58±0,80	8,64±0,84	8,48±0,91	8,74±0,86	8,48±1,02
Массовый коэффициент печени, %	4,77±0,46	4,72±0,31	4,69±0,61	4,83±0,44	4,74±0,54

Таблица 2 – Биохимический состав крови крыс, ( $M \pm m, P > 0,05$ )

Показатель	Контроль	Неостомозан			
		I группа (ч/з 1 ч)	II группа (ч/з 3 ч)	III группа (ч/з 5 ч)	IV группа (ч/з 24 ч)
Общий белок, г/л	77,7±2,4	74,5±2,43	73,9±1,93	71,1±2,42	75,3±0,5
Глюкоза, ммоль/л	4,03±0,42	3,66±0,12	4,11±0,38	3,93±0,15	4,41±0,8
Билирубин, мкмоль/л	1,76±0,26	2,00±0,10	1,83±0,68	1,77±0,09	1,83±0,27
Мочевина, ммоль/л	3,81±0,29	3,65±0,45	3,86±0,84	3,71±0,49	3,67±0,19
Креатинин, мкмоль/л	64±3,85	59,3±2,03	62,3±4,1	61,7±0,67	62,8±3,38
АлАТ, Е/л	108,3±9,1	108,3±12,3	111,7±4,37	115,3±8,95	114,3±2,89
АсАТ, Е/л	310,3±18,1	308±15,5	318,3±24,7	312,7±53,7	360,7±172
ЛДГ, Е/л	3211±154,4	3152±400,1	3463±534	3337,7±662	3468,7±199

изменения активности ХЭ, количества мочевины свидетельствуют об участии печени в метаболизме Неостомозана. Недостовверное снижение количества билирубина в сыворотке крови на 1-е и 5-е сутки и повышение его на 15-е и 30-е сутки и изменения тимоловых проб свидетельствуют об участии клеток печени в организме телят в метаболизме Неостомозана.

В литературе имеются данные о том, что повышение активности аминотрансфераз в 1,5–5 раз по сравнению с нормой соответствует «умеренной гиперферментемии», в 6–10 раз – «гиперферментемии средней степени» и более в 10 раз «высокой гиперферментемии». Степень подъема активности аминотрансфераз свидетельствует о выраженности цитолитического синдрома [13]. Уровень повышения концентрации ферментов переаминирования в крови телят не соответствовал данной дифференциации, что можно расценивать как отсутствие выраженного цитолитического синдрома со стороны гепатоцитов и, соответственно, нарушений функций печени.

По данным литературы, при гепатоцеллюлярной форме поражения печени происходит повышение АлАТ более чем в 2 раза относительно верхней границы нормы [14].

Согласно классификации лекарственного поражения печени по степени тяжести (по G.P. Aithal et al., 2011) [15], повышение активности АлАТ или ЩФ и уровня общего билирубина менее 2 ВПН (верхний предел в норме) свидетельствует о легкой степени тяжести поражения печени [16].

Исследование показало, что при применении животным потенциально гепатотоксичных лекарственных препаратов целесообразно определять в сыворотке крови активность аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы и холинэстеразы, тимоловую пробу и уровень билирубина. Это позволит выявлять возможные токсические эффекты лекарственных препаратов.

### Выводы

В модельном опыте на лабораторных крысах препарат Неостомозан при однократном применении в виде купочной эмульсии 0,1%-й концентрации не вызывает у животных токсические явления и не влияет на биохимические показатели крови. Установлено, что препарат не обладает выраженной ферментиндуцирующей активностью в отношении монооксигеназной системы печени. Неостомозан не проявил гепатотоксического действия, так как продол-

Таблица 3 – Биохимический состав крови телят после применения Неостомозана 0,1%-ной концентрации ( $M \pm m$ ,  $P > 0,05$ )

Показатель	После введения, сут.			
	1	5	15	30
Общий белок, г/л	$\frac{68,00 \pm 0,93}{66,30 \pm 0,67}$	$\frac{67,80 \pm 0,84}{66,30 \pm 1,16}$	$\frac{66,50 \pm 0,46}{67,00 \pm 1,16}$	$\frac{69,70 \pm 0,68}{71,00 \pm 2,00}$
АсАТ, Ед/л	$\frac{22,70 \pm 0,80}{21,80 \pm 1,80}$	$\frac{27,20 \pm 1,00^*}{24,60 \pm 0,60}$	$\frac{29,50 \pm 0,90}{20,40 \pm 4,70}$	$\frac{28,00 \pm 1,60}{28,40 \pm 1,90}$
АлАТ, Ед/л	$\frac{21,10 \pm 0,90}{19,80 \pm 2,40}$	$\frac{24,20 \pm 1,10}{21,40 \pm 0,80}$	$\frac{29,80 \pm 1,30}{22,40 \pm 3,90}$	$\frac{28,30 \pm 1,60}{25,40 \pm 2,40}$
Глюкоза, ммоль/л	$\frac{2,42 \pm 0,24}{2,87 \pm 0,32}$	$\frac{2,34 \pm 0,14}{2,10 \pm 0,10}$	$\frac{2,08 \pm 0,14}{2,13 \pm 0,12}$	$\frac{2,47 \pm 0,21^*}{3,47 \pm 0,23}$
Билирубин, мкмоль/л	$\frac{7,63 \pm 0,66}{9,63 \pm 1,13}$	$\frac{8,50 \pm 0,64}{9,07 \pm 0,57}$	$\frac{8,93 \pm 0,62^*}{6,00 \pm 0,10}$	$\frac{8,99 \pm 0,81}{7,37 \pm 0,57}$
Мочевина, ммоль/л	$\frac{2,28 \pm 0,36}{2,40 \pm 0,21}$	$\frac{5,31 \pm 0,30}{4,40 \pm 0,87}$	$\frac{3,29 \pm 0,23}{3,00 \pm 0,15}$	$\frac{3,96 \pm 0,35}{3,93 \pm 0,30}$
Холинэстераза, Ед/л	$\frac{234,90 \pm 23,60}{210,40 \pm 12,90}$	$\frac{202,10 \pm 17,00}{216,80 \pm 35,10}$	$\frac{177,40 \pm 13,70}{219,20 \pm 14,80}$	$\frac{234,30 \pm 16,70}{195,20 \pm 21,00}$
Тимоловая проба, ед.	$\frac{0,31 \pm 0,02}{0,33 \pm 0,06}$	$\frac{0,43 \pm 0,03^*}{0,28 \pm 0,02}$	$\frac{0,26 \pm 0,01}{0,27 \pm 0,02}$	$\frac{0,35 \pm 0,05}{0,38 \pm 0,11}$

Примечание: 1. В числителе – опытная группа, в знаменателе – контрольная. 2. \* –  $P > 0,05$  – между опытной и контрольной группой.



жительность тиопенталового сна, масса печени и ее массовый коэффициент не изменились после его применения, а также сохранился уровень биохимических показателей, отражающих метаболический статус гепатоцитов. Аналогичные данные были получены и при применении препарата телятам. Достоверное повышение в крови активности АсАТ, количества билирубина, тимоловой пробы, достоверное снижение количества глюкозы и незначимые изменения активности ХЭ, количества мочевины свидетельствуют об участии клеток печени в организме телят в метаболизме Неостомозана. Это подтверждает вывод, что Неостомозан не оказывает гепатотоксического действия при применении телятам.

Полученные данные опытов на белых крысах и телятах свидетельствуют о том, что при метаболизме и детоксикации препарат не угнетает антитоксическую функцию печени. По результатам исследования можно сделать обоснованное заключение о том, что Неостомозан является безопасным и не оказывает токсического действия на печень.

#### Список литературы

1. Набиев Ф. Г., Ахмадеев Р. Н. Современные ветеринарные лекарственные препараты. 2-е изд., перераб. СПб. : Лань, 2011. 816 с.
2. Клинические проявления, лечение и отдаленные последствия острых отравлений синтетическими пиретроидами / Г. М. Балан [и др.] // Современные проблемы токсикологии. 2004. № 2. С. 21–25.
3. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Risk Assessment: Case Study With Pyrethroids / P. Mallick [et al.] // Toxicol Sci. 2020. № 176 (2). P. 460–469. DOI: 10.1093/toxsci/kfaa070. PMID: 32421774; PMCID: PMC7416317.
4. Состояние детоксирующей системы печени при применении «Стартин-фито» / Э. К. Рахматуллин, О. Д. Скляр, Ф. Г. Гизатуллина, С. Г. Курин // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2021. № 2. С. 60–63.
5. Кулинский В. И. Обезвреживание ксенобиотиков // Соросовский образовательный журнал. 1999. № 1. С. 8–12.
6. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия – Taschenatlas der Biochemie. М. : Мир, 2000. 470 с.
7. Осипенко Б. Г. Цитохром Р-450 в проблеме токсического повреждения печени // Сибирский медицинский журнал. 1994. № 1, 2. С. 16–18.
8. Логинов А. Ф., Буторова Л. И., Логинов В. А. Лекарственные поражения печени: диагностика, лечение // Российский медицинский журнал. 2016. № 11. С. 721–727.
9. Розин Д. Г. Сравнительная оценка токсичности хлорпроизводных углеводов жирного ряда по гексеналовому тесту на белых мышцах // Фармакология и токсикология. 1964. № 5. С. 613–614.
10. 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, L 276/52.
11. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В. В. Меньшиков [и др.] ; под ред. В. В. Меньшикова. М. : Медицина, 1987. С. 174–275.
12. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник / И. П. Кондрахин [и др.] ; под ред. проф. И. П. Кондрахина. М. : КолосС, 2004. С. 88.
13. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. 800 с.
14. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. 760 с. Режим доступа : <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970431023.html> (дата обращения: 27.04.2021).
15. Review. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury / G. P. Aithal [et al.] // Clin Pharmacol Ther. 2011. № 89 (6). P. 806–15.
16. Лекарственные поражения печени (клинические рекомендации для врачей) / В. Т. Ивашкин [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2019. № 29 (1). С. 101–131. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-1-101-131>.

**Гизатуллина Фирдаус Габдрахмановна**, д-р биол. наук, доцент, ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный аграрный университет.

E-mail: [gizatullina-f@mail.ru](mailto:gizatullina-f@mail.ru).

**Рахматуллин Эмиль Касымович**, д-р ветеринар. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории техногенных экотоксикантов, ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

E-mail: amil59@yandex.ru.

**Василевский Николай Михайлович**, д-р ветеринар. наук, профессор, заместитель директора по научной работе и инновационному развитию, ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

E-mail: vnickm@list.ru.

**Кадиков Ильнур Равилевич**, д-р биол. наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией техногенных экотоксикантов, ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

E-mail: cir6@yandex.ru.

\* \* \*