

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-3-78-82  
УДК 619:615.065:615.33/375:636.028

### ВЛИЯНИЕ ГЕНТАБИФЕРОНА-Б НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК В ПОДОСТРОМ ОПЫТЕ

Грицюк В.А. ORCID iD 0000-0002-5520-7303, Востроилова Г.А. ORCID iD 0000-0002-2960-038X,  
Хохлова Н.А. ORCID iD 0000-0001-6861-2554, Карташов С.С. ORCID iD 0000-0003-0740-0421  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,  
фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

*В статье приведены данные по изучению влияния гентабиферона-Б на функциональное состояние почек самцов белых крыс при длительном введении препарата в течение 21 суток. Установлено, что применение гентабиферона-Б в дозах 1/50 и 1/20 LD<sub>50</sub> не оказывало существенного влияния на функцию почек по показателям спонтанного и индуцированного диуреза, концентрации мочевины и креатинина, не выявлено значимых изменений и при патоморфологическом исследовании. У крыс после курса введения гентабиферона-Б в дозе 1/10 LD<sub>50</sub> по вышеуказанным показателям отмечены достоверные изменения относительно группы контроля. Однако все они носили обратимых характер, что подтверждается результатами исследований через 10 дней после отмены препарата. **Ключевые слова:** гентабиферон-Б, нефротоксичность, подострый эксперимент, почки, диурез, мочевина, креатинин.*

### EFFECT OF GENTABIFERON-B ON THE FUNCTIONAL STATUS OF KIDNEYS IN SUBACUTE EXPERIMENT

Gritsyuk V.A., Vostroilova G.A., Khokhlova N.A., Kartashov S.S.  
FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",  
Voronezh, Russian Federation

*The article presents data on the study of the effect of gentabiferon-B on the functional status of kidneys in white rat males with prolonged administration of the drug for 21 days. It was found that the administration of gentabiferon-B at doses of 1/50 and 1/20 LD<sub>50</sub> did not have a significant effect on renal function in terms of spontaneous and induced diuresis, urea and creatinine concentrations, and no significant changes were revealed by pathomorphological examination. In rats, after a course of gentabiferon-B administration at a dose of 1/10 LD<sub>50</sub>, according to the above mentioned indicators, there were registered significant changes relative to the control group. However, all of them were reversible, which was confirmed by the results of studies 10 days after the drug withdrawal. **Keywords:** gentabiferon-B, nephrotoxicity, subacute experiment, kidneys, diuresis, urea, creatinine.*

**Введение.** Проблема наличия у лекарственных средств побочного действия существует и, по-видимому, будет существовать всегда, так как создание препаратов, действующих строго селективно на определенные органы и ткани, вряд ли достижимо [1].

При разработке нового лекарственного препарата, в том числе и ветеринарного назначения, неотъемлемой частью доклинических исследований является оценка его безопасности, выявление органов-мишеней и наличия возможного побочного действия [2].

Риск развития нежелательных эффектов может варьировать в зависимости от вида животного, половозрастной группы, также имеют значение доза и длительность курса применения лекарственного средства, что связано с возможностью кумуляции некоторых веществ в организме.

Для многих групп фармакологических веществ существует определенный перечень вызываемых ими побочных эффектов, а также факторов, обуславливающих их возникновение. Наличие таких эффектов подробно описано и для антибиотиков группы аминогликозидов, которые из-за преимущественно ренального пути элиминации потенциально нефротоксичны [1]. Одним из представителей аминогликозидов является бактерицидный антибиотик широкого спектра действия - гентамицин. В механизме развития нефротоксического эффекта гентамицина выделяют фармакокинетический аспект, связанный с процессами транспорта препарата в зону развития нефротоксического действия – корковый слой почек – лизосомы; и фармакодинамический, включающий взаимодействие гентамицина с лизосомами и другими органеллами клеток проксимальных извитых канальцев почек [3]. Клинически нефротоксическое действие гентамицина сопровождается протеинурией, уменьшением диуреза и снижением клубочковой фильтрации. При этом нефротоксический эффект гентамицина является дозозависимым, возрастающей с увеличением дозы и сроков применения препарата [4-6].

Спектр возможных побочных эффектов гентамицина необходимо учитывать и при создании комплексных препаратов, в состав которых он будет входить. Например, при комбинировании

интерферонов с антибактериальными субстанциями в одной лекарственной форме были получены препараты, обладающие полифармакологическими эффектами [7]. Одним из таких препаратов является «Гентабиферон-Б», разработанный в ООО «Научно-производственный центр «ПроБиоТех», Беларусь, содержащий в своем составе 0,04 г гентамицина сульфата по действующему веществу и не менее  $1 \times 10^4$  ТЦД 50 суммарной противовирусной активности смеси белков альфа- и гамма-интерферона бычьего рекомбинантного в 1 мл.

**Целью** нашей работы являлось изучение влияния гентабиферона-Б на функциональное состояние почек белых крыс в подостром эксперименте.

**Материалы и методы исследований.** Оценка влияния гентабиферона-Б на функциональное состояние почек было проведено в рамках исследования токсичности препарата в подостром опыте. Все процедуры с животными, предусмотренные в исследовании, были предварительно рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» до начала экспериментальной работы и соответствовали правилам, принятым в European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986; Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях; Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington (DC), 1996; Этическом кодексе ветеринарного врача Российской Федерации, рекомендованном на XIII Московском Международном Ветеринарном Конгрессе Ассоциации практикующих ветеринарных врачей России, 2005 г.

Моделирование подострой токсичности гентабиферона-Б было осуществлено в соответствии с [8] на белых крысах-самцах ( $n=60$ ) с массой тела 160-180 г при внутримышечном введении препарата в течение 21 дня. Препарат применяли в дозах 0,18 мл/кг; 0,45 мл/кг и 0,90 мл/кг массы тела (1/50; 1/20; 1/10 дозы от  $LD_{50}$ , установленной в опыте по изучению острой токсичности). Подопытные животные были разделены на группы по 15 голов.

В качестве препарата сравнения использовали гентамицина сульфат 4% (производитель ООО НПП «Агрофарм, Россия, серия 010219), который вводили внутримышечно крысам-самцам с массой тела 160-180 г ( $n=15$ ) в течение 21 дня в дозе 0,80 мл/кг (1/10 от  $LD_{50}$ , установленной в остром опыте).

В эксперименте использовали группу контроля ( $n=15$ ), животным которой аналогичным способом в эквивалентном объеме вводили стерильный изотонический раствор натрия хлорида.

Группы животных были обозначены следующим образом: контроль, группа 1 (гентабиферон-Б - 0,18 мл/кг), группа 2 (гентабиферон-Б - 0,45 мл/кг), группа 3 (гентабиферон-Б - 0,90 мл/кг), группа 4 (гентамицина сульфат 4% - 0,80 мл/кг).

Функцию почек у крыс, получавших гентабиферон-Б и гентамицина сульфата 4% в течение 21 дня, оценивали по состоянию спонтанного суточного диуреза и диуреза, индуцированного водной нагрузкой, содержанию в моче белка, глюкозы, крови, лейкоцитов.

Спонтанный диурез изучали в обменных клетках с подачей воды и корма при температуре  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Регистрировали количество суточной мочи, которую подвергали химическому и микроскопическому анализу.

Для оценки диуретической функции почек методом водной нагрузки крысам-самцам интрагастрально вводили теплую водопроводную воду ( $38^{\circ}\text{C}$ ) в объеме 3 мл/100 г и за каждый час на протяжении последующих 5 часов регистрировали объем выделяемой мочи, который выражали в % к объему введенной воды.

Для исследования внутренних органов часть грызунов из каждой группы подвергали эвтаназии передозировкой углекислого газа в специальной камере через 14 дней, 21 сутки от начала опыта и через 10 дней восстановительного периода. В эти же сроки проводили биохимический анализ крови для изучения концентрации мочевины и креатинина, которые определяли наборами фирмы «Витал» (г. Санкт-Петербург, Россия).

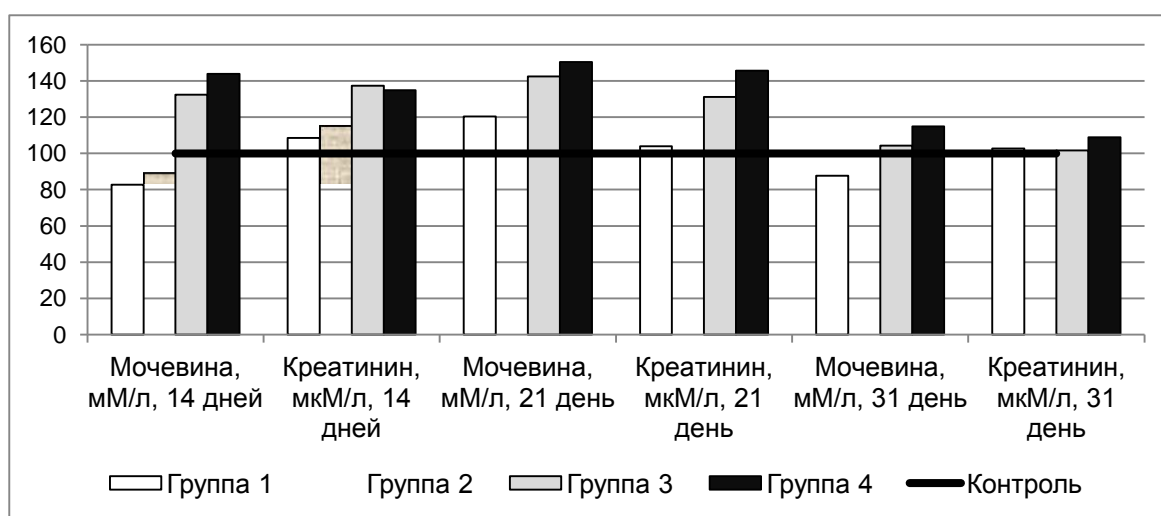
**Результаты исследований.** Результаты эксперимента, представленные в таблице 1, показывают, что длительное (21 день) введение гентабиферона-Б в дозах 0,18 и 0,45 мл/кг не оказывает существенного влияния на функцию почек, оцениваемую по спонтанному и индуцированному диурезу. Относительная плотность мочи у этих животных также не претерпевала изменений. В суточной моче подопытных и контрольных животных глюкоза и белок определялись в следовых количествах; проба на билирубин, кровь и лейкоциты была отрицательной.

**Таблица 1 – Влияние длительного введения гентабиферона-Б и гентамицина сульфата 4% на спонтанный суточный диурез и на динамику диуреза, индуцированного водной нагрузкой у крыс (n=5)**

Дозы, мл/кг	Объем суточной мочи, мл/100 г	Объем диуреза в % к объему введенной воды		
		1 час	3 часа	5 часов
Контроль	3,75±0,36	34,0±3,0	72,1±4,9	97,3±5,8
Группа 1	3,68±0,64	33,4±4,5	73,4±5,2	98,5±4,3
Группа 2	3,81±0,27	34,2±3,7	71,6±5,0	98,1±5,6
Группа 3	3,36±0,28	32,1±3,7	66,0±4,9	91,2±5,0
Группа 4	2,75±0,25*	30,0±3,2	60,5±5,1	82,9±6,1

Примечание. \* -  $P < 0,05$  по сравнению с контролем.

Об отсутствии патологического влияния препарата в дозах 0,18 и 0,45 мл/кг (группы 1 и 2) на функцию почек свидетельствуют также данные клинической биохимии крови по определению концентрации мочевины и креатинина (рисунок 1), отражающие функциональное состояние этого органа. Не выявлено почечной патологии и при патоморфологическом исследовании.

**Рисунок 1 – Динамика изменения концентрации мочевины и креатинина в крови у подопытных крыс в течение эксперимента**

Диурез у животных из группы 3 после курса внутримышечного введения гентабиферона-Б в дозе 0,90 мл/кг снизился, хотя и недостоверно (таблица 1). Уровни креатинина и мочевины в сыворотке крови у подопытных животных, характеризующие функциональное состояние почек, на 21 день опыта возросли по сравнению с контрольными величинами на 31,1% и 43,5%, соответственно. Однако среднее значение этих показателей не выходило за верхние границы нормы для данного вида животных. Через 10 дней после последнего введения препарата данные показатели у опытных животных восстанавливались до физиологических значений.

У животных группы 4, получавших гентамицина сульфат 4%, отмечено достоверное снижение объема суточной мочи на 26,7% относительно группы контроля (таблица 1). Снижение диуреза обусловлено как снижением клубочковой фильтрации, так и увеличением реабсорбции воды. На 21-е сутки эксперимента уровни креатинина и мочевины в сыворотке крови у крыс данной группы возросли по сравнению с показателями в группе контроля на 45,6% и 50,4%, соответственно. Через 10 дней восстановительного периода уровни мочевины и креатинина оставались выше таковых в контрольной группе на 14,9 и 8,9%, соответственно, что свидетельствует о более выраженном нефротоксическом действии гентамицина сульфата 4% по сравнению с комплексным препаратом «Гентабиферон-Б».

Следует отметить тот факт, что при применении гентабиферона-Б в дозе 0,90 мл/кг массы тела происходило достоверное увеличение массы почек во все сроки исследования (таблица 2). Так коэффициент массы почек опытных крыс по сравнению с контролем на 14 день опыта был выше на 14,7%. Через 21 день это увеличение было более значительным – на 22,6%. Эти данные говорят о том, что основным органом-мишенью являются почки.

При применении гентамицина сульфата 4% на 14-е сутки эксперимента отмечено достоверное увеличение коэффициента массы почек опытных крыс по сравнению с контролем на 18,7%, на 21 сутки – на 28,3% (таблица 2).

Через 10 дней восстановительного периода во всех группах у крыс отмечали уменьшение значений коэффициентов массы почек. При этом в группе с препаратом сравнения это значение было на 18,1% выше, чем в группе контроля, но изменения были недостоверными. В целом данная тенденция свидетельствует об обратимости изменений в почках у лабораторных крыс, вызванных действием гентамицина сульфата 4% и препарата «Гентабиферон-Б».

**Таблица 2 - Коэффициент массы почек подопытных крыс при многократном внутримышечном введении гентабиферона-Б и гентамицина сульфата 4%**

Контроль	Группы подопытных крыс			
	1	2	3	4
Через 14 дней				
6,05±0,14	6,02±0,11	6,28±0,21	6,94±0,17*	7,18±0,22**
Через 21 день				
5,93±0,24	6,20±0,21	6,32±0,28	7,27±0,43*	7,61±0,30**
Через 31 день				
5,90±0,67	5,94±1,12	5,86±1,17	6,02±0,73	6,97±0,45

Примечание. \* -  $P < 0,05$ - $0,001$  по сравнению с контролем.

При гистологическом исследовании микропрепаратов почек крыс в группах 1 и 2 значимых морфологических изменений не установлено. В группе 3 в почках крыс наблюдались гиперемия в периклубочковой зоне, зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев и гомогенизация цитоплазмы канальцевого эпителия. Выявленные некробиотические изменения в почках у крыс в группе 4 были аналогичными, но более выраженными. Таким образом, поражение нефрона происходило как на клубочковом, так и на канальцевом уровне. Следствием такого поражения является нарушение способности почек к осмотическому разведению мочи и выведению воды в целом.

Однако при гистологическом исследовании образцов почек от крыс групп 3 и 4 через 10 дней восстановительного периода установлено, что вышеуказанные патоморфологические изменения обратимы.

**Заключение.** Результаты, полученные в ходе выполнения работы, свидетельствуют о том, что включение альфа- и гамма-интерферонов в состав препарата «Гентабиферон-Б» с целью повышения эффективности антибактериальной терапии способствует снижению побочных эффектов гентамицина в плане его нефротоксического действия за счет возможного сокращения курса применения лекарственного средства. Что в свою очередь снижает нагрузку на почки – орган-мишень для токсического действия гентамицина.

**Conclusion.** The results obtained during the work also indicate that the inclusion of alpha-and gamma-interferons in the composition of the drug gentabiferon-B in order to increase the effectiveness of antibacterial therapy, helps reduce the side effects of gentamicin in terms of its nephrotoxic effect, due to a possible reduction in the course of use of the drug. This, in turn, reduces the load on the kidneys – the target organ for the toxic effect of gentamicin.

**Список литературы.** 1. Постников С.С. (2008). Токсические эффекты антибиотиков. Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. 87 (2):111-16. 2. Енгальчева Г.Н. и др. (2019). Стандарты качества доклинических фармакологических исследований. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 9(4):248–255. DOI: 10.30895/1991-2919-2019-9-4-248-255. 3. Бушма, К. М. и др. (2009). К вопросу о нефротоксичности аминогликозидов. Новости хирургии. 17 (1): 157-162. 4. Гоженко А.И. и др. (2005). Ренальные дисфункции у белых крыс после однократного введения гентамицина. Нефрология. 9(4):75-79. DOI: 10.24884/1561-6274-2005-9-4-75-79. 5. Hosaka E.M. et al. (2004). Effect of cyclooxygenase inhibitors on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Braz J Med Biol Res 37(7):979-85. DOI: 10.1590/S0100-879X2004000700006. 6. Martínez-Salgado C. et al. (2004). Gentamicin treatment induces simultaneous mesangial proliferation and apoptosis in rats. Kidney Int. 65(6):2161-71. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2004.00642.x. 7. Ческидова Л.В. и др. (2019). Перспективные направления создания лекарственных средств нового поколения для животных с применением биотехнологий (обзор). Ветеринарный фармакологический вестник. 2 (7): 29-38. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.2.29. 8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012). Москва: Гриф и К. 944с.

**References.** 1. Postnikov S.S. (2008). Toksicheskie efekty antibiotikov. Pediatriya. Zhurnal im. G. N. Speranskogo. 87 (2):111-16. 2. Engalycheva G.N. et al. (2019). Standarty kachestva doklinicheskikh farmakologicheskikh issledovaniy. Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. 9(4):248–255. DOI: 10.30895/1991-2919-2019-9-4-248-255. 3. Bushma, K.M. et al. (2009). K voprosu o nefrotoksichnosti aminoglikozidov. Novosti khirurgii. 17 (1): 157-162. 4. Gozhenko A.I. et al. (2005). Renal'nye disfunktsii u belykh krysv posle odnokratnogo vvedeniya gentamitsina. Nefrologiya. 9(4):75-79. DOI: 10.24884/1561-6274-2005-9-4-75-79. 5. Hosaka E.M. et al. (2004). Effect of cyclooxygenase inhibitors on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Braz J Med Biol Res 37(7):979-85. DOI: 10.1590/S0100-879X2004000700006. 6. Martínez-Salgado C. et al. (2004). Gentamicin treatment induces simultaneous mesangial proliferation and apoptosis in rats. Kidney Int. 65(6):2161-71. DOI: 10.1111/j.1523-

1755.2004.00642.x. 7. Cheskidova L.V. et al. (2019). Advanced research directions of creation of new generation medicines for animals with application of biotechnologies (review). *Bulletin of veterinary pharmacology*. 2 (7): 29-38. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.2.29. 8. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* (2012). Moskva: Grif i K. 944p.

Поступила в редакцию 05.08.2021.

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-3-82-85

УДК 619:577.1:615.37:618.19-002.1:636.2

## ОКСИДАНТНЫЙ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС КОРОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МАСТИТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТА «АМСФ»

**Зимников В.И. ORCID iD 0000-0002-6371-7143, Климов Н.Т. ORCID iD 0000-0001-9151-2746, Павленко О.Б. ORCID iD 0000-0001-9086-9241, Ческидова Л.В. ORCID iD 0000-0003-0196-1754, Ермолова Т.Г. ORCID iD 0000-0002-3695-8494**

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

*Заболевание коров клинически выраженным катаральным маститом сопровождается интенсификацией процессов перекисного окисления липидов и высоким уровнем эндогенной интоксикации. Этиотропная терапия с использованием синулокса LC способствовала возрастанию активности системы антиоксидантной защиты, снижению уровня окислительного стресса и эндогенной интоксикации. Наиболее выраженные изменения в про- и антиоксидантном статусе отмечены при совместном применении антимикробного препарата «Синулокс LC» и «АМСФ». Дополнительное включение в схему лечения препарата «АМСФ» обеспечило снижение содержания в крови малонового диальдегида на 36,3% ( $P<0,0001$ ), молекул средней массы – на 34,2% ( $P<0,0001$ ), средне-молекулярных пептидов – на 37,4% ( $P<0,0001$ ) и индекса эндогенной интоксикации – на 27,7% ( $P<0,01$ ), при повышении концентрации витамина А на 37,4% ( $P<0,005$ ), витамина Е – на 27,9% ( $P<0,005$ ) и витамина С – на 38,0% ( $P<0,05$ ), активности каталазы – на 42,9% ( $P<0,01$ ) и глутатионпероксидазы – на 37,4% ( $P<0,01$ ), что клинически подтверждается повышением терапевтической эффективности. **Ключевые слова:** коровы, мастит, система ПОЛ-АОЗ, эндогенная интоксикация, препарат «АМСФ».*

## OXIDANT AND ANTIOXIDANT STATUS OF COWS IN TREATMENT OF MASTITIS USING THE DRUG “AMSF”

**Zimnikov V.I., Klimov N.T., Pavlenko O.B., Cheskidova L.V., Ermolova T.G.**  
FSBSI “All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy”,  
Voronezh, Russian Federation

*The disease of cows with clinically pronounced catarrhal mastitis is accompanied by an intensification of the processes of lipid peroxidation and a high level of endogenous intoxication. Etiotropic therapy using the drug Synulox LC contributed to an increase in the activity of the antioxidant defense system, a decrease in the level of oxidative stress and endogenous intoxication. The most pronounced changes in the pro- and antioxidant status were noted when the antimicrobial drug Sinulox LC and the drug “AMSF” were used together. The additional inclusion of the drug “AMSF” in the treatment regimen provided a decrease in the content of malondialdehyde in the blood by 36.3%, medium-weight molecules – by 34.2% ( $P<0,0001$ ), medium molecular peptides – by 37.4% ( $P<0,0001$ ) and endogenous intoxication index – by 27.7% ( $P<0,01$ ), an increase in vitamin A concentration – by 37.4% ( $P<0,005$ ), vitamin E – by 27.9% ( $P<0,005$ ) and vitamin C – by 38.0% ( $P<0,05$ ), catalase activity – by 42.9% ( $P<0,01$ ) and glutathione peroxidase activity – by 37.4% ( $P<0,01$ .) This was clinically confirmed by an increase in therapeutic efficacy. **Keywords:** cows, mastitis, LPO-AOD system, endogenous intoxication, drug “AMSF”.*

**Введение.** Пероксидное, или свободно-радикальное, окисление липидов (ПОЛ) на сегодняшний день рассматривается как один из доминирующих метаболических процессов, обеспечивающих регуляцию функциональной деятельности физиологических систем организма, а также как индуктор оксидативного стресса свободнорадикальной патологии. При этом реакции пероксидного окисления служат основным источником энергии, необходимой для жизнедеятельности, а также показателем устойчивости метаболических реакций в организме [1, 2].

Установлено, что образование, накопление и утилизацию продуктов свободнорадикального окисления контролирует система антиоксидантной защиты, включающая в себя ферментативные и неферментативные звенья. При этом система антиоксидантной защиты ограничивает процессы свободнорадикального окисления липидов и поддерживает его на оптимальном уровне, контролируя содержание в организме активных форм кислорода, свободных радикалов и молекулярных продуктов ПОЛ [3, 4].

Истощение различных звеньев антиоксидантной системы у больных коров приводит к свободнорадикальному окислению и накоплению в организме токсических продуктов пероксидации, которые