

DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-3-130-133

УДК 631.528.1:577.182.22:636.028

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «ДИОМАСТ-КРС»**

**Востроилова Г.А. ORCID ID 0000-0002-2960-038X, Грицюк В.А. ORCID ID 0000-0001-7457-3774, Шабанов Д.И. ORCID ID 0000-0002-1574-1317, Корчагина А.А. ORCID ID 0000-0002-8561-417X, Голоднова О.А. ORCID ID 0000-0003-3549-6934**

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

*В статье представлены результаты исследования мутагенной активности двухкомпонентного препарата «Диомаст-КРС» (компонент 1 - бычьи рекомбинантные цитокины и витамин А; компонент 2 - диоксидин и витамин А) и его компонентов по отдельности при однократном введении посредством постановки микроядерного теста. Для проведения эксперимента были отобраны белые лабораторные мыши (n=36), которых распределили в 6 групп, по 6 особей в каждой. Было установлено, что однократное применение препарата «Диомаст-КРС» в терапевтической и высокой дозе (1/10 от LD<sub>50</sub>) не вызывает статистически значимых отклонений в количестве микроядер и проценте содержания полихроматофильных эритроцитов в костном мозге белых лабораторных мышей относительно контрольных значений. Компоненты препарата, примененные по отдельности, также не вызвали изменения цитогенетической стабильности в клетках костного мозга мышей. Таким образом, препарат «Диомаст-КРС» не обладает выраженным мутагенным действием в испытанных дозах. **Ключевые слова:** диомаст-КРС, интерфероны, диоксидин, витамин А, мыши, микроядерный тест, полихроматофильные эритроциты.*

**STUDY OF POTENTIAL MUTAGENIC PROPERTIES OF THE DRUG DIOMAST-KRS**

**Vostroilova G.A., Gritsyuk V.A., Shabanov D.I., Korchagina A.A., Golodnova O.A.**  
FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",  
Voronezh, Russian Federation

*The article presents the results of studying mutagenic activity of the two-component drug Diomast-KRS (component 1 - recombinant bovine cytokines and vitamin A, component 2 - dioxidine and vitamin A), and its components separately with a single injection by means of a micronucleus test. White laboratory mice (n=36) were selected for the experiment. They were divided into 6 groups, 6 individuals in each one. It has been found that a single use of the drug Diomast-KRS at therapeutic and high doses (1/10 of LD<sub>50</sub>) does not cause statistically significant deviations in the number of micronuclei and the percentage of polychromatophilic erythrocytes in the bone marrow of white laboratory mice relative to the control values. The components of the drug used separately also did not cause changes in cytogenetic stability in the bone marrow cells of mice. Thus, the drug Diomast-KRS does not have a pronounced mutagenic effect at the tested doses. **Keywords:** Diomast-KRS, interferons, dioxidine, vitamin A, mice, micronucleus test, polychromatophilic erythrocytes.*

**Введение.** В современной ветеринарной медицине, в частности, фармакологии, все большее место занимают комплексные препараты, постепенно вытесняя с рынка монопрепараты. Данная тенденция полностью оправдывает себя, ввиду того, что именно комбинированные лекарственные средства способны воздействовать не только на определенный орган (локально), но и на весь организм в целом, тем самым обеспечивая максимальный терапевтический эффект в короткие сроки. Исследуемый нами двухкомпонентный препарат «Диомаст-КРС» разработан ООО НПЦ «ПроБиоТех», его особенностью является то, что компонент 1 вводят парентерально, компонент 2 — внутривенно. В качестве действующего вещества в компоненте 1 выступают бычьи рекомбинантные цитокины (ИФН-α и -γ) суммарной активностью не менее  $1,0 \cdot 10^4$  МЕ/см<sup>3</sup> и витамин А в концентрации 75000 МЕ/см<sup>3</sup>, в 1 см<sup>3</sup> компонента 2 содержится 10 мг диоксидина и витамин А в концентрации 75000 МЕ [1].

В состав компонента 1 включены молекулы ИФН-α и -γ, которые характеризуются чрезвычайно высокой активностью, что позволяет использовать относительно невысокие дозировки в конечных формах препаратов, ИФН в высокой концентрации обладает ярко выраженным антипролиферативным действием, кроме того, введение экзогенного ИФН в высокой концентрации ингибирует выработку в организме собственного ИФН. При введении же более низких терапевтических концентраций ИФН действует как аутоиндуктор, стимулируя выработку организмом собственных защитных белков. Достаточно высокий уровень ИФН может быть достигнут при введении препаратов цитокинов (экзогенная интерферонизация) или после его стимуляции (эндогенная интерферонизация) индукторами. Препараты интерферонов обладают тканевой специфичностью, способностью индуцировать выработку собственных цитокинов, эффективны против широкого круга РНК- и ДНК-содержащих вирусов, не токсичны, гипоал-

лергенны, абсолютно безвредны. Гомологичный ИФН не обладает антигенными свойствами [2]. Также в компоненте 1 присутствует витамин А, который играет важную роль в поддержании иммунной системы. За счет двойных связей активные метаболиты витамина А регулируют окислительно-восстановительные процессы, легко окисляясь в составе мембран, изменяют их проницаемость и биосинтез компонентов мембран, оберегая клетки, в частности лимфоциты, от кислород-зависимых типов апоптоза [3]. Каротиноиды – предшественники некоторых витаминов, являются антиоксидантами, так как они способны перехватывать синглетный кислород и другие его активные формы, что предупреждает разрушение мембран клеток при воспалительных процессах. Недостаток витамина А в организме приводит к нарушению реакции гликозилирования, из-за чего снижаются защитные свойства слизистых оболочек. Кроме того,  $\beta$ -каротин также обладает антимуtagenными свойствами [4].

В состав компонента 2 включен диоксидин (гидрокси метилхиноксалиндиоксид), препарат относится к группе производных хиноксалина, обладает химиотерапевтической активностью в отношении полирезистентных микроорганизмов, в том числе действует на штаммы бактерий, устойчивых к другим химиопрепаратам, включая антибиотики. Однако побочные эффекты ограничивают его применение в ветеринарной практике [5]. Известно, что диоксидин обладает мутагенной активностью на клетки костного мозга [6, 7], поэтому **целью данной работы** было исследование потенциальных мутагенных свойств комплексного препарата «Диомаст-КРС».

**Материалы и методы исследований.** Для проведения опыта по оценке мутагенных свойств препарата посредством микроядерного теста были использованы белые лабораторные мыши ( $n=36$ ) массой тела  $20\pm 2,0$  г разведения вивария ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Подопытные животные содержались в стандартных условиях вивария (температура воздуха  $+18-23^\circ\text{C}$ , относительная влажность 45-60%). Доступ к воде и корму был свободным. 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.

Были сформированы следующие группы экспериментальных животных. Группе 1, являющейся негативным контролем ( $n=6$ ), вводили физиологический раствор однократно внутримышечно и подкожно, объем введения для каждой инъекции составил 0,1 мл. Группе 2 ( $n=6$ ) однократно инъецировали диомаст-КРС в терапевтической дозе (компонент 1 – внутримышечно 0,02 мл/кг, компонент 2 – подкожно в дозе 0,08 мл/кг, объем введения доводили до 0,1 мл физиологическим раствором). Группе 3 ( $n=6$ ) однократно вводили препарат в высокой дозе, составляющей 1/10 от ЛД<sub>50</sub> (компонент 1 – внутримышечно в дозе 549,63 мг/кг, компонент 2 - подкожно в дозе 81,57 мг/кг, объем введения составил 0,1 мл для каждого компонента). Группе 4 ( $n=6$ ) инъецировали однократно компонент 1 внутримышечно в дозе 549,63 мг/кг. Группе 5 ( $n=6$ ) вводили компонент 2 однократно подкожно в дозе 81,57 мг/кг. Группе 6 ( $n=6$ ) являлась положительным контролем, животным этой группы вводился однократно интраперитонеально диоксидин (Новосибхимфарм, Россия) в дозе 200 мг/кг.

Через сутки после введения препаратов животные были подвергнуты эктаназии путем передозировки  $\text{CO}_2$ , с последующим забором костного мозга из бедренных костей и изготовлением препаратов микроядер согласно рекомендациям [8]. Полученные препараты микроскопировали с использованием микроскопа Биоскоп-1 при увеличении 1000. Частоту полихроматофильных эритроцитов с микроядрами (МЯПХЭ) определяли в 2000 полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ). Для оценки токсического действия исследуемых веществ определяли содержание ПХЭ от 500 эритроцитов (ПХЭ и нормохромных эритроцитов) [8].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием U-теста Манна-Уитни с помощью пакета программ Statistica 10.

**Результаты исследований.** Нами были получены значения частоты МЯПХЭ и содержания ПХЭ в костном мозге мышей исследуемых групп (таблица 1).

**Таблица 1 – Уровень полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в костном мозге мышей**

Группа	МЯПХЭ, %	ПХЭ/(ПХЭ+НЭ), %
1	$0,33\pm 0,056^{2**}$	$50,68\pm 2,438^{2*}$
2	$0,35\pm 0,043^{2**}$	$47,82\pm 2,019^{2*}$
3	$0,37\pm 0,061^{2**}$	$46,30\pm 1,597^{2*}$
4	$0,32\pm 0,048^{2**}$	$46,22\pm 1,074^{2*}$
5	$0,50\pm 0,082^{2**}$	$45,62\pm 1,991^{2*}$
6	$1,68\pm 0,224^{1*}$	$39,17\pm 1,235^{1*}$

Примечания:  $M\pm SE$  (среднее арифметическое  $\pm$  стандартная ошибка); <sup>1</sup> - статистически значимые различия при  $p<0,005$  относительно группы негативного контроля; <sup>1\*</sup> - при  $p<0,0005$  относительно группы негативного контроля; <sup>2</sup> - при  $p<0,05$  относительно группы позитивного контроля; <sup>2\*</sup> - при  $p<0,005$  относительно группы позитивного контроля; <sup>2\*\*</sup> - при  $p<0,0005$  относительно группы позитивного контроля.

Как видно из представленных в таблице данных, уровень МЯПХЭ в группе позитивного контроля в 5,09 раза превышал соответствующий показатель в группе негативного контроля, что свидетельствует о негативном воздействии диоксида в дозе 200 мг/кг. При этом относительно позитивного контроля показатели МЯПХЭ были статистически ниже в группе 1 – на 80,4%, группе 2 – на 79,2%, в группе 3 – на 78,0%, группе 4 – на 81,0%, группе 5 – на 70,2% соответственно. Содержание ПХЭ в костном мозге относительно группы негативного контроля статистически отличалось в группе 6 (положительный контроль) – ниже на 22,7%. Относительно группы положительного контроля доля полихроматофильных эритроцитов была статистически выше в 1 группе на 29,4%, во 2 группе – на 22,1%, в 3 группе – на 18,2%, в 4 группе – на 18,0%, в 5 группе – на 16,5% соответственно.

Представленные результаты демонстрируют отсутствие мутагенного и токсического действия при применении диомаст-КРС и его компонентов при их отдельном применении на цитогенетическую стабильность клеток костного мозга мышей. И, если действие компонента 1 в препарате, содержащем ИФН- $\alpha$  и - $\gamma$  и витамин А, соответствует литературным данным, согласно которым применение ИФН в подобных дозировках не вызывало мутагенного и токсического действия по отношению к клеткам костного мозга мышей, то использование второго компонента диомаст-КРС, содержащего диоксидин, известного своим мутагенным действием, требует более глубокого рассмотрения. Возможно, мутагенный эффект диоксида при его комбинированном применении в сочетании с ИФН- $\alpha$  и - $\gamma$  снижается благодаря антимуагенному действию ИФН. Вместе с тем единичное введение компонента 2 препарата «Диомаст-КРС» без ИФН- $\alpha$  и - $\gamma$  также не вызывало увеличение частоты МЯПХЭ даже в высоких дозах. Другими вероятными причинами отсутствия влияния второго компонента диомаст-КРС на цитогенетическую стабильность клеток даже в высоких дозах является наличие в его составе соединения перехватчика свободных радикалов - витамина А и подкожного введения препарата, что обуславливает более низкое содержание диоксида в крови и органах [9]. Вместе с тем установленные дозы диоксида, которые способны индуцировать цитогенетическую нестабильность (повышение частоты МЯПХЭ и хромосомных aberrаций), в клетках костного мозга при внутрибрюшинном однократном введении данного соединения составляют не менее 100 – 200 мг/кг. Данные дозы близки к 1/5 от LD<sub>50</sub> диоксида и примерно вдвое превышают использованные нами высокие дозы препарата, что также свидетельствует в пользу отсутствия влияния препарата «Диомаст-КРС» на частоту МЯПХЭ [10].

**Заключение.** Таким образом, исходя из полученных данных, препарат Диомаст-КРС не оказывает дестабилизирующее влияние на генетическую стабильность клеток костного мозга при однократном введении препарата и его отдельных компонентов животным в терапевтической и высокой дозах, что может быть свидетельством отсутствия у него мутагенных свойств в исследуемых дозах.

**Conclusion.** Thus, based on the data obtained, Diomast-KRS does not have a destabilizing effect on the genetic stability of the bone marrow cells after a single administration of the drug and its individual components to animals at therapeutic and high doses that may be evidence of the absence of mutagenic properties at the studied doses.

**Список литературы.** 1. Исследование профиля безопасности Диомаста-крс на коровах как потенциального противомаститного препарата / В. А. Грицюк [и др.] // *Ветеринарный фармакологический вестник*. – 2020. - № 3 (12). – С. 33-45. – doi: 10.17238/issn2541-8203.2020.3.33. 2. Применение цитокинов и их индукторов молодняку сельскохозяйственных животных (обзор) / А. Г. Шахов [и др.] // *Ветеринарная патология*. – 2019. – № 2. – С. 70-79. 3. Simons, M. J. P. An appraisal of how the vitamin A redox hypothesis can maintain honesty of carotenoid dependent signals / M. J. P. Simons, T. G. G. Groothuis, S. Verhulst // *Ecology and evolution*. – 2015. – Т. 5, № 1. – P. 224-228. – doi.org/10.1002/ece3.1364. 4. Кинаш, М. И. Жирорастворимые витамины и иммунодефицитные состояния: механизмы влияния и возможности использования / М.И. Кинаш, О.Р. Боярчук // *Вопросы питания*. – 2020. – Т. 89, № 3. – С. 22-32. – DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10026. 5. Ческидова, Л. В. Разработка комплексных антимикробных препаратов с диоксидином / Л. В. Ческидова, Г. А. Востроилова, Т. А. Панина // *Ветеринарный фармакологический вестник*. – 2017. – № 1. – С. 23-28. 6. Study of mutagenic activity of dioxidine by the polyorgan micronuclear method / L. P. Sycheva [et al] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2004. – Т. 138. – № 8. – P. 165-167. 7. Изучение механизма генотоксичности диоксида с помощью lux-биосенсоров *Escherichia coli* / Д. А. Свиридова [и др.] // *Радиационная биология. Радиоэкология*. – 2020. – Т. 60, № 6. – С. 595-603. – DOI: 10.31857/S0869803120060223. 8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов [и др.]; ред. А. Н. Миронов. – М.: Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с. 9. Nimse, S. B. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms / S. B. Nimse, D. Pal // *RSC Advances*. – 2015. – № 5. – P. 27986-28006. – doi: 10.1039/C4RA13315C. 10. Study of mutagenic activity of dioxidine by the polyorgan micronuclear method / L. P. Sycheva [et al] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2004. – Vol. 138(2). – P. 165-167. – doi: 10.1023/b:bebm.0000048377.39895.99. PMID: 15662461.

**References.** 1. Issledovanie profilya bezopasnosti Diomasta-krs na korovah kak potencial'nogo protivomastitnogo preparata / V. A. Gricyuk [i dr.] // *Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik*. – 2020. - № 3 (12). – S. 33-45. – doi: 10.17238/issn2541-8203.2020.3.33. 2. Primenenie citokinov i ih induktorov molodnyaku sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh (obzor) / A. G. SHahov [i dr.] // *Veterinarnaya patologiya*. – 2019. – № 2. – S. 70-79. 3. Simons, M. J. P. An appraisal of how the vitamin A redox hypothesis can maintain honesty of carotenoid dependent signals / M. J. P. Simons, T. G. G. Groothuis, S. Verhulst // *Ecology and evolution*. – 2015. – Т. 5, № 1. – R. 224-228. – doi.org/10.1002/ece3.1364. 4. Ki-

nash, M. I. ZHirorastvorimye vitaminy i immunodeficitnye sostoyaniya: mekhanizmy vliyaniya i vozmozhnosti ispol'zovaniya / M.I. Kinash, O.R. Boyarchuk // Voprosy pitaniya. – 2020. – Т. 89, №. 3. – S. 22-32. – DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10026. 5. CHeskidova, L. V. Razrabotka kompleksnykh antimikrobnnykh preparatov s dioksidinom / L. V. CHeskidova, G. A. Vostroilova, T. A. Panina // Veterinarnyy farmakologicheskij vestnik. – 2017. – №. 1. – S. 23-28. 6. Study of mutagenic activity of dioxidine by the polyorgan micronuclear method / L. P. Sycheva [et al] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2004. – Т. 138. – №. 8. – P. 165-167. 7. Izuchenie mekhanizma genotoksichnosti dioksidina s pomoshch'yu lux-biosensovov Escherichia coli / D. A. Sviridova [i dr.] // Radiacionnaya biologiya. Radioekologiya. – 2020. – Т. 60, №. 6. – S. 595-603. – DOI: 10.31857/S0869803120060223. 8. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv / A. N. Mironov [i dr.]; red. A. N. Mironov. – M. : Grif i K, 2012. – CH. 1. – 944 s. 9. Nimse, S. B. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms / S. B. Nimse, D. Pal // RSC Advances. – 2015. – № 5. – P. 27986-28006. – doi: 10.1039/C4RA13315C. 10. Study of mutagenic activity of dioxidine by the polyorgan micronuclear method / L. P. Sycheva [et al] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2004. – Vol. 138(2). – P. 165-167. – doi: 10.1023/b:bebm.0000048377.39895.99. PMID: 15662461.

Поступила в редакцию 01.08.2022.

DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-3-133-138  
УДК 619:612.017.11[578.245:615.36]636.28

### ИММУННЫЙ СТАТУС ТЕЛЯТ-ГИПОТРОФИКОВ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ

Паршин П.А. ORCID ID 0000-0002-8790-0540, Вostroilova Г.А. ORCID ID 0000-0002-2960-038X,  
Хохлова Н.А. ORCID ID 0000-0001-6861-255, Корчагина А.А. ORCID ID 0000-0002-8561-417X,  
Сашнина Л.Ю. ORCID ID 0000-0001-6477-6156, Пархоменко Ю.С. ORCID ID 0000-0002-1460-5022

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

*В статье представлены результаты исследования влияния препаратов на основе рекомбинантных интерферонов на организм телят-гипотрофиков с точки зрения изменения их иммунного статуса. Для эксперимента было отобрано 40 новорожденных телят. I опытной группе (n=10) применяли комплексный препарат «Интерамин» в дозе 1 мл/10 кг массы животного, по аналогичной схеме во II группе (n=10) вводили препарат «Биферон-Б». Группа III (n=10) состояла из телят-гипотрофиков без применения препаратов. IV группа была представлена телятами-нормотрофиками. Было установлено, что применение исследуемых препаратов оказало положительное влияние на скорость завершения адаптационных процессов формирования клеточных и гуморальных факторов неспецифической защиты организма телят-гипотрофиков. **Ключевые слова:** телята-гипотрофики, интерамин, биферон-Б, иммунный статус, рекомбинантные интерфероны.*

### IMMUNE STATUS OF HYPOTROPHIC CALVES WHEN USING DRUGS BASED ON RECOMBINANT INTERFERONS

Parshin P.A., Vostroilova G.A., Khokhlova N.A., Korchagina A.A., Sashnina L.Yu., Parkhomenko Yu.S.  
FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",  
Voronezh, Russian Federation

*The article presents the results of studying the effect of drugs based on recombinant interferons on the body of hypotrophic calves in terms of changes in their immune status. Forty (40) newborn calves were selected for the experiment. The animals of the experimental group I (n=10) were administered the complex drug interamin at a dose of 1 ml/10 kg of animal weight, the animals of group II (n=10) were administered the drug Biferon-B according to a similar scheme. Group III (n=10) consisted of hypotrophic calves without using drugs. Group IV was represented by normotrophic calves. It was found that the use of the studied drugs had a positive effect on the completion rate of the adaptive processes of the formation of cellular and humoral factors of nonspecific defense of the body of hypotrophic calves. **Keywords:** hypotrophic calves, interamin, Biferon-B, immune status, recombinant interferons.*

**Введение.** Гипотрофии молодняка сельскохозяйственных животных – острая проблема современного животноводства. Интенсификация производственных процессов вызывает значительное напряжение функций органов и систем, что негативно отражается на адаптационных способностях организма к изменяющимся условиям внешней среды и, как следствие, повышается частота возникновения неонатальных патологий, что ведет к повышенному отходу молодняка [1, 2]. Также подобные нарушения возникают при недостаточном снабжении плода питательными, энергетическими, биологически активными веществами и кислородом в критические периоды беременности, в связи с чем возможно неправильное развитие костной, мышечной, пищеварительной, дыхательной систем, в тяжелых случаях – печени и сердечно-сосудистой системы [3]. Организм молодняка обладает высокой лабильностью, наиболее действенно формирование его резистентности и адаптивных способностей на ранних этапах онтогенеза, однако если нарушаются условия кормления, ухода и содержания, животные приспосабливаются к существующим условиям для компенсации повышенных энергетических