

DOI 10.52368/2078-0109-2023-59-1-80-83  
УДК 631.528.1:577.182.22:636.028

### ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «ДИОМАСТ-КРС» ПРИ МНОГОКРАТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Грицюк В.А. ORCID ID 0000-0001-7457-3774, Паршин П.А. ORCID ID 0000-0002-8790-0540,  
Востроилова Г.А. ORCID ID 0000-0002-2960-038X, Шапошников И.Т. ORCID ID 0000-0003-0190-9083,  
Корчагина А.А. ORCID ID 0000-0002-8561-417X, Хохлова Н.А. ORCID ID 0000-0001-6861-2554,  
Шабанов Д.И. ORCID ID 0000-0002-1574-1317

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

*В данной статье рассматривается препарат «Диомаст-КРС», состоящий из двух компонентов: компонент 1 – рекомбинантные интерфероны крупного рогатого скота, компонент 2 – диоксидин, также в составе обоих компонентов включен витамин А, с точки зрения его потенциальной мутагенной активности при многократном применении. Оценка проводилась при помощи микроядерного теста, опыт ставили на белых нелинейных лабораторных мышах (n=30). Было сформировано 5 экспериментальных групп, в каждой группе по 6 особей. Проведенное исследование показало, что в изученных дозах (условно-терапевтическая и 1/10 от LD<sub>50</sub>) при многократном введении не происходило статистически значимых изменений в количественном содержании микроядер и процентном содержании полихроматофильных эритроцитов в костном мозге подопытных животных относительно контрольных показателей. Также показано, что применение отдельных компонентов препарата не приводило к изменению цитогенетической стабильности, что указывает на отсутствие у препарата «Диомаст-КРС» мутагенного действия при исследуемом режиме дозирования. **Ключевые слова:** диомаст-КРС, интерфероны, диоксидин, витамин А, мыши, микроядерный тест, полихроматофильные эритроциты.*

### STUDY OF THE MUTAGENIC PROPERTIES OF THE DRUG DIOMAST-KRS WITH REPEATED EXPOSURE

Gritsuk V.A., Parshin P.A., Vostroilova G.A., Shaposhnikov I.T.,  
Korchagina A.A., Khokhlova N.A., Shabanov D.I.

FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",  
Voronezh, Russian Federation

*This article considers the drug Diomast-KRS consisting of two components: component 1 - recombinant bovine interferons, component 2 - dioxidine, and vitamin A is also included in both components, from the point of view of its potential mutagenic activity with repeated use. The assessment was carried out using a micronucleus test, the experiment was performed on white non-linear laboratory mice (n=30). Five (5) experimental groups were formed, 6 individuals in each group. The study showed that in the studied doses (conditionally therapeutic and 1/10 of LD<sub>50</sub>) with repeated administration, there were no statistically significant changes in the quantitative content of micronuclei and the percentage of polychromatophilic erythrocytes in the bone marrow of experimental animals relative to control indicators. It was also shown that the use of individual components of the drug did not lead to a change in cytogenetic stability, which indicated the absence of a mutagenic effect in the drug Diomast-KRS under the studied dosing regimen. **Keywords:** Diomast-KRS, interferons, dioxidine, vitamin A, mice, micronucleus test, polychromatophilic erythrocytes.*

**Введение.** Мастит коров, несмотря на доскональное изучение этиологии его возникновения и формирование действенных подходов терапии, остается широко распространенным заболеванием. Чаще всего мастит развивается на фоне снижения локального и общего неспецифического иммунитета, что позволяет патогенной микрофлоре проникать и размножаться в тканях молочной железы [1]. При терапии заболевания в основном применяются антибактериальные и противовоспалительные средства, что потенцирует вероятность возникновения резистентных штаммов микроорганизмов. Таким образом, перед ветеринарными специалистами ставится задача разработки новых лекарственных средств, которые были бы высокоэффективны при терапии, но при этом нивелировали отрицательные эффекты антибиотиков. Однако полностью отказаться от использования антимикробных средств на современном этапе развития ветеринарной фармакологии невозможно, поэтому одним из решений данной задачи является использование антибактериальных веществ в сочетании с иммуностимуляторами, в частности, с интерферонами. На современном этапе интерфероны подразделяются на 3 типа: I – альфа-интерферон (IFN-α), бета-интерферон (IFN-β), омега – интерферон (IFN-ω); II – гамма-интерферон (IFN-γ); III – лямбда-интерферон (IFN-λ). Их отличительными особенностями является наличие специфических клеточных мембранных рецепторов, гомологичность последовательностей аминокислот и функциональная активность. Данные белки имеют более 300 различных эффек-

тов, однако одной из главных функций IFN I и III типа выделяют противовирусную активность, а IFN II типа – иммунорегуляторную, что делает применение препаратов этих групп значимым для гуманной и ветеринарной медицины. Функциональная активность интерферонов делает перспективным их применение в лечении и профилактике вирусных, бактериальных и смешанных инфекций, а также в качестве высокоэффективных иммуномодулирующих и антистрессовых агентов [2].

Патогенез воспалительного процесса в тканях молочной железы обусловлен свободнорадикальными реакциями, возникающими вследствие окислительного стресса, сопряженного с функциональными нарушениями со стороны системы антиоксидантной защиты, из-за чего происходит чрезмерное накопление конечных и промежуточных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Для нивелирования отрицательных эффектов и оптимизации работы ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты организма целесообразно включать в схему лечения и профилактики воспалений молочной железы лактирующих коров лекарственные средства, обладающие антиоксидантными свойствами и направленные на нейтрализацию продуктов ПОЛ [3]. Включение в состав препарата витамина А обосновано тем, что он проявляет антиоксидантные свойства за счет наличия изопреноидных участков в формуле  $\beta$ -каротина, кроме того, согласно мембранной теории, ретинол способен взаимодействовать с лецитино-холестериновыми монослоями на границе раздела фаз в гидрофобной зоне биомембран, вызывая реструктуризацию мембран клетки, лизосом и митохондрий. Ретинол также способствует повышению барьерных функций слизистых оболочек, увеличению фагоцитарной активности лейкоцитов и других факторов неспецифического иммунитета, стимулирует синтез коллагена, ускоряет процессы заживления в поврежденных тканях, тем самым снижает опасность возникновения инфекций. Ингибирование окисления липопротеидов низкой плотности происходит благодаря провитамина А ( $\beta$ -каротин), торможение синтеза холестерина происходит с помощью ретинола, который также ингибирует свободно-радикальное окисление (СРО) и подавляет ферментативное и неферментативное ПОЛ в микросомах и других органеллах [4].

Препарат «Диомаст-КРС» является разработкой ООО НПЦ «ПроБиоТех» и представляет собой двухкомпонентное лекарственное средство, компонент 1 включает рекомбинантные интерфероны ( $\alpha$  и  $-\gamma$ ) крупного рогатого скота, компонент 2 - 10 мг диоксидина, также в состав обоих компонентов входит витамин А в концентрации 75000 МЕ.

Особенностью рассматриваемого препарата являются разные пути введения каждого компонента: компонент 1 вводят парентерально, компонент 2 - внутрицистернально.

Исследование потенциального мутагенного действия препарата «Диомаст-КРС» при однократном введении было изучено нами ранее [5], в результате эксперимента не было выявлено изменений со стороны процентного содержания полихроматофильных эритроцитов в костном мозге мышей, что указывало на отсутствие мутагенных свойств у препарата, однако многие химические вещества проявляют негативные свойства только при многократном воздействии, поэтому **целью** данного исследования явилась оценка мутагенных свойств лекарственного средства при курсовом введении.

**Материалы и методы исследований.** Исследование было проведено на базе ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». В опыте были задействованы белые нелинейные лабораторные мыши ( $n=30$ ) массой тела  $22 \pm 2,0$  г разведения вивария. Условия содержания животных соответствовали нормам (температура воздуха  $+21^\circ\text{C}$ , относительная влажность 50%). Животные имели свободный доступ к воде и корму. Все манипуляции с подопытными лабораторными мышами в рамках исследования были рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» до начала проведения эксперимента и соответствовали действующим правилам, принятым в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (ETS 123), Страсбург, 1986.

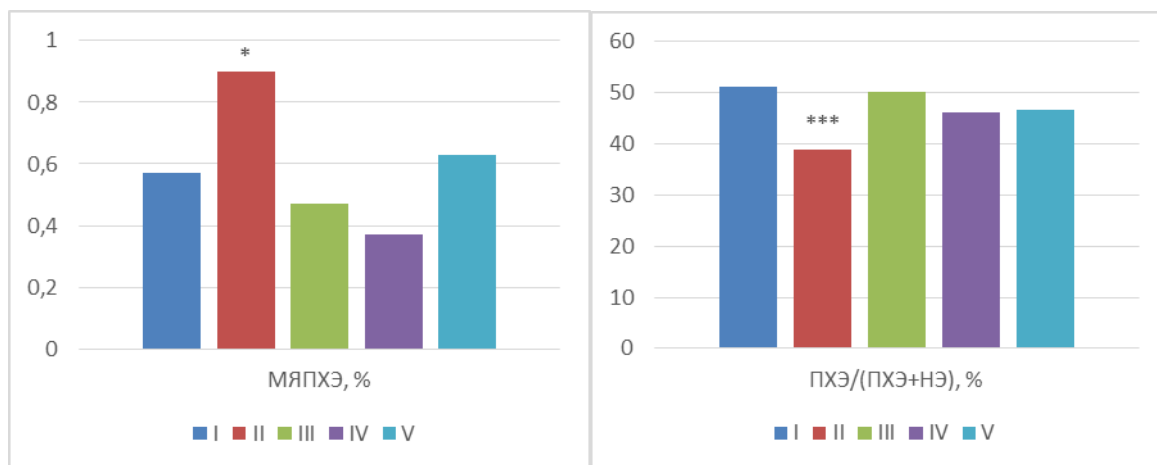
Были сформированы следующие группы экспериментальных животных. Группе 1 (негативный контроль;  $n=6$ ) вводили физиологический раствор внутримышечно и подкожно, в объеме 0,1 мл, один раз в день, курс введений составил 4 дня. Группе положительного контроля (группа 2;  $n=6$ ) вводили однократно диоксидин (Новосибхимфарм, Россия) внутрибрюшинно в дозе 200 мг/кг. Диомаст-КРС вводили в терапевтической дозе (компонент 1 – внутримышечно 0,02 мл/кг, компонент 2 – подкожно в дозе 0,08 мл/кг) 1 раз в сутки, курсом 4 дня мышам группы 3 ( $n=6$ ). Группе 4 ( $n=6$ ) 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), аналогично вышеописанной схеме. Группе 5 ( $n=6$ ) инъецировали компонент 1 внутримышечно, в дозе 549,63 мг/кг, который доводили до объема 0,1 мл стерильным физиологическим раствором и вводили 1 раз в сутки на протяжении 4 дней. Животные группы 6 ( $n=6$ ) получали инъекцию компонента 2 подкожно в дозе 81,57 мг/кг объемом 0,1 мл, с введением аналогично мышам из группы 5.

По окончании введений препаратов, через 24 часа после последней инъекции, животные были помещены в CO<sub>2</sub>-камеру и эвтаназированы. Препараты микроядер были изготовлены из костного мозга бедренных костей согласно рекомендациям. Микроскопирование препаратов проводили с использованием микроскопа Биоскоп-1 (ЛОМО, Россия). Определяли частоту полихроматофильных

эритроцитов с микроядрами (МЯПХЭ). Оценку токсического действия препарата Диомаст-КРС проводили по соотношению полихроматофильных (ПХЭ) и нормохромных эритроцитов (НЭ) [6].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием U-теста Манна-Уитни с помощью пакета программ STATISTICA 10 (Statsoft, USA).

**Результаты исследований.** На рисунке 1 представлены данные по частоте встречаемости и отношению ПХЭ к НЭ у (рисунок 1).



**Рисунок 1 – Частота полихроматофильных эритроцитов с микроядрами (слева) и отношение ПНЭ к НЭ (справа) в костном мозге мышей, исследуемых групп**

*Примечания: \* - при  $p < 0,05$ ; \*\*\* - при  $p < 0,0001$  относительно группы негативного контроля.*

Как видно из представленных данных, уровень МЯПХЭ в группе позитивного контроля на 58,8% превышал соответствующий показатель в группе негативного контроля. В остальных опытных группах отклонения не имели статистической значимости относительно негативного контроля и были ниже показателя положительного контроля на 29,6-59,3%.

Отношение ПХЭ к общему числу хромотофильных эритроцитов в группе положительного контроля статистически отличалось от показателя негативного контроля – ниже 24,0%. Другие экспериментальные группы не отличались от показателей негативного контроля статистически значимо, при этом превышая значения положительного контроля на 19,9-29,0%.

Таким образом, введение препарата «Диомаст-КРС» на протяжении 4 дней в исследуемых дозах не вызывало статистически значимых отклонений от показателей негативного контроля, что указывает на отсутствие у него мутагенных свойств. При этом в группе положительного контроля, которой вводили внутривенно диоксидин в дозе 200 мг/кг, процент содержания полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в костном мозге превышал показатель группы негативного контроля, что доказывает его влияние на цитогенетическую стабильность клеток. Однако в группе 6, которой применялся компонент 2, также содержащий в составе диоксидин, подобных статистически значимых отклонений от негативного контроля отмечено не было, что может быть связано с более низким режимом дозирования, либо с сочетанным воздействием в препарате диоксида с витамином А, который, по данным литературы, может проявлять антимуtagenное действие. Так, он проявляет свойства антиоксиданта, является эффективным стимулятором иммунитета, активирует цитотоксические функции Т-лимфоцитов и макрофагов, которые обеспечивают противоопухолевую, противовирусную защиту, устойчивость к аутоиммунным и иммунодефицитным состояниям [7]. Антиоксиданты способствуют продукции активных форм кислорода, обнаружено, что при стимуляции антиоксидантных ферментов витаминами А и Е в низких дозах проявляется прооксидантная активность, происходит запуск индуцибельных механизмов антиоксидантной и нуклеофильной защиты по типу адаптивного ответа [8]. Таким образом, отсутствие статистически значимого повышения частоты встречаемости МЯПХЭ в костном мозге мышей экспериментальных групп позволяет сделать заключение об отсутствии у препарата «Диомаст-КРС» влияния на генетическую стабильность животных.

**Заключение.** Нами не выявлено мутагенной активности препарата «Диомаст-КРС» по отношению к клеткам костного мозга мышей при совместном и отдельном многократном введении его компонентов в терапевтических и высоких дозах, определяемой по частоте встречаемости микроядер в эритроцитах. Полученные данные являются свидетельством безопасности препарата «Диомаст-КРС» с точки зрения его влияния на геном.

**Conclusion.** We have not found mutagenic activity of the drug Diomast-KRS in relation to bone marrow cells of mice with combined and separate repeated administration of its components in therapeutic and high doses, determined by the frequency of micronuclei occurrence in erythrocytes. The data obtained are the evidence of the safety of the drug Diomast-KRS in terms of its effect on the genome.

**Список литературы.** 1. Влияние рекомбинантных  $\alpha$ -и  $\gamma$ -интерферонов на иммунобиохимический статус больных субклиническим маститом коров / Н.Т. Климов [и др.] // *Ветеринарный фармакологический вестник*. – 2018. – №. 1. – С. 31-34. 2. Интерфероны- $\alpha$  и- $\gamma$  в клинической ветеринарной практике при профилактике и лечении инфекционных заболеваний у крупного рогатого скота и свиней (обзор) / С.В. Шабунин [и др.] // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. – 2022. – Т. 23. – №. 1. – С. 16-35. - doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.1.16-35. 3. Зимников, В. И. Динамика показателей системы ПОЛ-АОЗ при применении рекомбинантных интерферонов для терапии субклинического мастита у коров / В. И. Зимников, Л. В. Ческидова, Т. Г. Ермолова // *Ветеринарный фармакологический вестник*. - 2022. - № 3 (20). – С. 82-86. - doi: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82. 4. Антиоксидантная терапия эндотелиальной дисфункции / И. Н. Тюренков [и др.] // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2013. – № 1. – С. 14–25. 5. Исследование потенциальных мутагенных свойств препарата "Диомаст-КРС" / Г. А. Востроилова [и др.] // *Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины"*. - 2022. - Т. 58, вып. 3. – С. 130-133. - doi 10.52368/2078-0109-2022-58-3-130-133. 6. 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. 7. Ших, Е.В. Витамины с антиоксидантными свойствами в профилактике и лечении острых респираторных инфекций у детей / Е. В. Ших // *Вопросы современной педиатрии*. – 2013. – Т. 12. – №. 4. – С. 142–147. 8. Гончарова, Р. И. Молекулярные основы применения антимуагенов в качестве антиканцерогенов / Р. И. Гончарова, Т. Д. Кужир // *Экологическая генетика*. – 2005. – Т. 3. – №. 3. – С. 19-32.

**References.** 1. Vliyanie rekombinantnyh  $\alpha$ -i  $\gamma$ -interferonov na immunobiohimicheskij status bol'nyh subklinicheskim mastitom korov / N.T. Klimov [i dr.] // *Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik*. – 2018. – №. 1. – S. 31-34. 2. Interferony- $\alpha$  i- $\gamma$  v klinicheskoj veterinarnoj praktike pri profilaktike i lechenii infekcionnyh zaboolevanij u krupnogo rogatogo skota i svinej (obzor) / S.V. SHabunin [i dr.] // *Agrarnaya nauka Euro-Severo-Vostoka*. – 2022. – T. 23. – №. 1. – S. 16-35. - doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.1.16-35. 3. Zimnikov, V. I. Dinamika pokazatelej sistemy POL-AOZ pri primenenii rekombinantnyh interferonov dlya terapii subklinicheskogo mastita u korov / V. I. Zimnikov, L. V. CHeskidova, T. G. Ermolova // *Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik*. - 2022. - № 3 (20). – S. 82-86. - doi: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82. 4. Antioksidantnaya terapiya endotelial'noj disfunkcii / I. N. Tyurenkov [i dr.] // *Obzory po klinicheskoj farmakologii i lekarstvennoj terapii*. – 2013. – № 1. – S. 14-25. 5. Issledovanie potencial'nyh mutagennyh svojstv preparata "Diomast-KRS" / G. A. Vostroilova [i dr.] // *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya "Vitebskaya ordena "Znak Pocheta" gosudarstvennaya akademiya veterinarnoj mediciny"*. - 2022. - T. 58, vyp. 3. – S. 130-133. - doi 10.52368/2078-0109-2022-58-3-130-133. 6. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv / A. N. Mironov [i dr.]; red. A. N. Mironov. – M. : Grif i K, 2012. – CH. 1. – 944 s. 7. SHih, E.V. Vitaminy s antioksidantnymi svojstvami v profilaktike i lechenii ostryh respiratornyh infekcij u detej / E. V. SHih // *Voprosy sovremennoj pediatrii*. – 2013. – T. 12. – №. 4. – S. 142–147. 8. Goncharova, R. I. Molekulyarnye osnovy primeneniya antimutagenov v kachestve antikancerogenov / R. I. Goncharova, T. D. Kuzhir // *Ekologicheskaya genetika*. – 2005. – T. 3. – №. 3. – S. 19-32.

Поступила в редакцию 16.01.2023.

DOI 10.52368/2078-0109-2023-59-1-83-88  
УДК 577.112:573.6: 636

## НЕЙТРАЛИЗАЦИЯ ЛЕКТИНОВ КОРМА ГЛЮКОЗАМИНОМ КАК СРЕДСТВО ПРОФИЛАКТИКИ ГАСТРОЭНТЕРИТОВ У ПОРОСЯТ-ОТЪЕМЫШЕЙ

Добровольский С.А. ORCID ID 0000-0002-0547-6310, Ковалёнок Ю.К. ORCID ID 0000-0001-7954-0576  
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь

Лектины кормов являются одним из этиологических факторов, способствующих возникновению гастроэнтеритов поросят. В данном исследовании проведен сравнительный анализ различных методов нейтрализации лектинов, содержащихся в кормах для поросят-отъемышей: термической обработки и добавлением лектин-специфичного углевода глюкозамина. Посредством общего и биохимического анализа крови подтверждена причинная роль лектинов в развитии гастроэнтеритов и их негативного влияния на животных. В работе представлен положительный эффект нейтрализации лектинов кормов на производственные показатели и заболеваемость гастроэнтеритами. Установлено, что использование 0,1 г глюкозамина на 1 кг корма является оптимальной дозой, обуславливающей снижение частоты возникновения гастроэнтеритов на 8%, сокращение продолжительности болезни в среднем на 0,5 суток и падежа животных на 2%.  
**Ключевые слова:** гастроэнтерит, лектин, поросята-отъемыши, желудочно-кишечный тракт, глюкозамин.

## NEUTRALIZATION OF FEED LECTINS WITH GLUCOSAMINE AS A MEANS OF PREVENTION OF GASTROENTERITIS IN WEANING PIGS

Dabravolski S.A., Kavalionak Y.K.  
EE "Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine", Vitebsk, Republic of Belarus

Feed lectins are one of the etiological factors contributing to the occurrence of gastroenteritis in piglets. In this study, a comparative analysis of various methods for neutralizing lectins in the feeds of weaned piglets was carried out: