DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-3-22-25
УДК 619:615.36/375:615.065

ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛЕРГЕННОГО ПРОФИЛЯ ПРЕПАРАТА «ИНТЕРАМИН»

Востроилова Г.А. ORCID ID 0000-0002-2960-038X, Пархоменко Ю.С. ORCID ID 0000-0002-1460-5022, Хохлова Н.А. ORCID ID 0000-0001-6861-2554, Корчагина А.А. ORCID ID 0000-0002-8561-417X
ФГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

В статье приведены результаты экспериментальных исследований аллергенного профиля комбинированного препарата «Интерамин», состоящего из гидрофильной криофракции селезенки крупного рогатого скота, рекомбинантных альфа- и гамма-интерферонов и витаминов А, Е. Показано, что интерамин не характеризуется наличием аллергенных свойств у экспериментальных животных при накожной аппликации, конъюнктивальной пробе, однократной внутрикожной инсталляции, постановке непрямой реакции дегранулляции тучных клеток. ***Ключевые слова:*** *интерамин, аллергенные свойства, лабораторные животные.*

CHARACTERISTIC OF THE ALLERGENIC PROFILE OF INTERAMIN

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

The article presents the results of experimental studies of the allergenic profile of the combined drug interamin, consisting of a hydrophilic cryofraction of bovine spleen, recombinant interferons -alpha and –gamma and vitamins A, E. It is shown that interamin is not characterized by the presence of allergenic properties in experimental animals when applied to the skin, conjunctival test, single intradermal installation, setting up an indirect reaction of mast cell degranulation. ***Keywords:*** *interamin, allergenic properties, laboratory animals.*

Введение. Современная экономическая ситуация и темпы развития промышленного животноводства ставят перед ветеринарной фармакологией новые задачи по изысканию эффективных и максимально безопасных лекарственных средств. Отдельным направлением является создание комбинированных препаратов, включающих в себя несколько фармакологически активных компонентов разного происхождения, но способных действовать синергично. Большим потенциалом в вопросе профилактики негативных последствий техногенных стрессов и повышения адаптационных возможностей организма животных обладает новый комплексный препарат – «Интерамин». В его состав входят гидрофильная криофракция селезенки крупного рогатого скота, рекомбинантные альфа- и гамма-интерфероны и витамины А, Е.

Первый компонент, полученный с использованием технологии криогенного фракционирования животных тканей, проявляет ряд фармакологических свойств, обеспечивающих повышение общей резистентности организма, минимализацию отрицательного влияния стресса, предупреждение развития иммунодефицитов различного происхождения и гепатопатий у сельскохозяйственных животных [1, 2].

Второй компонент препарата представлен альфа- и гамма-интерферонами. Их фармакологический потенциал в антиинфекционном и иммунологическом направлениях показан во многих исследованиях, как с точки зрения терапии, так и профилактики заболеваний животных [3-5].

Третий компонент – это витамины А, Е, которые принимают участие в регуляции метаболизма, оказывают позитивное влияние на работу антиоксидантной и иммунной систем [6, 7].

Лекарственная аллергия и гиперчувствительность – значимые проблемы современной фармакотерапии. Поэтому проведение обязательного комплекса доклинических исследований, включая оценку аллергизирующих свойств на лабораторных животных, - необходимый этап разработки любого нового лекарственного средства [8]. Изучение реактивности организма в ответ на введение препарата должно включать в себя несколько методов, учитывающих механизмы развития и типы аллергических реакций, для оценки полной картины возможных негативных побочных эффектов препарата [9, 10].

Целью данной работы явилось изучение аллергенных свойств нового комплексного препарата «Интерамин».

Материалы и методы исследований. Содержание и уход за используемыми в эксперименте животными разведения вивария ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» соответствовали требованиям актуальных международных и российских законодательных актов – Директива 2010/63/EU от 22.09.2010, Европейской конвенции (ETS 123), Strasbourg, 1986, ГОСТ 33216-2014, ГОСТ 33215-2014. Объем и перечень проводимых процедур были предварительно согласованы с биоэтической комиссией института на основании действующих методических документов в области доклинических исследований [12, 13].

Оценку аллергенного действия препарата «Интерамин» осуществляли при наружном и парентеральном способах введения.

Вероятность развития неаллергического контактного дерматита определяли посредством метода накожных аппликаций. Для этого экспериментальные животные – клинически здоровые половозрелые белые беспородные крысы массой 200-220 г обоего пола – подвергались воздействию исследуемого препарата посредством накожного нанесения. Крысам опытной группы (n=8) на выстриженные за сутки до начала опыта участки кожи на боковой поверхности, ближе к середине туловища, аппликировали в течение 3-х недель по 0,5 мл интерамина на площадь 5 см^2, при этом плотность нанесения препарата составляла 0,1 мл/см^2. По тому же принципу изотонический раствор натрия хлорида наносили животным контрольной группы (n=8).

Первое тестирование проводили после 10 аппликаций в провокационной дозе интерамина, составляющей 2,5 мл, что превышает сенсибилизирующую дозу в 5 раз. Затем через 14 и 20 суток от начала аппликации учитывали реакцию кожи по 8-балльной шкале.

Выявление реакции опытных животных на аллерген проводили также методом конъюктивальной пробы. Для этого внутрикожно морским свинкам (n=6) в правую ушную раковину вводили однократно 0,1 мл интерамина, а контрольным животным (n=6) – стерильный изотонический раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме. Спустя 12 дней в нижнюю часть конъюнктивального мешка вносили по одной капле интерамина – опыт, изотонический раствор натрия хлорида – контроль. По истечении 15 минут учитывали реакцию немедленного типа, 24 часов – гиперчувствительность замедленного типа. Оценка результата осуществлялась по балльной шкале: 0 – реакции нет; 1 – легкое покраснение слезного протока; 2 – покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице; 3 – покраснение всей конъюнктивы и склеры.

Также аллергенный профиль интерамина анализировали посредством однократной внутрикожной инъекции, позволяющей на протяжении 10-12 дней выявить, обладает ли исследуемый препарат сенсибилизирующими свойствами. С этой целью в кожу наружной поверхности уха морских свинок опытной группы (n=6) вводили по 0,02 мл препарата, животным группы контроля (n=6) – по 0,02 мл растворителя (изотонический раствор натрия хлорида). Реакцию учитывали спустя 12 дней после сенсибилизации, проведенной однократно посредством накожного нанесения 0,5 мл препарата на выстриженные размером 3×3 см участки боковой поверхности туловища в течение 7 дней. По истечении 24 часов после последнего апплицирования фиксировали реакции кожи и проводили иммунологические тесты крови на аллерген in vitro – реакции специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ) и специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ).

Посредством непрямой реакции дегрануляции тучных клеток можно определить гиперчувствительность к различным веществам, в частности, к медикаментозным. Возможность стимуляции этой реакции новым препаратом определяли на белых мышах. Интерамин вводили животным опытных групп (n=10 в каждой) однократно подкожным способом в дозах 0,1 и 1,0 мл/кг объемом 0,5 мл, группы контроля (n=10) – стерильный изотонический раствор натрия хлорида равным объемом. На 7-е сутки эксперимента мышей выводили из опыта и проводили внутрибрюшинную инъекцию средой 199 в дозе 5 мл, после чего брюшную полость вскрывали и собирали экссудат с петель кишечника в сосуд, смоченный гепарином. Отделение тучных клеток проводили путем трехкратного центрифугирования с фосфатным буфером (pH 7,2). В мазках, окрашенных по методу Романовского, проводили подсчет 100 клеток, определяли в них процент дегранулированных и сравнивали с контролем. Положительной считали реакцию в случае, когда процент дегранулированных тучных клеток в опытных мазках был выше этого показателя контрольных животных более чем на 10%.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием Т-критерия Стьюдента, при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследований. В ходе проведения эксперимента методом накожных аппликаций установлено (таблица 1), что 20-кратная аппликация изучаемого препарата не вызывала явлений сенсибилизации: признаков гиперемии, отека кожи, десквамации эпителия в течение индукционного периода зафиксировано не было.

Таблица 1 – Показатели аллергизирующего действия интерамина при накожных аппликациях

Виды реакции кожи	Время учета реакции, сутки		
	10	14	21
Животные группы контроля			
Гиперемия	0/8	0/8	0/8
Отек кожи	0/8	0/8	0/8
Десквамация эпителия	0/8	0/8	0/8
Животные группы опыта (интерамин)			
Гиперемия	0/8	0/8	0/8
Отек кожи	0/8	0/8	0/8
Десквамация эпителия	0/8	0/8	0/8

Примечания: в числителе – наблюдаемый эффект, а в знаменателе - максимально возможный эффект; 0 - отсутствие эффекта; 8 – ярко выраженный эффект.

Результаты конъюнктивальной пробы показали отрицательную реакцию слизистой оболочки глаз сенсибилизированных и интактных морских свинок через 15 минут и 24 часа после инстилляции препарата (таблица 2). Явлений сенсибилизации, характеризующихся различной степенью гиперемии, зудом, а при расчесывании и возможным развитием гнойного офтальмита, не обнаружено.

Таблица 2 – Частота выявления гиперчувствительности у морских свинок после внутрикожного введения препарата по конъюнктивальному тесту

Реакции конъюнктивальной пробы в баллах	Группы животных			
	Контроль		Опыт (интерамин)	
	Через 15 минут	Через 24 часа	Через 15 минут	Через 24 часа
0	6/6	6/6	6/6	6/6
1	0/6	0/6	0/6	0/6
2	0/6	0/6	0/6	0/6
3	0/6	0/6	0/6	0/6

Примечания: в числителе – наблюдаемый эффект, а в знаменателе - максимально возможный эффект; 0 - отсутствие эффекта; 6 – выраженный эффект.

Посредством метода внутрикожной пробы установлено, что через 15 минут после проведенной инъекции интерамина опытным животным, он не вызывал заметных изменений наружной поверхности ушей. Спустя 12 суток видимые реакции – гиперемия, зуд, отек – после нанесения препарата в разрешающей дозе на выстриженные участки также не наблюдались.

Результаты иммунологических тестов на аллерген in vitro (РСАЛ и РСЛЛ), определенные через 24 часа после учета эпикутанных аппликаций, представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты иммунологических тестов in vitro

Группы	Реакция специфической агломерации лейкоцитов	Реакции специфического лизиса лейкоцитов
Контроль	1,35±0,06	3,30±1,84
Опыт (интерамин)	1,26±0,12	1,86±1,09

Как видно из представленных данных (таблица 3), исследования сенсибилизирующего действия интерамина не выявило выраженной реакции иммунной системы подопытных животных на введение препарата. Контактный дерматит вследствие накожных аппликаций в многократной повторности новым препаратом не возникал, и реакции специфического лизиса и специфической агломерации лейкоцитов были негативными.

Результаты теста (таблица 4) непрямой реакции дегрануляции тучных клеток также свидетельствуют об отсутствии реакции гиперчувствительности к интерамину.

Таблица 4 – Показатели дегрануляции тучных клеток у мышей под влиянием интерамина, %

Группа животных, доза препарата		
Контроль	Интерамин, 0,1 мл/кг	Интерамин, 2,0 мл/кг
4,70±0,04	4,60±0,09	4,65±0,08

Заключение. При оценке аллергизирующего действия нового комплексного препарата показано, что он не вызывает сенсибилизирующего ответа у экспериментальных животных в виде отеков, гиперемии, зуда, неаллергического контактного дерматита, аллергических реакций конъюнктивы, выраженных реакций иммунного типа. Результаты проведенных экспериментов в рамках доклинического исследования лекарственных средств доказывают, что интерамин в изученных дозах не обладает аллергенными свойствами.

Conclusion. When assessing the allergenic effect of the new complex drug, it has been shown that it does not cause a sensitizing response in experimental animals in the form of edema, hyperemia, itching, non-allergic contact dermatitis, allergic reactions of the conjunctiva, pronounced immune-type reactions. The results of the experiments carried out within the framework of the preclinical study of drugs prove that interamin at the studied doses does not have allergenic properties.

Список литературы. *1. Изучение аллергенных свойств препарата аминоселетон / Н. А. Хохлова [и др.] // Теоретические и прикладные аспекты современной науки. – 2015. – № 8-1. – С. 98-101. 2. Востроилова, Г. А. Характеристика адаптогенных свойств аминоселетона на модели острого иммобилизационного стресса / Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова, Ю. А. Чаплыгина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2020. –*

№ 1 (10). – С. 16-26. - DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.1.16. 3. Therapeutic and prophylactic use of oral, low-dose ifns in species of veterinary interest: back to the future / S. Frazzini [et al.] // Vet. Sci. – 2021 – Jun. – 11;8(6):109. - Doi: 10.3390/vetsci8060109. Vet Sci. 2021. PMID: 34208413 Free PMC article. Review. 4. Ahmadullin, R. M. Experimental evaluation of allergenic properties of Bisphenol-5 / R. M. Ahmadullin, R. S. Muhammadiev, L. R. Valiullin // BIO Web of Conferences. International Scientific-Practical Conference "Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources" (FIES 2020) 2020. – V. 27. - № 6. - P. 00063. - DOI:10.1051/bioconf/20202700063 5. Интерфероны-α и –γ 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. - № 23 (1). – С. 16-35. – DOI: 10.30766/2072-9081.2022.23.1.16-35. 6. Гаркушин, Е .В. Влияние витаминов и минералов на состояние здоровья и продуктивность крупного рогатого скота / Е.В. Гаркушин, Т. П. Шубина // Вестник Донского государственного аграрного университета. – 2021. – № 11 (39). – С. 38-41. 7. Дерхо, А. О. Влияние витамина Е в организме животных на концентрацию липопротеинов / А. О. Дерхо, М. А. Дерхо // Научно-технический прогресс в сельскохозяйственном производстве : материалы XVI Международной научно-практической конференции молодых ученых. - Великие Луки, 2021. - С. 60-65. 8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с. 9. Регуляторные и методические аспекты изучения аллергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований / К. Л. Крышень [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2018. - № 8(1). – С. 44-55. - DOI:10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55. 10. Доклиническое исследование аллергенности и иммунотоксического действия потенциального лекарственного средства на основе пептидэргического нейро- и стресс-протектора / А. А. Колобов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 1. – С. DOI: 10.17513/spno.29579.

References. *1. Izuchenie allergennyh svojstv preparata aminoseleton / N. A. Hohlova [i dr.] // Teoreticheskie i prikladnye aspekty sovremennoj nauki. – 2015. – № 8-1. – S. 98-101. 2. Vostroilova, G. A. Harakteristika adaptogennyh svojstv aminoseletona na modeli ostrogo immobilizacionnogo stressa / G. A. Vostroilova, N. A. Hohlova, YU. A. CHaplygina // Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik. – 2020. – № 1 (10). – S. 16-26. - DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.1.16. 3. Therapeutic and prophylactic use of oral, low-dose ifns in species of veterinary interest: back to the future / S. Frazzini [et al.] // Vet. Sci. – 2021 – Jun. – 11;8(6):109. - Doi: 10.3390/vetsci8060109. Vet Sci. 2021. PMID: 34208413 Free PMC article. Review. 4. Ahmadullin, R. M. Experimental evaluation of allergenic properties of Bisphenol-5 / R. M. Ahmadullin, R. S. Muhammadiev, L. R. Valiullin // BIO Web of Conferences. International Scientific-Practical Conference "Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources" (FIES 2020) 2020. – V. 27. - № 6. - P. 00063. - DOI:10.1051/bioconf/20202700063 5. Interferony-α i –γ v klinicheskoj veterinarnoj praktike pri profilaktike i lechenii infekcionnyh zabolevanij u krupnogo rogatogo skota i svinej (obzor) / S. V. SHabunin [i dr.] // Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka. – 2022. - № 23 (1). – S. 16-35. – DOI: 10.30766/2072-9081.2022.23.1.16-35. 6. Garkushin, E .V. Vliyanie vitaminov i mineralov na sostoyanie zdorov'ya i produktivnost' krupnogo rogatogo skota / E.V. Garkushin, T. P. SHubina // Vestnik Donskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2021. – № 11 (39). – S. 38-41. 7. Derho, A. O. Vliyanie vitamina E v organizme zhivotnyh na koncentraciyu lipoproteinov / A. O. Derho, M. A. Derho // Nauchno-tekhnicheskij progress v sel'skohozyajstvennom proizvodstve : materialy XVI Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii molodyh uchenyh. - Velikie Luki, 2021. - S. 60-65. 8. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskih issledovanij lekarstvennyh sredstv. CHast' pervaya / Pod red. A.N. Mironova. – M. : Grif i K, 2012. – 944 s. 9. Regulyatornye i metodicheskie aspekty izucheniya allergiziruyushchih svojstv novyh lekarstvennyh sredstv na etape doklinicheskih issledovanij / K. L. Kryshen' [i dr.] // Vedomosti Nauchnogo centra ekspertizy sredstv medicin-skogo primeneniya. – 2018. - № 8(1). – S. 44-55. - DOI:10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55. 10. Doklinicheskoe issledovanie allergennosti i immunotoksicheskogo dejstviya potencial'nogo lekarstvennogo sredstva na osnove peptidergicheskogo nejro- i stress-protektora / A. A. Kolobov [i dr.] // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. – 2020. – № 1. – S. DOI: 10.17513/spno.29579.*

Поступила в редакцию 01.08.2022.

DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-3-25-29
УДК 591.46:598.244.2

АНАТОМО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПОЧЕК У БЕЛОГО АИСТА (*CICONIA CICONIA*)

Журов Д.О. ORCID ID 0000-0003-1438-4183
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

С помощью методологического комплекса изучены анатомические, гистологические и морфометрические показатели почек представителя хищных птиц Беларуси – белого аиста (Ciconia ciconia). По результатам исследования почек белого аиста установлена относительно тонкая соединительнотканная капсула органа, небольшая плотность почечных (мальпигиевых) телец и сосудистых клубочков в корковом веществе, наличие отдельных участков с патологическими процессами в виде зернистой, вакуольной и крупнокапельной жировой дистрофии, а также изменения структуры клеток, формирующих дистальные прямые канальцы с кубической на полиморфную. Данные преобразования в строении органа могут являться как индивидуальными особенностями, так и зависят от факторов внешней среды, образа жизни, поведения и характера рацио-