

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ СОВЕТА МИНИСТРОВ СССР
ПО ПРОДОВОЛЬСТВУ И ЗАКУПКАМ

МОСКОВСКАЯ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ ВЕТЕРИНАРНАЯ
АКАДЕМИЯ имени К.И.СКРЯБИНА

На правах рукописи

РАХМАТУЛЛИН Эмиль Касымович

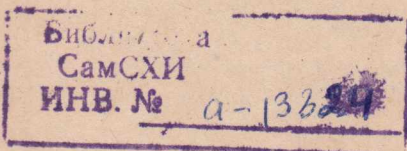
УДК 619:615.2.615.9:616.937.6

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ
ПИРОПЛАЗМОЦИДНЫХ И ТРИПАНОЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ
И ЛЕЧЕБНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛОПУРИНОЛА

16.00.04 - ветеринарная фармакология
с токсикологией

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой
степени кандидата ветеринарных наук



Москва - 1990

Работа выполнена во Всесоюзном ордена Трудового Красного Знамени государственном научно-контрольном институте ветеринарных препаратов.

Научный руководитель - доктор ветеринарных наук,
профессор Тимофеев Б.А.

Официальные оппоненты:

Доктор ветеринарных наук, профессор Веселова Т.П. (ВИГИС)
Кандидат ветеринарных наук, с.н.с. Кохтук Ф.П. (ВИЗВ)

Ведущая организация - Витебский ветеринарный институт.

Защита состоится "28" 06 1990 г. в "10" часов
на заседании специализированного совета Д.120.36.04 по защите
диссертаций на соискание ученой степени доктора наук при Мос-
ковской ордена Трудового Красного Знамени ветеринарной академии
имени К.И.Скрябина (109472, Москва, ул.Академика Скрябина, 23,
тел.377-93-83).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Москов-
ской ветеринарной академии им.К.И.Скрябина.

Автореферат разослан "21" 05 1990г.

Ученый секретарь
специализированного совета

Забалуев Г.И.

ВВЕДЕНИЕ

В эпоху научно-технического прогресса становится все более неоспоримым, что его побочным эффектом является проблема загрязнения окружающей среды. Все живые организмы, включая и человека подвержены воздействию новых химических веществ. С каждым годом увеличивается список химических веществ и масштабы их применения в отдельных странах. В Канаде ассортимент пестицидов весьма разнообразен и насчитывает свыше 1000 наименований. В сельском хозяйстве Англии используется более 100 различных химических соединений, в том числе более 40 инсектицидов и акарицидов, около 25 фунгицидов и около 40 гербицидов и регуляторов роста. К 1986 году в СССР на гектар пашни на обработанных химической защитой площадях пришлось в среднем по 2 кг пестицидов (1,4 - на душу населения). К 1990 году это количество должно удвоиться. Уже сейчас есть районы, где их применение достигает 230 кг на гектар.

Эффекты от воздействия химических веществ трудно предвидеть. Это особенно касается возникновения наследственных болезней, индукции опухолей, проявления тератогенных эффектов у человека и животных. Проблема возможных отрицательных биологических и генетических последствий лекарственных препаратов и химических соединений волнует не только ученых, но и общественность. Правительство многих стран, международные организации и ООН, учредившую специальную программу (UMER- United Nations Environmental Programme) в которой этим вопросам уделено первостепенное внимание.

Учитывая, что пироплазмозидные и трипанозидные препараты - азидин, диамидин и растворенные формы аллопуринола недостаточно изучены в отношении возможных отдаленных последствий их влияния на организм, перед нами для исследования были поставлены следующие задачи:

1. Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия азидина, диамидина и растворенных форм аллопуринола.
2. Изучение мутагенного действия азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола.
3. Определение лечебной дозы растворенных форм аллопуринола при случной болезни лошадей.
4. Изучение возможности тестирования токсических свойств азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола на свободживущих амебах.

Научная новизна. Показано отсутствие эмбриотоксических, тератогенных и мутагенных свойств азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола.

Практическая ценность работы. Азидин, диамидин и растворенная форма аллопуринола не влияют на эмбриональное развитие у крыс, коров, овец, что делает их применение безопасным в ветеринарной практике. Разработано временное наставление по применению растворенной формы аллопуринола при случной болезни лошадей (утверждено Главным управлением ветеринарии Государственной комиссии Совета Министров СССР по продовольствию и закупкам 15 марта 1990 г.).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Изучение эмбриотоксических, тератогенных и мутагенных свойств азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола.
2. Определение лечебной дозы растворенной формы аллопуринола при случной болезни лошадей.
3. Изучение возможности тестирования токсических свойств азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола на свободн-ноживущих амебах.

Апробация результатов исследований. Материалы диссертации доложены и обсуждены на:

X конференции молодых ученых ВГНИ ветпрепаратов (Москва, январь 1988 г.);

XI конференции молодых ученых ВГНИ ветпрепаратов (Москва, январь 1989 г.);

Конференции молодых ученых ВНИИВС (Москва, январь 1989 г.)

Научной конференции молодых ученых "Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и ветеринарной биотехнологии" (Москва, 1988-1989 гг.);

Ученом совете ВГНИ ветпрепаратов (Москва, ноябрь, декабрь 1988-1989 гг.);

Межлабораторном совещании научных сотрудников ВГНИ ветпрепаратов (Москва, ноябрь 1989 г.);

Межкафедральной научной конференции сотрудников МВА (Москва, 1990 г.).

Публикации результатов исследований. По теме диссертации опубликованы три научные статьи и одна сдана в печать.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 140 страницах машинписного текста и включает: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов, выводы и практические предложения. Работа содержит 19 таблиц и 10 рисунков. Список литературы насчитывает 261 источник, из которых 148 отечественных и 113 иностранных.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы

Работа выполнялась в лаборатории контроля и стандартизации лекарственных препаратов и кормовых добавок ВНИИ ветпрепаратов. Под опытом находилось 1200 белых беспородных крыс, 19 лошадей, 1000 белых мышей и 40 морских свинок.

В работе были использованы азидин, диамидин, аллопуринол, аллопуринол растворенный на *N*-метил-2-пирролидоне, аллопуринол, растворенный на диметилсульфоксиде.

Азидин - серия 20187, выпущен в январе 1987 г.

Диамидин - серия 10387, выпущен в марте 1987 г.

Аллопуринол, растворенный в *N*-метил-2-пирролидоне, 2%-ный опытной серии, изготовлен в январе 1988г.

Аллопуринол, растворенный в диметилсульфоксиде, 5%-ный, опытной серии, изготовлен в январе 1988 г.

Изучение острой токсичности азидина, диамидина и растворенных форм аллопуринола проводили на белых беспородных крысах с массой тела 180-200 г. Испытуемые препараты вводили подкожно. Расчет LD_{50} и другие показатели осуществляли методом пробит-анализа, предложенного Литчфилдом и Уилкоксоном в модификации Э.Рота (М.Л.Беленький, 1963). Наблюдения за экспериментальными животными после однократного введения препарата проводили в течение 14 дней.

Определение лечебной дозы азидина и растворенных форм аллопуринола для белых крыс проводили при их заражении лабораторными штаммом *Tyranosoma equiperdum* Doflein.

Для определения лечебной дозы диамидина для белых крыс использовали лабораторный штамм *Babesia rodhaini*.

Поскольку взрослые крысы не заражаются *Babesia rodhaini*, для определения лечебной дозы указанного препарата мы заражали крысят месячного возраста массой 30-35 г. На каждую дозу брали по 5 крысят. Заражение крыс проводили путем внутрибрюшинного

введения крови, разведенной соевым цитратом.

Для заражения при определении лечебной дозы азидина и растворенных форм аллопуринола готовили взвесь, содержащую в разведенной капле 3-4 трипаносомы в одном поле зрения (40 x 10).

Зараженных трипаносомами крыс разбивали на группы по 5 крыс. Препараты вводили подкожно как однократно, так и многократно. В каждом опыте была группа нелеченных крыс, которая служила контролем.

В основу изучения эмбриотоксического и тератогенного действия препаратов были положены "Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию", одобренные фармакологическим комитетом МЗ СССР 10 января 1986 г. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самках массой 180-220 г и самцах массой 230-250 г, которые являются общепринятым тестом для такого рода исследований (крысы были получены из питомника "Крюково" АМН СССР). Для опытов брали крыс только с нормальным эстральным циклом, который является показателем нормального функционирования репродуктивной системы.

Препараты (азидин, диамидин, аллопуринол, растворенный в диметилсульфоксиде 5%-ный и в *m*-метил-2-пирролидоне 2%-ный), вводили самкам один раз в сутки подкожно, в одно и то же время с 1-го по 6-й, с 6-го по 16-й, и с 16-го по 19-й дни беременности. Результаты опытов учитывали на 20-й день беременности. После внешнего осмотра плоды в помете от каждой самки делили на две равные группные группы для исследования на наличие аномалий внутренних органов по методу Вильсона (J.G. Wilson, 1965) в модификации отдела эмбриологии НИИЗМ АМН СССР (А.П. Дыбан и др., 1970) и костной системы после ее окрашивания по методу Даусона (A.B. Dawson, 1926).

Изучение мутагенного действия азидина, диамидина и аллопуринола проводили в соответствии с "Методическими рекомендациями по определению мутагенной активности ветеринарных препаратов", утвержденными отделением ветеринарии ВАСХНИЛ (Москва, 1983г.). Для изучения митотического индекса и анализа хромосомных аберраций на стадии анаелофазы использовали метод Жара (1942). Мутагенную активность препаратов определяли совместно с м.н.с. ВГНКИ ветпрепаратов Цветковой Н.Н. Исследование мутагенных

свойств азидина, диамидина, аллопуринола проведено на белых леспородных крысах (первоначальная масса тела 120-140 г), подвергавшихся воздействию препаратов в условиях субхронического эксперимента в течение 30 дней. Препараты вводили: азидин и диамидин - внутримышечно, аллопуринол - подкожно. Эксперимент проведен на 160 животных, которые были разделены на 16 групп, по 10 голов в каждой. Препараты дозировали в миллиграммах на килограмм массы тела животных. Животным контрольной группы вводили растворитель в соответствующем объеме.

Для изучения возможности использования свободноживущих амёб для токсикологической оценки пироплазмозидных и трипанозидных препаратов мы использовали свободноживущую амёбу *Hartmannella rhysodes* Singh (1952), выделенную Ю.Г.Гельцером из почв Московской области. Указанную культуру амёб мы получили от сотрудника кафедры почвоведения МГУ им. Ломоносова Ю.Г.Гельцера. При анализе действия химиотерапевтических препаратов на амёб мы учитывали следующие показатели: 1) влияние на движение; 2) действие на работу сократительной вакуоли; 3) образование покоящихся стадий; 4) влияние на эксцистирование.

Результаты исследований подвергались статистической обработке по методам, рекомендуемым И.А.Чистяковым (1966), И.В.Поляковым, Н.С.Соколовым (1975). Статистическую значимость различий устанавливали по величине "t" критерия Стьюдента.

Различия считались существенными (достоверными) при $P < 0,05$, вероятными при $0,05 < P < 0,1$ и несущественными при $P > 0,05$.

2.2. Изучение острой токсичности и лечебной эффективности азидина, диамидина и растворенных форм аллопуринола на белых крысах

2.2.1. Опыты по определению острой токсичности

В результате изучения токсических свойств при подкожном введении азидина, диамидина и растворенных форм аллопуринола установили, что среднесмертельная доза для крыс (LD_{50}) для азидина составляет 206 (195,6-216,9), для диамидина 52,7 (48,71 - 57,02), для аллопуринола, растворенного в диметилсульфоксиде (5%) - 524,5 (521,9 - 527,1) мг/кг, для аллопуринола, растворенного

го в Ψ -метил-2-пирролидоне (2 %) - 54,0 (43,8-66,3) мг/кг.

2.2.2. Опыты по изучению лечебной эффективности препаратов

Результаты исследования показали, что минимальной дозой, обеспечивающей стерилизующий эффект, является 16 мг/кг. Биологическая проверка, поставленная от крыс, лечившихся этой дозой, дала отрицательный результат.

Опыты по определению лечебной дозы диамидина для белых крыс, как уже указывалось выше, проводили на крысках месячного возраста массой тела 30-35 г. В результате исследований установлено, что лечебной дозой диамидина для крыс является 8 мг/кг массы тела.

Изучение лечебной и профилактической активности 5 %-ного аллопуринола, растворенного в диметилсульфоксиде, проводили на 70-ти белых крысах. Результаты опыта показали, что минимальной эффективной дозой для аллопуринола, растворенного в диметилсульфоксиде (5 %), является 25 мг/кг. Лечебный эффект проявлялся удлинением срока жизни по сравнению с контрольной группой. Однако через 19,2 дней после лечения наступали рецидивы и животные погибали. И только при введении доз 300 мг/кг массы тела в лечебном опыте и 200 мг/кг массы тела в профилактическом опыте происходила полная стерилизация организма животных от паразита. Биологическая проверка от крыс, лечившихся этими дозами, дала отрицательный результат.

Лечебно-профилактическую активность 2 %-ного аллопуринола, растворенного в Ψ -метил-2-пирролидоне, изучали на 40 белых крысах как в профилактическом, так и лечебном опыте. В результате исследований установлено, что минимальной эффективной дозой для аллопуринола, растворенного в Ψ -метил-2-пирролидоне (2 %), является 5 мг/кг. Лечебный эффект проявлялся удлинением срока жизни по сравнению с контрольной группой. Даже введение дозы 30 мг/кг, то есть максимально переносимой дозы полностью не стерилизовало организм крыс от паразита.

2.3. Изучение эмбриотоксической и тератогенной активности азидина, диамидина и растворенных форм аллопуринола

В результате исследований установлено, что многократное подкожное введение азидина, диамидина, 5 %-ного аллопуринола,

растворенного в диметилсульфоксиде, 2 %-ного аллопуринола, растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне, соответственно в дозах 12 мг/кг, 5 мг/кг, 50 мг/кг и 10 мг/кг массы тела с 1-го по 6-й дни беременности не вызывает у крыс выраженных токсических явлений. При вскрытии крыс на 20-й день беременности установили, что животные, получившие вышеуказанные препараты, по числу желтых тел в яичнике, числу мест имплантаций и резорбций в матке, а также по числу живых и мертвых плодов существенно не отличались от контрольных животных. Показатели предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной смертности в подопытных группах, получивших азидин, диамидин и растворенные формы аллопуринола, не отличались от контрольных ($P > 0,05$). Средняя предимплантационная смертность при введении азидина, диамидина, аллопуринола, растворенного в диметилсульфоксиде (5 %), и аллопуринола, растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне, равнялась соответственно $9,1 \pm 0,51$; $8,6 \pm 1,48$; $9,9 \pm 1,25$; $10,2 \pm 1,5$ %; постимплантационная - $1,7 \pm 0,91$; $2,2 \pm 1,62$; $2,2 \pm 0,98$; $2,9 \pm 1,11$ % и общая - $10,7 \pm 0,14$; $10,6 \pm 1,9$; $12,0 \pm 1,06$; $12,9 \pm 1,23$ %; в контроле эти показатели были соответственно равны - $9,2 \pm 0,86$; $2,5 \pm 1,16$; $11,5 \pm 1,51$ %.

При исследовании внутренних органов и костной системы плодов дефектов развития не выявлено.

Введение азидина, диамидина, 5 %-ного аллопуринола, растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне, соответственно в дозах 6 и 12 мг/кг, 8 мг/кг, 25 и 50 мг/кг, 5 и 10 мг/кг массы тела с 6-го по 16-й дни беременности не вызывало у крыс выраженных токсических явлений. При вскрытии крыс на 20-й день беременности установили, что животные, получившие вышеуказанные препараты, по числу желтых тел в яичнике, числу мест имплантаций и резорбций в матке, а также по числу живых и мертвых плодов существенно не отличались от контрольных животных. Показатели предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной смертности в подопытных группах, получивших азидин, диамидин и растворенные формы аллопуринола, при вышеуказанных дозах и выбранном режиме введения, не отличались от контрольных.

Средняя предимплантационная смертность при введении азидина, диамидина, 5 %-ного аллопуринола, растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне, с 6-го по 16-й дни беременности соответственно в дозах 12 мг/кг, 8 мг/кг, 50 мг/кг и 10 мг/кг равнялась соответственно

9,6±0,99, 9,8±1,45, 9,9±0,94, 9,6±0,91 %, постимплантационная - 2,7±0,15, 2,4±1,65, 3,04±0,2, 2,8±0,21 % и общая - 12,1±0,49, 11,8±2,64, 12,7±0,87, 12,3±0,96%, в контроле эти показатели соответственно для азидина и диамидина равны 9,0±0,94, 2,5±0,14 и 11,4±0,87 %, а для контроля у растворенных форм аллопуринола эти показатели соответственно следующие - 9,7±0,99, 2,6±0,09 и 11,5±0,92 %. Различия в массе плодов, их длине, массе плацент, их диаметре и плодоплацентарных коэффициентах не достоверны. При исследовании внутренних органов и костной системы плодов дефектов развития не выявлено.

Введение азидина, диамидина, 5%-ного аллопуринола, растворенного в диметилсульфоксиде, и 2%-ного аллопуринола, растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне, соответственно в дозах 12 мг/кг, 8 мг/кг, 50 мг/кг, и 10 мг/кг массы тела с 16-го по 19-й дни беременности также не вызвало у крыс токсических явлений. При вскрытии крыс на 20-й день беременности установили, что животные, получившие вышеуказанные препараты, по числу желтых тел в яичнике, числу мест имплантаций и резорбций в матке, а также по числу живых и мертвых плодов существенно не отличались от контрольных животных. Показатели предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной смертности в подопытных группах, получивших азидин, диамидин и растворенные формы аллопуринола, не отличались от контрольных. Различия в массе плодов, их длине, массе плацент, их диаметре и плодоплацентарных коэффициентах не достоверны. При исследовании внутренних органов и костной системы плодов дефектов развития не выявлено.

Вскрытие животных, получивших циклофосфан в один из дней (13) беременности показано, что в яичнике имеются желтые тела, в матке - плацента с остатками мертвой ткани, размеры плаценты значительно меньше таковых у контрольных животных того же срока развития.

Изучение эмбрионального материала показало, что введение циклофосфана крысам в дозе 30 мг/кг массы тела в один из дней беременности (13) вызвало увеличение предимплантационной смертности до 11,58±0,98%, постимплантационной смертности до 62,6±5,63 %, общей эмбриональной смертности до 67,1±4,83 %, в контроле (дистиллированная вода) эти показатели составили соответственно 10,03±0,23 %, 2,6±0,16 %, 12,5±0,23 %.

Изучение краниокаудальных размеров показало задержку роста у плодов. Так, среднее значение краниокаудального размера плодов в группах крыс, получивших циклофосфан на 13-й день беременности в дозе 30 мг/кг (подкожно), не превышало $17,4 \pm 0,62$, в то время как в контроле (дистиллированная вода) - $31,4 \pm 0,06$ мм.

В дальнейшем мы однократно вводили диамидин в дозе 2 мг/кг массы тела двум коровам со сроком стельности 4 месяца, а также азидин в дозе 3 мг/кг массы тела трем овцам со сроком суягности 3 месяца. У этих животных аборт не отмечали, постнатальное развитие телят и ягнят было в пределах физиологической нормы.

2.4. Изучение мутагенного действия азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола

Изучение мутагенного действия азидина, диамидина и 2%-ного аллопуринола, растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне, преследует цель - определить отдаленные последствия применения данных препаратов в животноводстве. В результате проведенных исследований установили, что азидин не влияет на митотический индекс клеток костного мозга и не увеличивает статистически достоверно частоту хромосомных aberrаций. Подкожное введение суспензии порошка аллопуринола и внутримышечное введение диамидина в терапевтической и 5-кратной терапевтической дозах не вызывает изменений митотического индекса клеток костного мозга и не индуцирует хромосомные aberrации. Внутримышечное введение диамидина в 10-кратной терапевтической дозе и подкожное введение аллопуринола порошка в виде суспензии в 10-кратной дозе в течение 30 дней приводило к возрастанию частоты хромосомных aberrаций для диамидина до $7,04 \pm 1,02$ %, а для аллопуринола до $7,4 \pm 1,01$ % по сравнению с контрольной группой $3,88 \pm 1,33$ % ($P < 0,05$), митотический индекс оставался в пределах физиологической нормы ($P > 0,05$). При подкожном введении аллопуринола, растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне, в лечебной и двукратно превышающей количество (то есть 5 и 10 мг/кг) в течение 15 дней существенно не влияло на митотический индекс и на частоту хромосомных aberrаций клеток костного мозга белых крыс. Лишь при повышении дозы до 20 мг/кг (4-кратно превышающая лечебную для белых крыс) происходило увеличение частоты хромосомных aberrаций до $7,58 \pm 1,28$ %. Другие результаты были получены при подкожном введении белым крысам циклофосфана в дозах 10, 20 и

40 мг/кг массы тела в течение 15 дней, в частности при инъекции дозы 10 мг/кг частота хромосомных aberrаций увеличивалась до $32,3 \pm 0,97\%$, в дозе 20 мг/кг до $38,9 \pm 1,04\%$, а при 40 мг/кг массы тела происходил распад клеток, у контрольной группы она составляла $4,00 \pm 1,03\%$.

Обобщая вышеуказанные данные, необходимо отметить отсут. вие у азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола повреждающего действия на клетки костного мозга белых крыс.

2.5. Определение лечебной дозы растворенных форм аллопуринола при экспериментальном трипаносомозе лошадей

Учитывая положительные результаты лечения растворенными формами аллопуринола лабораторных животных при экспериментальном трипаносомозе белых крыс, нами были проведены опыты по проверке лечебной эффективности растворенных форм аллопуринола на больных лучевой болезнью лошадях. В своей работе мы использовали адаптированных к лабораторным животным штамм *Trypanosoma equiperdum*

Doflein

Заражение лошадей проводили путем подкожного введения взвеси трипаносом в объеме 5 мл, полученной из крови больных трипаносомозом белых мышей. Кровь разводили в соотношении 1:2. Биопробы, поставленные на белых мышах, через 20-26 дней после заражения были положительными. О лечебном действии испытуемых препаратов судили по эффекту, который характеризовался отсутствием трипаносом в периферической крови животных в период 23-42 дней после лечения, а также отрицательной биологической пробой и клиническим состоянием животных.

Опыт I. Двум лошадям был введен внутривенно аллопуринол, растворенный в диметилсульфоксиде, в форме 5 %-ного раствора в дозе 10 мг/кг массы тела. Инъекция животным 5 %-ного аллопуринола в этом же количестве не вызвала у лошадей изменения состояния. Биопроба, поставленная через 23 дня после лечения, была отрицательная, через 42 дня после лечения была положительной.

Дополнительно на двух лошадях испытывали вышеуказанный препарат в дозе 20 мг/кг. Через 1-1,5 мин : сле введения препарата клиническое состояние животных ухудшилось, появились шаткость походки, тремор мышц конечностей и тела, мочеиспускание, после чего

животные легли. Через 20-30 мин указанные клинические признаки у животных прошли. Биопроба, поставленная через 23 дня после лечения была отрицательной, а через 42 дня - положительной.

Опыт 2. Восьми лошадям экспериментально зараженным *Trypanosoma equiperdum* внутривенно вводили аллопуринол в форме 2 %-ного раствора на *N*-метил-2-пирролидоне в дозах 10 мг/кг, 5 мг/кг, 2,5 мг/кг и 0,7 мг/кг массы тела. На каждую дозу брали по две лошади. После введения 5 мг/кг и 2,5 мг/кг массы тела появлялись шаткость походки, обильное мочеиспускание, а после введения 10 мг/кг массы тела - тремор мускулатуры конечностей и лошади ложились. Указанные признаки через 20-30 мин проходили, а через 6-12 ч клиническое состояние у животных приходило в норму.

Биопробы, поставленные через 23 и 42 дня после введения 10 мг/кг, 5 мг/кг и 2,5 мг/кг массы тела, были отрицательные.

Биопробы, поставленные через 23 дня после введения 2 %-ного раствора аллопуринола на *N*-метил-2-пирролидоне в дозе 0,7 мг/кг массы тела, были положительны. Дополнительно двум лошадям, экспериментально зараженным *Trypanosoma equiperdum* двукратно внутривенно вводили аллопуринол в форме 2 %-ного раствора на *N*-метил-2-пирролидоне в дозе 1 мг/кг массы тела. После двукратного введения с интервалом 7 дней аллопуринола (2 %), растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне, в количестве 1 мг/кг массы тела осложнений у животных не отмечалось. Клиническое состояние больных случной болезнью лошадей улучшилось. Впоследствии в организме лошадей трипаносомы не обнаруживались.

Результаты исследований по определению лечебной дозы растворенных форм аллопуринола при экспериментальном трипаносомозе лошадей свидетельствует о том, что наиболее эффективны при случной болезни лошадей является аллопуринол, растворенный в *N*-метил-2-пирролидоне.

2.6. Изучение лечебной эффективности 2 %-ного аллопуринола, растворенного на *N*-метил-2-пирролидоне при экспериментальном нутталлиозе лошадей

Учитывая положительные результаты лечения 2 %-ным аллопуринолом на *N*-метил-2-пирролидоне больных случной болезнью лошадей, был проведен опыт по изучению лечебной эффективности данного пре-

парата на больных нутталлиозом лошадях. Через 30 дней после заражения внутривенно ввели 2 %-ный аллопуринол на *N*-метил-2-пирролидоне в дозе 1 мг/кг массы тела, двукратно с интервалом 7 дней.

По результатам исследований установлено, что 2 %-ный аллопуринол, растворенный на *N*-метил-2-пирролидоне, при двукратном введении в дозе 1 мг/кг массы тела с интервалом 7 дней не санирует организм лошадей от *Nuttallia equi*.

2.7. Изучение возможности использования свободноживущих амёб для тестирования токсических свойств азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола

Проведенные исследования по изучению действия азидина, диамидина и аллопуринола, растворенного в *N*-метил-2-пирролидоне (2 %), на свободноживущую амёбу *Hartmannella rhyssodes* Singh свидетельствует о том, что изменения, происходящие под действием испытуемых препаратов - однотипные. Следует отметить, что основным недостатком выбранного объекта исследования является культивирование амёб в среде с добавлением в качестве пищевого источника *Azotobacter chroococcum*. И любое соединение или фактор внешней среды, влияющие на рост, или развитие азотобактера оказывает косвенное воздействие и на амёбу. Даже снижение температуры, ниже которой прекращается рост азотобактера, влияет и на амёбу. В результате нехватки пищевого источника амёбы переходят в стадию покоя, а затем инцистируются.

Таким образом, свободноживущие почвенные амёбы *Hartmannella rhyssodes* Singh по нашему мнению, не могут быть использованы в качестве лабораторной модели при тестировании активности химиотерапевтических препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Величина LD_{50} у азидина для белых крыс составляет 206 (195,6-216,9) мг/кг, LD_{50} у диамидина 52,7 (48,7-57,02), LD_{50} 2 %-ного раствора аллопуринола на *N*-метил-2-пирролидоне составляет 54,0 (43,8-66,3) мг/кг, что позволяет отнести его согласно ГОСТ 12.1.007.76 ко второму классу опасности.

2. Пироплицидные и трипаносидные препараты: азидин, диамидин и растворенные формы аллопуринола при многократном введении

с I-го по 6-й, с 6-го по 16-й и с 16-го по 19-й дни беременности в лечебной и двукратно превышающей лечебную дозу для крыс, и при однократном введении в один из дней беременности (I, 7, 9, 11, 13 и 19) в дозах, пятикратно превышающих лечебную дозу для крыс у азидина, 4 раза - у растворенных форм аллопуринола и 2 раза - у диамидина не увеличивают эмбриональной смертности, не вызывают врожденных пороков развития и не оказывают отрицательного влияния на постнатальное развитие крысят.

3. Азидин не влияет на митотический индекс и не увеличивает частоту хромосомных aberrаций клеток костного мозга белых беспородных крыс. Аллопуринол и диамидин в терапевтической и 5-кратной терапевтической дозах не вызывает изменения митотического индекса и не индуцируют хромосомные aberrации в клетках костного мозга белых крыс. Аллопуринол на *N*-метил-2-пирролидоне не влияет на митотический индекс и не увеличивает частоту хромосомных aberrаций в клетках костного мозга белых крыс.

4. Наиболее эффективным при случайной болезни лошадей является 2 %-ный раствор аллопуринола на *N*-метил-2-пирролидоне. Двукратное внутривенное введение данного препарата в дозе 1 мг/кг массы тела с интервалом 7 дней приводит к полной стерилизации лошадей от возбудителя случайной болезни лошадей. Эффективным для белых крыс, зараженных трипаносомозом, является аллопуринол, растворенный в диметилсульфоксиде (5 %), поскольку при введении в дозах 300 мг/кг в лечебном и 200 мг/кг в профилактическом опыте происходила полная стерилизация организма крыс от паразита; при введении аллопуринола на *N*-метил-2-пирролидоне даже максимально переносимая доза не обладала стерилизующими свойствами.

5. Двукратное введение 2 %-ного аллопуринола, растворенного на *N*-метил-2-пирролидоне, в дозе 1 мг/кг массы тела с интервалом 7 дней не стерилизует организм лошадей от *Mutallia equi*.

6. Стерилизующий эффект растворенных форм аллопуринола для лабораторных и сельскохозяйственных животных не сопровождается корреляцией.

7. Свободноживущие почвенные амёбы по своим биологическим свойствам: зависимость роста от наличия азотобактера и недостаточного их количества в популяции в фазе экспоненциального роста не могут быть использованы для тестирования биологической активности азидина, диамидина и растворенной формы аллопуринола.

Библиотека

СамСХИ

ИНВ. № 13324

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Результаты токсикологических исследований 2 %-ного аллопуринола, растворенного на N-метил-2-пирролидоне, явились основанием для его внедрения в ветеринарную практику. Разработано временное наставление по применению растворенной формы аллопуринола для профилактики и лечения случной болезни лошадей (утверждено Главным управлением ветеринарии Государственной комиссии Совета Министров СССР по продовольствию и закупкам 15 марта 1990 г.).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Рахматуллин Э.К. Влияние азидина и диамидина на репродуктивные функции организма животных //Ветеринария, 1989 г. - № 6. - С.52.
2. Рахматуллин Э.К., Цветкова Н.Н. Изучение мутагенного действия азидина, диамидина и аллопуринола //Ветеринария, 1989 г. - № 9. - С.60.
3. Рахматуллин Э.К. Показатели острой токсичности и эффективности растворенных форм аллопуринола для крыс //Реф. ж. Ветеринария, 1989 г. - № 7. - С.112. Деп. ВНИИТЭИ 07.04.89. № 203 ВС-89 ДСП.

Важно!

Л - 40244 Подписано в печать 6.04.90г.
Формат 60x84/16 Заказ 551 Тираж 110

Москва. Типография ВАСХНИИ

