

# ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

## ▶ КОНКУРС НАУЧНЫХ РАБОТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ

УДК 615.099-632.951

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-1-49-53

## ИММУНОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ИВЕРМЕКТИНА У ПРОДУКТИВНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Т.В. Герунов

ФГБОУ ВО Омский государственный  
аграрный университет имени  
П.А. Столыпина, 644008, г. Омск,  
Российская Федерация

**Ц**ель работы – выявить иммунотропные эффекты ивермектина у продуктивных и лабораторных животных в реальных и модельных условиях.

Исследования проведены на свиньях гибридной линии в возрасте 144 дней в условиях промышленного свинокомплекса и крысах линии Вистар в возрасте 5 месяцев с массой тела 230-250 г. В опытах использовали инсектоакарицидный препарат Ивермин (Biovet Drwalew S.A., Польша), который вводили свиньям однократно подкожно в дозе 0,2 мг/кг, крысам – в десятикратной терапевтической дозе. Забор крови у свиней осуществляли до введения Ивермина, через 1, 3, 7, 14 и 30 суток после введения. В сыворотке крови определяли уровень иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Для приготовления гистопрепаратов брали у крыс кусочки тимуса, селезенки и лимфоузлов через 14 суток после введения препарата. При статистической обработке экспериментальных данных использовали Т-критерий Стьюдента для зависимых выборок.

При исследовании сыворотки крови свиней установлено снижение содержания IgG во все сроки исследования, IgM и IgA – через 7 суток после начала опыта. По окончании эксперимента уровень IgG оставался ниже фонового значения на 16,4%; IgM – на 15,2%; IgA – на 33%. В тимусе крыс отмечено сужение коркового вещества при введении токсической дозы Ивермина, фолликулы селезенки уменьшены, центры размножения в них слабо выражены. Вокруг фолликулов наблюдается скопление гемосидерина. В брыжеечных лимфатических узлах отмечается утолщение капсулы и расширение трабекул. Корковое вещество сужено, паракортикальная зона расширена. Результаты исследования указывают на высокую степень риска иммунотоксических эффектов ивермектина.

**Ключевые слова:** ивермин, ивермектин, пестициды, иммунотропные эффекты, крысы, свиньи.

Цит.: Т.В. Герунов. Иммунотропные эффекты ивермектина у продуктивных и лабораторных животных. Токсикологический вестник. 2020; 1: 49-53.

**Введение.** Авермектины – продукты жизнедеятельности грибов *Streptomyces avermitilis*. Ивермектин (В1а и В1б 5-О-диметил-22,23-дигидроавермектин) является наиболее часто используемым соединением из числа авермектинов, ко-

торые представляют собой группу 16-членных макроциклических соединений лактона. Основная сфера их применения – лечение и профилактика ряда экто- и эндопаразитозов [1], в том числе у людей [2]. Наличие разнообразных лекарственных

**Герунов Тарас Владимирович (Gerunov Taras Vladimirovich)**, кандидат биологических наук, доцент кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», tv.gerunov@omgau.org

ных форм обеспечивает удобство его использования и способствует широкому применению в разных клинических ситуациях. При этом особенно актуальным остается изучение дозозависимого действия ивермектина как в модельных опытах на лабораторных животных, так и в условиях производства на продуктивных животных. Это обусловлено противоречивой интерпретацией экотоксикологической характеристики ивермектинов, которые, с одной стороны, считаются относительно безопасными для млекопитающих [3], но в то же время обсуждается возможность их циркуляции в объектах окружающей среды и накопления в нецелевых организмах [4].

Для многих токсикантов (в том числе пестицидов) характерно разновекторное влияние на организм даже при условии четко определенного механизма действия и молекул-мишеней [5]. Механизм действия ивермектина реализуется за счет повышения активности рецепторов  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и глутамат-управляемых хлорид-ионных каналов (Glu-Cl) [6-8]. У млекопитающих ГАМК-чувствительные нейроны защищены гематоэнцефалическим барьером, что, по мнению ряда авторов, обуславливает меньшую токсичность этой группы соединений для животных [8, 9]. Однако описано негативное влияние ивермектинов на сердечно-сосудистую [10], репродуктивную, эндокринную [11] и другие системы, что свидетельствует о политропном действии препаратов данной группы. Важная роль в регуляции гомеостаза принадлежит иммунной системе, которая в кооперации с нервной и эндокринной образует единую регуляторную систему организма [12]. Изменение ее реактивности сопровождается нарушением функционирования разных органов и систем.

*Цель исследования* – выявить иммунотропные эффекты ивермектина у продуктивных и лабораторных животных в реальных и модельных условиях.

**Материалы и методы исследования.** Работу выполняли в два этапа. На первом этапе исследования изучали влияние препарата Ивермин (действующее вещество – ивермектин) на содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови свиней в производственных условиях на базе одного из промышленных свинокомплексов. Для этого после однократного введения животным Ивермина в терапевтической дозе (0,2 мг/кг) проводили в динамике количественное определение иммуноглобулинов отдельных классов (изотипов) в двух повторностях методом радиальной иммунодиффузии по Манчини с использованием моноспецифических антисывороток и моноклональных антител к отдельным классам иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) и стандартной сыворотки крови свиней с известным

содержанием иммуноглобулинов каждого изо-типа [13].

На втором этапе работы изучали иммунотоксическое действие Ивермина в модельных опытах на лабораторных животных. Для этого использовали десятикратную терапевтическую дозу (2 мг/кг) для определения вектора развития иммунотропных эффектов и выявления органов-мишеней в структуре иммунной системы. Для этого был проведен эксперимент на крысах-самцах (Wistar) с массой тела 230-250 г., которых разделили на две группы (n=10). Первая группа была контрольной (интактные животные, которым внутримышечно вводили физиологический раствор), животным второй группы внутримышечно однократно инъецировали Ивермин. Через 14 суток после этого животных подвергали эвтаназии и проводили патоморфологические исследования. Части тимуса, селезенки и брыжеечных лимфатических узлов фиксировали в 4%-ном нейтральном растворе формальдегида. Обезвреживание проб проводили в спиртах восходящей концентрации с последующей заливкой в парафин. Со сформированных парафиновых блоков на ротационном микротоме получали срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Соединения железа окисной формы, содержащиеся в гемосидерине, выявляли реакцией на берлинскую лазурь по Перлсу. Микрофотосъемку гистологических препаратов проводили на цифровом микроскопе Альтами БИО 1 («Альтами», Россия).

Во время опытов и в процессе выведения крыс из эксперимента соблюдались требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

Экспериментальные данные обрабатывали при помощи Т-критерия для зависимых выборок. Различия считали статистически значимыми при  $P < 0,05$ . Результаты представляли как среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней ( $M \pm SEM$ ). Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc, USA).

**Результаты и обсуждение.** Результаты исследования сыворотки крови свиней после однократной инъекции терапевтической дозы Ивермина с целью профилактики нематодозов и эктопаразитозов представлены в таблице 1.

Во все сроки исследования (через 1, 3, 7, 14 и 30 суток после инъекции) отмечали статистически значимое снижение содержания иммуноглобулинов G по сравнению с фоновым показателем. Содержание иммуноглобулинов M и A снижалось со статистической достоверностью лишь через 7 суток после начала опыта и не достигало исход-

Таблица 1

**Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови свиней после обработки Ивермином,  
n=10, M±SEM**

Интервал времени,	Содержание иммуноглобулинов, мг/мл		
	IgG	IgM	IgA
До введения (в возрасте 144 дней)	21,18±0,17	3,03±0,06	0,917±0,009
Через 1 сутки после введения	20,45±0,17 P=0,0023	3,06±0,04 P=0,7508	0,892±0,010 P=0,1447
Через 3 суток после введения	20,25±0,20 P=0,0076	2,95±0,04 P=0,3657	0,860±0,019 P=0,0600
Через 7 суток после введения	20,09±0,04 P=0,0001	2,49±0,19 P=0,0428	0,789±0,018 P=0,0003
Через 14 суток после введения	19,76±0,25 P=0,0007	2,74±0,10 P=0,0377	0,752±0,014 P<0,0001
Через 30 суток после введения	17,70±0,55 P=0,0004	2,57±0,10 P=0,0036	0,614±0,011 P<0,0001

ных значений через 30 суток ( $P<0,01$ ). При этом по окончании эксперимента уровень IgG оставался ниже показателя фона на 16,4%; IgM – на 15,2%; IgA – на 33%.

Результаты исследований свидетельствуют о влиянии терапевтических доз ивермектина на гуморальное звено иммунитета. Сохранение пониженного уровня IgG в сыворотке крови свиней в течение 30 дней после обработки животных повышает риск развития иммунодефицитных состояний, так как именно эти белки плазмы крови обеспечивают эффективность вторичного иммунного ответа [14], что имеет принципиальное значение в условиях промышленного животноводства. Внедрение интенсивных технологий в свиноводство требует концентрации поголовья с учетом ограниченных норм площади на одно животное, поэтому основной задачей является профилактика инфекционных заболеваний (главным образом, с помощью многократных вакцинаций). В этих условиях возрастает роль антител вторичного иммунного ответа. Кроме того, проникая через плацентарный барьер, IgG обеспечивают иммунитет плодов и новорожденных [14], поэтому супоросные свиноматки относятся к группе риска при использовании ивермектина. Снижение уровня IgM сопровождается угнетением первичного иммунного ответа [15], а низкий уровень IgA

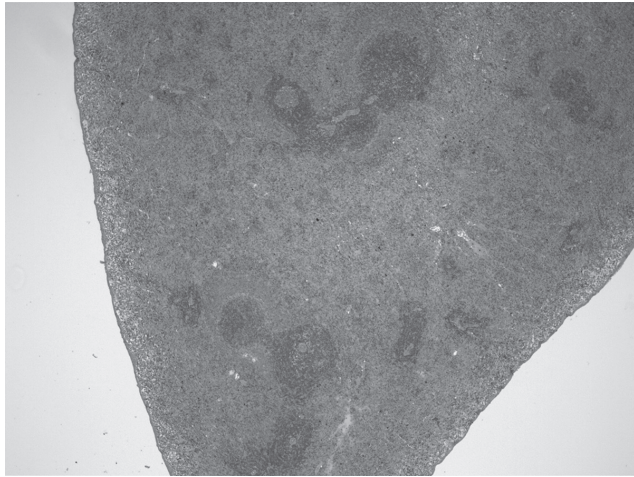
на фоне применения Ивермина свидетельствует о возрастании риска развития недостаточности местного иммунитета, что может способствовать развитию респираторных и желудочно-кишечных заболеваний у животных. Снижение данного показателя всегда говорит о низкой резистентности [16].

Иммунотоксические свойства ивермектина подтверждают результаты патоморфологического исследования органов иммунной системы крыс.

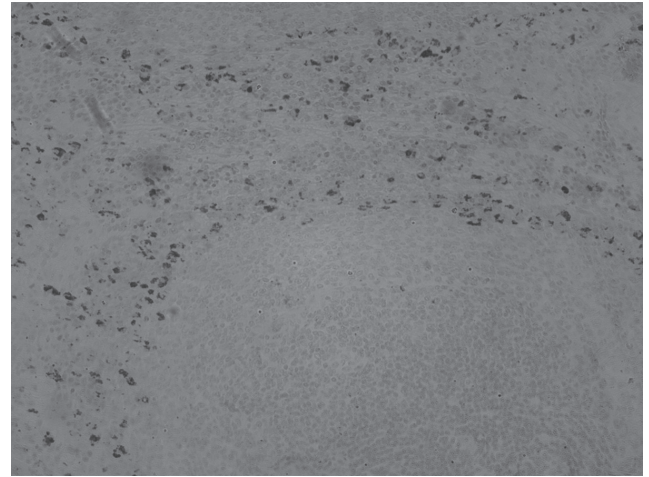
Через 14 суток после однократного введения ивермектина в дозе 2 мг/кг отмечали увеличение селезенки, сосуды ее были кровенаполнены. При микроскопическом исследовании регистрировали в основном мелкие фолликулы. Лишь отдельные фолликулы имели герминативные центры (рис. 1А). В селезенке выявлялось значительное количество гемосидерина, который в основном располагался вокруг фолликулов (рис. 1Б).

Брыжеечные лимфатические узлы были несколько набухшими и покрасневшими. При гистологическом исследовании брыжеечного лимфатического узла наблюдалось утолщение капсулы и расширение трабекул. Кровеносные сосуды были кровенаполнены. Коровое вещество лимфоузлов несколько сужено по сравнению с контрольными животными. Лимфатические узелки в основном мелкие или средних размеров, редко регистриру-

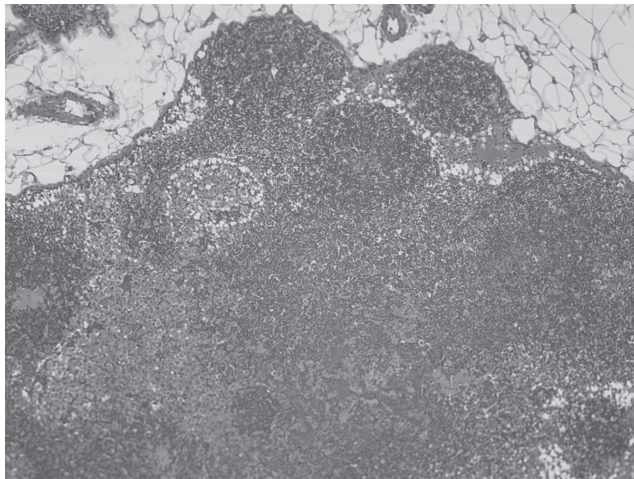




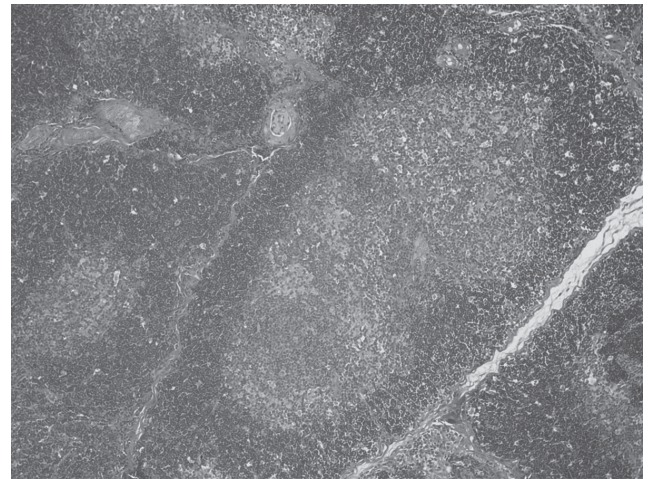
А



Б



В



Г

**Рис. 1.** Мелкие фолликулы в селезенке у крысы, подвергнутой интоксикации ивермектином. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 60$ . (А); Гемосидерин в селезенке крысы после введения ивермектина в токсической дозе. Метод Перлса,  $\times 300$  (Б); Кортикальное и мозговое вещество в брыжеечном лимфатическом узле у крысы при остром отравлении ивермектином. Герминативные центры в узелках слабо выражены. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 150$ . (В); Сужение коркового вещества тимуса у крысы при остром отравлении ивермектином. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 150$ . (Г).

ются крупные, лишь в отдельных лимфатических узелках выявляются герминативные центры. Корона лимфатических узелков представлена в основном скоплением лимфоцитов. Паракортикальная зона лимфатических узлов несколько расширена. Площадь мозгового вещества увеличена (рис. 1В).

Дольчатое строение тимуса у крыс сохранено. В соединительнотканых перегородках достаточно хорошо заметны кровенаполненные сосуды. Граница коркового и мозгового веществ в дольках тимуса отчетлива различима. Проллиферирующие тимоциты коркового вещества располагаются между эпителиоретикулярными клетками. В мозговом веществе тимуса плотность тимоцитов снижена. Кортикальное

вещество тимуса у интоксигированных животных сужено по сравнению с интактными животными (рис. 1Г).

**Заключение.** Введение ивермектина лабораторным и продуктивным животным независимо от дозы вызывает развитие признаков иммунодепрессии. Морфологические изменения в тимусе, селезенке и лимфоузлах свидетельствуют о том, что иммунная система является уязвимой мишенью действия ивермектина. Длительный период гипогаммаглобулинемии у животных после противопаразитарной обработки повышает риск инфекционных заболеваний, что требует оптимизации плана профилактических мероприятий в промышленном животноводстве.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Laing R., Gillan V., Devaney E. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? Trends Parasitol. 2017; 33(6): 463-72.
2. Chaccour C., Hammann F., Rabinovich N.R. Ivermectin to reduce malaria transmission I. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations regarding efficacy and safety. Malar J. 2017; 16(1): 161.
3. Atakisi E., Atakisi O., Topcu B., Uzun M. Effects of therapeutic dose of ivermectin on plasma nitric oxide and total antioxidant capacity in rabbits. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2009; 13(6): 425-29.
4. Tiwari R.M., Sinha M. Veterinary Toxicology. Jaipur: Oxford Book Company, 2010: 17-38.
5. Герунов Т. В. Редькин Ю.В., Герунова Л.К. Иммуноотоксичность пестицидов: роль в патологии животных и человека. Успехи современной биологии. 2011; 131(5): 474-82.
6. Bai S.H., Ogbourne S. Eco-toxicological effects of the avermectin family with a focus on abamectin and ivermectin. Chemosphere. 2016; 154: 204-14.
7. Zhang Y., Luo M., Xu W., Yang M., Wang B., Gao J., Li Y., Tao L. Avermectin confers its cytotoxic effects by inducing DNA damage and mitochondria-associated apoptosis. J. Agric. Food. Chem. 2016; 64: 6895-902.
8. Zhang Y., Wu J., Xu W., Gao J., Cao H., Yang M., Wang B., Hao Y., Tao L. Cytotoxic effects of Avermectin on human HepG2 cells in vitro bioassays. Environ. Pollut. 2017; 220: 1127-37.
9. Juarez M., Schcolnik-Cabrera A., Dueñas-Gonzalez A. The multitargeted drug ivermectin: from an antiparasitic agent to a repositioned cancer drug. Am. J. Cancer. Res. 2018; 8(2): 317-31.
10. Pimenta P.H., Silva C.L., Noël F. Ivermectin is a nonselective inhibitor of mammalian P-type ATPases. Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol. 2010; 381(2): 147-52.
11. EL-Maddawy Z.K., Abd El Naby W.S.H. Effects of ivermectin and its combination with alpha lipoic acid on expression of IGFBP-3 and HSPA1 genes and male rat fertility. Andrologia. 2018; 50(3).
12. Taub D.D. Neuroendocrine interactions in the immune system. Cell Immunol. 2008; 252(1-2): 1-6.
13. Manchini G., Carbonara A.O., Heremans I.P. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry. 1965; 2(3); 235-54.
14. Schroeder H.W. Jr., Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J. Allergy Clin. Immunol. 2010; 125(2 Suppl 2): S41-S52.
15. Boes M. Role of natural and immune IgM antibodies in immune responses. Mol. Immunol. 2000; 37: 1141-9.
16. Лебедев К.А., Поныкина И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). Москва: Медицинская книга; 2003.

## REFERENCES:

1. Laing R., Gillan V., Devaney E. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? Trends Parasitol. 2017; 33(6): 463-72.
2. Chaccour C., Hammann F., Rabinovich N.R. Ivermectin to reduce malaria transmission I. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations regarding efficacy and safety. Malar J. 2017; 16(1): 161.
3. Atakisi E., Atakisi O., Topcu B., Uzun M. Effects of therapeutic dose of ivermectin on plasma nitric oxide and total antioxidant capacity in rabbits. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2009; 13(6): 425-29.
4. Tiwari R.M., Sinha M. Veterinary Toxicology. Jaipur: Oxford Book Company, 2010: 17-38.
5. Gerunov T.V., Redkin Yu.V., Gerunova L.K. Immunotoxicity of Pesticides and its Role in Animal and Human Pathology. Uspekhi sovremennoy biologii. 2011; 131(5): 474-82 (in Russian).
6. Bai S.H., Ogbourne S. Eco-toxicological effects of the avermectin family with a focus on abamectin and ivermectin. Chemosphere. 2016; 154: 204-14.
7. Zhang Y., Luo M., Xu W., Yang M., Wang B., Gao J., Li Y., Tao L. Avermectin confers its cytotoxic effects by inducing DNA damage and mitochondria-associated apoptosis. J. Agric. Food. Chem. 2016; 64: 6895-902.
8. Zhang Y., Wu J., Xu W., Gao J., Cao H., Yang M., Wang B., Hao Y., Tao L. Cytotoxic effects of Avermectin on human HepG2 cells in vitro bioassays. Environ. Pollut. 2017; 220: 1127-37.
9. Juarez M., Schcolnik-Cabrera A., Dueñas-Gonzalez A. The multitargeted drug ivermectin: from an antiparasitic agent to a repositioned cancer drug. Am. J. Cancer. Res. 2018; 8(2): 317-31.
10. Pimenta P.H., Silva C.L., Noël F. Ivermectin is a nonselective inhibitor of mammalian P-type ATPases. Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol. 2010; 381(2): 147-52.
11. EL-Maddawy Z.K., Abd El Naby W.S.H. Effects of ivermectin and its combination with alpha lipoic acid on expression of IGFBP-3 and HSPA1 genes and male rat fertility. Andrologia. 2018; 50(3).
12. Taub D.D. Neuroendocrine interactions in the immune system. Cell Immunol. 2008; 252(1-2): 1-6.
13. Manchini G., Carbonara A.O., Heremans I.P. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry. 1965; 2(3); 235-54.
14. Schroeder H.W. Jr., Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J. Allergy Clin. Immunol. 2010; 125(2 Suppl 2): S41-S52.
15. Boes M. Role of natural and immune IgM antibodies in immune responses. Mol. Immunol. 2000; 37: 1141-9.
16. Lebedev K.A., Pomykina I.D. Immunodeficiency (detection and treatment). Moscow: Medical book; 2003 (in Russian).

T.V. Gerunov

## IMMUNOTROPIC EFFECTS OF IVERMECTIN IN PRODUCTIVE AND LABORATORY ANIMALS

P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University, 644008, Omsk, Russian Federation

The aim of this work was to identify the immunotropic effects of ivermectin in productive and laboratory animals in real and simulated conditions. The studies were carried out on hybrid pigs at the age of 144 days reared in an industrial pig complex and on Wistar rats aged 5 months with a body weight of 230 - 250 g. For the experiments there was used acaricide insecticide Ivermin (Biovet Drwalew S.A., Poland), which was administered to pigs once subcutaneously in a dose of 0,2 mg / kg and to rats in a tenfold therapeutic dose. Blood samples were taken from pigs either before the administration of Ivermin, and 1, 3, 7, 14 and 30 days after the administration. The level of immunoglobulins (IgG, IgM, IgA) was determined in serum by the method of radial immunodiffusion according to Mancini. To prepare histopreparations, samples of thymus, spleen and lymph nodes were taken from rats 14 days after the administration of the preparation. For statistical processing of experimental data, Student's T-test for dependent samples has been used.

When studying pigs' blood serum, a decrease in the content of IgG was established in all periods of the study. A decrease in level of IgM and IgA was marked in 7 days after the experiment started. At the end of the experiment, the IgG level remained below the background value by 16,4%; IgM - by 15,2%; IgA – by 33%. In the rat thymus, a narrowing of the cortical substance was observed when a toxic dose of Ivermin was injected, with the splenic follicles reduced, and reproduction centers faintly pronounced. Hemosiderin accumulation was detected around the follicles. In the mesenteric lymph nodes, there was found a thickening of the capsule and the expansion of trabeculae. Cortical substance was narrow and paracortical zone was wide. The results of the study indicate a high risk of immunotoxic effect of ivermectin.

**Keywords:** Ivermin, ivermectin, pesticides, immunotropic effects, rats, pigs.

Quote: T.V. Gerunov. Immunotropic effects of ivermectin in productive and laboratory animals. Toxicological Review. 2020; 1: 49-53.

Материал поступил в редакцию 17.06.2019 г.