

УДК: 619:616.513:582.28
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.100

ОЦЕНКА ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОГО И ТЕРАТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО АНТИМИКОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

Мусин Р.Р.* – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0009-0009-4538-2667); Ганиев И.М. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0002-6171-5347); Тремасова А.М. – д-р биол. наук, зав. отделением биотехнологии (ORCID 0000-0002-1706-134X); Бирюля В.В. – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0003-0428-0997); Идиятов И.И. – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0001-9279-4001); Ерошин А.И. – науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0002-3108-410X); Сафарова Э. Р. – мл. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0009-0005-8877-4741).

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности»

* musinrifkat@mail.ru

Ключевые слова: дерматофитозы, эмбриотоксическое действие, тератогенное действие, животные, антимикотическое средство, белые крысы

Keywords: dermatophytosis, embryotoxic effect, teratogenic effect, animals, antimycotic agent, white rats

Поступила: 11.11.2024

Принята к публикации: 02.12.2024

Опубликована онлайн: 16.12.2024



РЕФЕРАТ

Грибковые патогены – дерматофиты часто являются основной причиной возникновения заболеваний кожных покровов у сельскохозяйственных и домашних животных. Данные возбудители способны вызывать поверхностные грибковые инфекции – дерматофитозы. Рынок ветеринарных препаратов для лечения животных при дерматофитозах представлен широким спектром антимикотических средств, однако схемы лечения с применением имеющихся препаратов часто становятся недостаточно эффективными, поскольку у дерматофитов, инфицирующих кожные покровы, возникает к ним резистентность. Вместе с тем, отдельные фармакологические препараты при поступлении в организм с кормом или в результате наружных обработок могут отрицательно воздействовать на физиологическое состояние животных, в частности на их репродуктивную функцию. В работе приведена оценка эмбриотоксического и тератогенного действия, регистрируемого в антенатальном и постнатальном периодах развития потомства белых крыс при наружном применении нового комплексного антимикотического средства против дерматофитозов животных под названием «Фунгикор». Установлено, что препарат в минимальной (1500 мг/кг массы тела) и в максимальной (15000 мг/кг массы тела) дозах при накожном

нанесении самкам белых крыс с 1-го по 19-е сутки беременности не оказывал неблагоприятного действия на развитие эмбрионов и плодов. Достоверных изменений по параметрам постнатального развития потомства опытных групп в сравнении с контролем обнаружено не было. Таким образом, препарат «Фунгикор» эмбриотоксическим и тератогенным действием не обладает.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В связи со значительным экономическим ущербом животноводческому сектору проблема поверхностных грибковых инфекций (дерматофитозов), вызываемых микроскопическими грибами родов *Microsporium spp.* и *Trichophyton spp.* приобретает большое значение. Заболеванию подвержены практически все виды животных. Болеет и человек. Широко распространены дерматофитозы и среди мелких домашних животных. Чаще всего заражение происходит при непосредственном контакте больных животных со здоровыми, реже – через предметы ухода. Возбудители устойчивы к воздействию факторов окружающей среды. Споры дерматофитов отличаются высокой выживаемостью, что способствует распространению заболевания среди животных [1, 2]. Экономические потери в животноводстве при дерматофитозах складываются от потери товарной ценности кожевенного сырья, снижения прироста молодняка и удоев у коров, затрат на лечебные и профилактические мероприятия. Между тем определенное беспокойство вызывает и бессимптомное миконительство, которое по некоторым данным может составлять от 34,8 % до 80,4 % [3]. В последнее время возрастает проблема резистентности микроскопических грибов к противогрибковым средствам, поэтому внедрение в ветеринарную практику новых и эффективных антимикотических препаратов приобретает особую значимость.

Разработан новый комплексный антимикотический препарат на основе эфирных масел под рабочим названием «Фунгикор», предназначенный для терапии дерматофитозов у сельскохозяйственных и домашних животных. В качестве вспомогательных веществ использованы органические соединения, способствующие трансдермальному переносу действующих веществ и оказывающие

смягчающее и дерматопротекторное действие.

Известно, что новые терапевтические средства должны быть безопасными не только для самих животных, но и в отношении их потомства [4, 5]. В связи с возможным развитием поражения плода при введении лекарственных средств животным во время беременности оценка безопасности ветеринарных препаратов является актуальной. Так как некоторые лекарственные препараты могут оказывать неблагоприятное воздействие на развивающийся плод и потомство, то с целью исключения риска развития врожденных пороков необходимо определить их возможное эмбриотоксическое действие, что является важным элементом их доклинической оценки [6-9].

Целью данной работы являлось изучение эмбриотоксического и тератогенного действия нового антимикотического препарата «Фунгикор».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на клинически здоровых аутбредных белых крысах в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая» и «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [10, 11]. Стадию полового цикла у самок устанавливали по состоянию эпителия в вагинальных мазках. Затем к самцам подсаживали самок в состоянии половой охоты (две самки на одного самца). День обнаружения сперматозоидов в вагинальном мазке считали первым днем беременности. Таким образом, сформировали 3 группы оплодотворенных самок белых крыс по 20 голов в каждой.

С 1 по 19 сутки беременности животным опытных групп на предварительно выстриженный участок кожи размером

3x3 см наносили препарат в минимальной (1500 мг/кг массы тела – группа опыт 1) и максимальной (15000 мг/кг массы тела – группа опыт 2) дозах. Крысам контрольной группы на кожу наносили дистиллированную воду. Клинический осмотр животных проводили ежедневно в течение всего периода беременности, массу тела регистрировали на 1, 5, 10, 15 и 20 сутки.

По 10 самок из каждой группы на 20-е сутки беременности подвергали эвтаназии, оценивали количество, массу и краниокаудальный размер плодов. Плоды осматривали на наличие внешних аномалий развития, подсчитывали количество мест имплантации и желтых тел, вычисляли предимплантационную, постимплантационную гибель эмбрионов и общую эмбриональную смертность. По методу Dawson A. В. исследовали состояние скелета [12]. По методу Wilson J. G. определяли наличие внутренних аномалий развития [13]. Вторую половину самок для того, чтобы проследить развитие потомства, оставляли до родов. Оценку сенсорно-двигательных рефлексов новорожденных крысят проводили с помощью тестов: «отрицательный геотаксис», «переворачивание на плоскости», «мышечная сила», «избегание обрыва».

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel. Статистическую достоверность разницы определяли по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони. Достоверными считали различия сравниваемых показателей при 95 % доверительной вероятности ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Гибели и симптомов интоксикации у крыс опытных и контрольной групп не отмечали. Достоверных различий в динамике прироста массы тела установлено не было. Так, прирост массы тела у животных контрольной группы к 20 суткам беременности составил 85,3 г, а в опытных группах 82,8 г и 80,9 г соответственно. Данные показатели указывают на то, что испытуемый препарат не оказывает токсического

воздействия во время беременности (таблица 1).

Количество, масса и краниокаудальный размер плодов в исследуемых группах не имели значимых отличий от животных контрольной группы. Все крысята в физиологическом развитии не имели отклонений от нормы, что свидетельствует об отсутствии тератогенного действия у препарата. Предимплантационная гибель эмбрионов в группах опыт 1 и опыт 2 составила 3,57 % и 3,77 %, тогда как в контрольной группе данный показатель имел значение 3,60 %. Показатели постимплантационной гибели плодов в группах опыт 1 (5,55 %) и опыт 2 (5,88 %) не имели достоверных отличий от группы контроля (4,67 %). Морфологические изменения при осмотре извлеченных плодов всех групп подопытных животных не обнаруживались. Аномалий развития внутренних органов, нарушение их топографии и дефектов развития скелета не выявлено (таблица 2). Данный факт свидетельствует о том, что данный препарат не вызывает нарушение процессов ossификации.

Так же исследования показали, что количество позвонков у плодов во всех группах соответствует норме, топография хрящевых и костных закладок не нарушена.

Показатели развития потомства подопытных животных отражены в таблице 3.

Количество плодов в пересчете на одну самку в опытных и контрольных группах достоверно не отличалось. Уродств и мертворожденных крысят отмечено не было. В опытных группах масса тела новорожденных крысят составила 4,04 г и 3,63 г, в контрольной – 4,21 г. Отличий в динамике массы тела крысят в течение первого месяца жизни не выявлено. Не отмечалось аномалий и в физиологическом развитии крысят в постнатальный период. Отлипание ушной раковины у крысят всех групп наблюдалось в среднем на 3-и сутки. На 5-е сутки появлялся волосяной покров, прорезывание зубов происходило на 8-9-е сутки,

открытие глаз – на 14-15-е сутки. За время наблюдений за крысьями отклонений в физиологическом развитии установлено не было. Таким образом, у препарата «Фунгикор» отсутствует тератогенный эффект.

Результаты исследования эмоционально-двигательного поведения потомства подопытных крыс приведены в таблице 4.

Рефлексы «отрицательный геотаксис» и «переворачивание на плоскости» у крысят всех групп полностью были сформированы на 7 и 4 сут, а рефлексы «мышечная сила» и «избегание обрыва» – к 15 и 8 сут. соответственно. Таким образом, сенсорно-двигательные рефлексы у потомства животных опытных групп имели нормальное развитие.

Таблица 1 – Показатели массы тела крыс при подкожном нанесении препарата с 1-го по 20-й дни беременности (M±m, n=20)

Экспериментальная группа	Дни беременности					Прирост массы, г
	1	5	10	15	20	
Контроль	198,7±2,4	220,6±2,7	240,6±2,3	261,1±3,1	283,4±2,9	85,3±3,1
Опыт 1	201,8±2,7	221,2±3,9	242,2±1,8	259,8±2,5	284,6±3,3	82,8±2,5
Опыт 2	198,6±1,6	215,3±3,4	239,9±2,8	257,9±3,4	279,5±3,8	80,9±2,7

Примечание - Достоверных отличий между опытом и контролем нет при 95% уровне вероятности

Таблица 2 – Изучение эмбриотоксического действия препарата «Фунгикор» при подкожном применении крысам (M±m, n=10)

Показатель	Группа животных		
	контроль	опыт 1	опыт 2
Количество живых плодов, всего/среднее	102/10,2±0,3	102/10,2±0,3	96/9,6±0,5
Количество мест имплантации, всего/среднее	107/10,7±0,3	108/10,8±0,1	102/10,2±0,9
Количество желтых тел, всего/среднее	111/11,1±0,5	112/11,2±0,3	106/10,6±0,4
Количество мест резорбции, всего/среднее	5/0,5±0,01	6/0,6±0,02	6/0,6±0,01
Гибель предимплантационная, %	3,60±0,33	3,57±0,56	3,77±0,25
Гибель постимплантационная, %	4,67±0,54	5,55±0,42	5,88±0,65
Смертность общая эмбриональная, %	8,10±0,45	8,92±0,58	9,43±0,63
Краниокаудальный размер плода, мм	30,7±0,95	30,6±1,14	30,2±0,81
Масса плода, г	2,46±0,06	2,43±0,04	2,38±0,04
Аномалии развития, %	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Аномалии внутренних органов, %	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Примечание - Достоверных отличий между опытом и контролем нет при 95% уровне вероятности

Таблица 3 – Показатели физиологического развития потомства крыс при нахождении препарата «Фунгикор» (M±m)

Показатель	Группа животных		
	контроль	опыт 1	опыт 2
Кол-во пометов	10	10	10
Кол-во крысят, всего/среднее	121/12,1±0,41	116/11,6±0,36	114/11,4±0,62
Мертворождения, %	2,5±0,08	2,4±0,06	2,5±0,05
Масса тела новорожденных крысят, г	4,21±0,19	4,04±0,09	3,63±0,06
Масса тела крысят на 3 сут, г	7,61±0,22	7,3±0,17	7,3±0,21
Масса тела крысят на 5 сут, г	10,1±0,43	9,7±0,52	9,5±0,33
Масса тела крысят на 13 сут, г	18,7±0,58	18,5±0,51	18,6±0,49
Масса тела крысят на 21 сут, г	24,3±1,51	24,0±1,32	23,8±1,14
Масса тела крысят на 28 сут, г	33,1±1,44	32,8±1,71	32,5±0,86
Срок отлипания ушей, сут	3,4±0,12	3,4±0,15	3,5±0,20
Срок опушения, сут	5,5±0,24	5,5±0,18	5,6±0,21
Срок открытия глаз, сут	14,5±1,10	15,2±0,74	15,7±0,62
Срок прорезывания резцов, сут	8,3±0,23	8,6±0,19	8,6±0,22
<i>Примечание – Достоверных отличий между опытом и контролем нет при 95% уровне вероятности</i>			

Таблица 4 – Оценка сенсорно-двигательных рефлексов потомства крыс при нахождении препарата «Фунгикор» с 1-го по 19-е сут. беременности

Тест	День окончательного формирования рефлекса		
	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
Отрицательный геотаксис	6,84±0,17	6,92±0,20	6,96±0,16
Переволачивание на плоскости	4,17±0,08	4,24±0,06	4,27±0,08
Мышечная сила	15,35±0,95	15,35±0,87	15,42±0,89
Избегание обрыва	8,45±0,24	8,52±0,17	8,51±0,14
<i>Примечание - Достоверных отличий между опытом и контролем нет при 95% уровне вероятности</i>			

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В этиологии возникновения кожных заболеваний у животных значительная роль принадлежит микроскопическим грибам – дерматофитам. Современная ветеринарная медицина нуждается в эффективных и безопасных препаратах для лечения животных при дерматофитозах. Одним из критериев подтверждающих безопасность новых препаратов является изучение их эмбриотоксических свойств. Исследованиями установлено, что новый комплексный антимикотический препарат «Фунгикор» не оказывал негативного влияния на общее состояние самок белых крыс при ежедневном нахождении нанесении в течение первых 19 сут беременности в дозах 1500 и 15000 мг/кг массы тела

и не способствовал развитию аномалий у плодов. В постнатальном периоде развитие, динамика массы тела и скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов у потомства опытных крыс соответствовали физиологическим нормам для данного вида животных. В связи с вышеуказанным можно заключить, что препарат «Фунгикор» в изученных дозировках не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием.

EVALUATION OF THE EMBRYO-TOXIC AND TERATOGENIC EFFECTS OF A NEW COMPLEX ANTIMYCOTIC DRUG

Musin R.R. * – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID

0009-0009-4538-2667); **Ganiev I.M.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0002-6171-5347); **Tremasova A.M.** – Doctor of Biological Sciences, Head of the Biotechnology Department (ORCID 0000-0002-1706-134X); **Biryulya V.V.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0003-0428-0997); **Idiyatov I.I.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0001-9279-4001); **Eroshin A.I.** – Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0002-3108-410X); **Safarova E.R.** – Junior Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0009-0005-8877-4741).

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

* musinrifkat@mail.ru

ABSTRACT

Fungal pathogens – dermatophytes are often the main cause of skin diseases in agricultural and domestic animals. These pathogens can cause superficial fungal infections – dermatophytosis. The market of veterinary drugs for the treatment of animals with dermatophytosis is represented by a wide range of antimycotic agents, however, treatment regimens using available drugs often become insufficiently effective, since dermatophytes infecting the skin become resistant to them. At the same time, certain pharmacological preparations, when ingested with food or as a result of external treatments, can negatively affect the physiological state of animals, in particular their reproductive function. The paper presents an assessment of the embryotoxic and teratogenic effects recorded in the antenatal and postnatal periods of development of the offspring of white rats with the external use of a new complex antimycotic agent against dermatophytosis of animals "Fungicor". It was found that the drug in the minimum (1500 mg / kg body weight) and maximum (15,000 mg / kg body weight)

doses when applied to female white rats from the 1st to the 19th day of pregnancy did not have an adverse effect on the development of embryos and fetuses. There were no significant changes in the parameters of postnatal development of the offspring of the experimental groups in comparison with the control. Thus, the drug "Fungicor" does not have an embryotoxic and teratogenic effect.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Королева, В. П., Иванова Л. Г. Возбудители дерматомикозов животных и их лабораторная диагностика // Ветеринарная микология и микробиология: Труды ВИЭВ. Москва, 1987. – С. 32–41.
2. Оценка острой кожной токсичности антимикотического средства / Р. Р. Мусин, Рин. С. Мухаммадиев, И. М. Ганиев, Э. Р. Сафарова // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Казань, 2023. – С. 286–290.
3. Овчинников, Р. С., Маноян М. Г., Гайнуллина А. Г. Бессимптомное миконительство и его значение в распространении дерматофитозов животных и человека // VetPharma. – 2012. – № 3. – С. 40–44.
4. Изучение антимикотической активности веществ в отношении дерматофитов рода *Microsporum* / Рин. С. Мухаммадиев, Р. Р. Мусин, Титова В. Ю. [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 2. – С. 23–27. DOI: 10.33632/1998-698X_2023_2_23.
5. Оценка противогрибковой активности веществ в отношении дерматофитов рода *Trichophyton* / Рин. С. Мухаммадиев, Р. Р. Мусин, Титова В. Ю. [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2022. – № 12 (218). – С. 98–104.
6. Изучение токсикодинамики «Стартин-Фито» после введения крысам в различные сроки беременности / Э. К. Рахматуллин [и др.] // Ветеринарный врач. – 2022. – № 6. – С. 50–55.
7. Изучение эмбриотоксического свойства нового противопаразитарного препарата "Стоппар" / А. В. Зайцева, М. Х. Лутфуллин, Р. Р. Гиззатуллин, Р. Р. Тимербаева // Ветеринарный врач. – 2023. –

№ 5. – С. 68-72.

8. Изучение эмбриотоксического действия антибактериального препарата «Доксициклин-Комплекс» / К. И. Сазыкина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 3. – С. 822.

9. Изучение эмбриотоксического действия препарата «Эндосептам» /

А. И. Ерошин, А. М. Трemasова, В. В. Бирюля [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 88-94.

10. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / А. Н. Миронов – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.

12. Dawson, A. B. Note on the staining of the skeleton cleared specimens with alizarin reds / A. B. Dawson // Stain Technol. – 1926. – №. 1. – P. 123–128.

13. Wilson, J. G. Embriological consideration in teratology methods administering agents and detecting malformations in experimental animals / J. Wilson // Techniques. Univ. Chicago Press. – 1965. – P. 231–262.

REFERENCES

1. Koroleva, V. P., Ivanova L. G. Pathogens of animal dermatomycosis and their laboratory diagnostics // Veterinary mycology and microbiology: Proceedings of the RES. Moscow, 1987. – P. 32–41. (In Russ.)

2. The study of acute cutaneous toxicity of an antimycotic agent. / R. R. Musin, Rin. S. Mukhammadiev, I. M. Ganiev, E. R. Safarova // Collection of materials of the All-Russian scientific and practical conference with international participation. Kazan, 2023. – P. 286–290. (In Russ.)

3. Ovchinnikov, R. S., Manoyan M. G., Gainullina A. G. Asymptomatic mycophytosis and its significance in the spread of dermatomycosis in animals and humans // VetPharma. – 2012. – No 3. – P. 40–44. (In Russ.)

4. The study of the antimycotic activity of substances against dermatophytes of the genus *Microsporum* / Rin. S. Mukhammadiev, R. R. Musin, V. Yu. Titova [et al.] // Veterinarian. – 2023. – No 2. – P. 23–27.

5. Evaluation of the antifungal activity of substances against dermatophytes of the genus *Trichophyton* / Rin. S. Mukhammadiev, R. R. Musin, V. Yu. Titova [et al.] // Bulletin of the Altai State Agrarian University. – 2022. – No 12 (218). – P. 98–104.

6. The study of the toxicodynamics of "Startin-Phyto" after administration to rats at various stages of pregnancy / E. K. Rakhmatullin [et al.] // Veterinarian. – 2022. – No 6. – P. 50–55. (In Russ.)

7. Study of the embryotoxic properties of a new antiparasitic drug "Stoppar" / A. V. Zaitseva, M. Kh. Lutfullin, R. R. Gizzatullin, R. R. Timerbaeva // Veterinary doctor. – 2023. – No 5. – P. 68-72.

8. The study of the embryotoxic effect of the antibacterial drug "Doxycycline Complex" / K. I. Sazykina [et al.] // Modern problems of science and education. – 2014. – No. 3. – P. 822. (In Russ.)

9. The study of the embryotoxic effect of the drug "Endoseptam" /

A. I. Eroshin, A. M. Tremasova, V. V. Birulya [et al.] // International Journal of Veterinary Medicine. – 2024. – No. 2. – P. 88-94. –

10. Mironov, A. N. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. / A. N. Mironov – M. : Vulture and K, 2012. – 944 p. (In Russ.)

11. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Under the general editorship of the corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences, prof. R. U. Khabrieva. – M.: JSC "Publishing House "Medicine", 2005. – 832 p. (In Russ.)

12. Dawson, A. B. Note on the staining of the skeleton cleared specimens with alizarin reds / A. B. Dawson // Stain Technol. – 1926. – No.1. – P. 123-128. (In Eng.)

13. Wilson, J. G. Embriological consideration in teratology methods administering agents and detecting malformations in experimental animals / J. Wilson // Techniques. Univ. Chicago Press. – 1965. – P. 231-262.